

**Belastungsinduzierte Freisetzung und Identifikation  
von Biomarkern der Handarthrose  
- Eine Pilotstudie -**

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
des Fachbereiches Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Anna Helga Bender, geb. Griesemer  
aus Landau in der Pfalz

Gießen 2017

Klinik und Poliklinik für Orthopädie und Orthopädische Chirurgie  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Labor für Experimentelle Orthopädie

Leiter: Prof. Dr. J. Steinmeyer

1. Gutachter: Prof. Dr. J. Steinmeyer

2. Gutachter: Prof. Dr. Dr. R. Schnettler

Tag der Disputation: 17.04.2018

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Anatomie der menschlichen Hand- und Fingergelenke	1
1.2	Aufbau eines Gelenks	2
1.3	Aufbau und Zusammensetzung des Gelenkknorpels	2
1.4	Fingerpolyarthrose	6
1.4.1	Epidemiologie	6
1.4.2	Pathogenese und Risikofaktoren der Fingerpolyarthrose	6
1.4.3	Erscheinungsbild, Diagnose und Therapie der Fingerpolyarthrose	9
1.4.3.1	Klinisches Erscheinungsbild	9
1.4.3.2	Diagnose	10
1.4.3.3	Therapieoptionen	11
1.5	Biomarker der Fingerpolyarthrose	13
1.5.1	Anforderungen an Biomarker	13
1.5.2	Einteilung der Biomarker	14
1.5.2.1	COMP - Cartilage Oligomeric Matrix Protein	15
1.5.2.2	C1,2C - $\frac{3}{4}$ Spaltprodukt von Kollagen Typ II (COL2- $\frac{3}{4}$ Short)	17
1.5.2.3	PIIANP - N-terminales Propeptid von Typ II Prokollagen	17
1.5.2.4	CPII - C-terminales Propeptid von Prokollagen Typ II	18
1.5.2.5	CS846 - Aggrecan-Chondroitin-Sulfat-846-Epitop	19
1.5.2.6	sVCAM-1 - Soluble-vascular-cell-adhesion-molecule-1	20
1.5.2.7	IL-15 - Interleukin-15	20
1.5.2.8	NGAL - Neutrophil-gelatinase-associated lipocalin	21
1.5.2.9	YKL-40 - Cartilage glycoprotein 39	21
<b>2</b>	<b>Zielsetzung</b>	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>24</b>
3.1	Material	24
3.1.1	Verbrauchsmaterialien	24
3.1.2	Geräte	24
3.1.3	Chemikalien	25
3.1.4	Software	26
3.2	Methoden	26

3.2.1	Charakterisierung des Studienkollektivs .....	26
3.2.3	Probensammlung und Asservierung .....	29
3.2.4	Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISAs).....	31
3.2.4.1	Reaktionsprinzip: Sandwich-ELISA .....	31
3.2.4.2	Übersicht über die ELISA-Protokolle für IL-15, sVCAM-1, NGAL.....	32
3.2.4.3	Reaktionsprinzip: Kompetitiver ELISA .....	32
3.2.4.4	Übersicht über die ELISA-Protokolle für PIIANP, CPII, C1,2C, COMP, YKL-40 und CS 846 .....	33
3.2.5	Lagerungsversuch.....	33
3.2.6	Blockierung eventuell vorhandener heterophiler Antikörper.....	33
3.2.7	Auswirkungen von wiederholtem Auftauen und Einfrieren.....	34
3.2.8	Auswertung der Röntgenbilder .....	34
3.2.8.1	Der Kellgren und Lawrence Score .....	35
3.2.8.2	Evaluation nach Kallman et al. ....	35
3.2.8.3	Evaluation nach Larsen et al. ....	36
3.2.8.4	Die Sharp-Methode modifiziert nach van der Heijde .....	36
3.2.9	Fragebögen zur Erhebung von Symptomen .....	37
3.2.9.1	Australian/ Canadian Hand Osteoarthritis Index™ .....	38
3.2.9.2	Health Assessment Questionnaire (HAQ).....	38
3.2.9.3	Visuelle-Analog-Skala (Schmerz, Steifigkeit, Ästhetik) .....	39
3.2.10	Statistik .....	39
3.2.10.1	Biomarker-Peak-Bestimmung.....	39
3.2.10.2	Biomarker-Anstieg und Vergleich der einzelnen Patientengruppen ..	40
3.2.10.3	Korrelation der Biomarker mit klinischen und radiologischen Scores	40
3.2.10.4	Lagerungsversuch.....	40
3.2.10.5	Blockierung heterophiler Antikörper.....	41
3.2.10.6	Auswirkungen von wiederholtem Auftauen und Einfrieren .....	41
3.2.10.7	Wirkung von Ibuprofen .....	41
<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>42</b>
4.1	Populationsbeschreibung .....	42
4.2	Zusätzliche Laboruntersuchungen.....	43
4.2.1	Einfluss der Lagerungsdauer der Serumproben .....	43
4.2.2	Der Einfluss von heterophilen Antikörpern .....	45
4.2.3	Wiederholtes Auftauen und Einfrieren der Proben.....	47
4.3	Ergebnisse aus der Biomarker-Analyse mittels ELISA.....	49

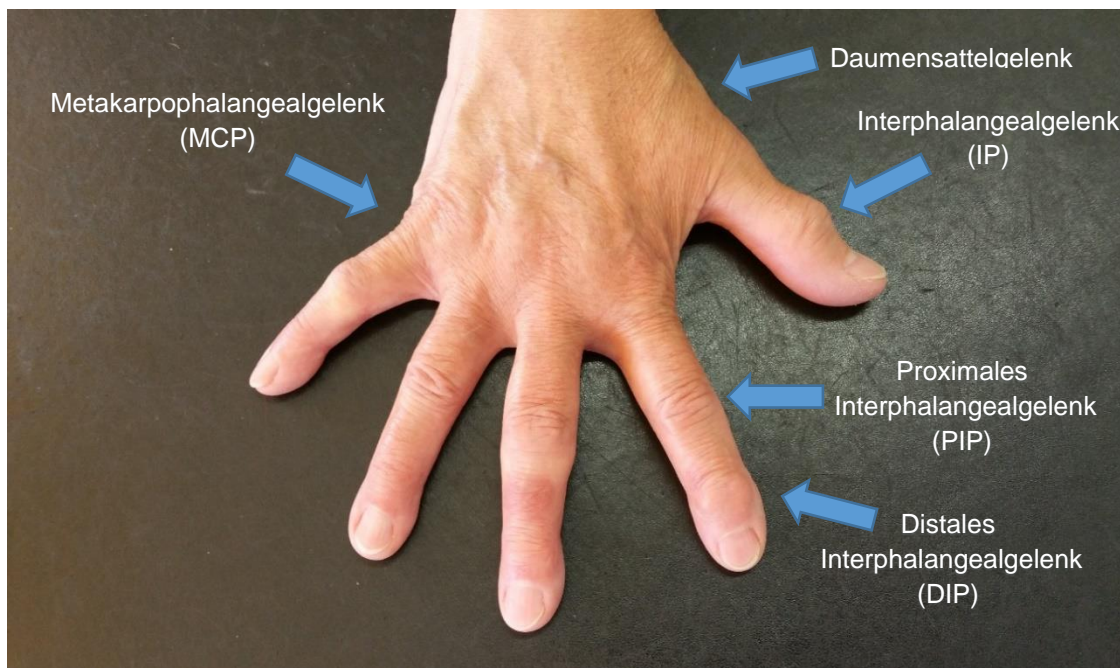
4.3.1	Konzentrationsverläufe der Biomarker im Blut nach Belastung .....	49
4.3.2	Zeitliche Bestimmung der maximalen Biomarker-Konzentrationen.....	51
4.3.3	Konzentrationsanstieg nach Belastung und Unterschiede zwischen den einzelnen Kohorten .....	53
4.3.3.1	COMP .....	53
4.3.3.2	C1,2C.....	54
4.3.3.3	PIIANP .....	54
4.3.3.4	CPII .....	55
4.3.3.5	sVCAM-1.....	56
4.3.3.6	IL-15.....	57
4.3.3.7	NGAL .....	58
4.4	Ergebnisse aus der Evaluation der Röntgenbilder .....	60
4.4.1	Die Einzelergebnisse .....	60
4.4.2	Korrelationen zwischen den Röntgenscores und den Biomarkern.....	61
4.5	Ergebnisse der klinischen Scores.....	63
4.5.1	Die Ergebnisse der Fragebögen von Tag 1 und Tag 2.....	63
4.5.2	Korrelationen zwischen den Fragebogenscores und den Biomarkern .....	63
4.5.2.1	Australian/ Canadian Hand Osteoarthritis Index (AUSCAN™) und die Biomarker .....	64
4.5.2.2	Die visuellen Analogskalen (VAS), Health Assessment Questionnaire (HAQ) und die Biomarker .....	65
4.5.2.3	BMI, CRP sowie Alter der Patientinnen und die Biomarker.....	66
4.6	Die Wirkung von Ibuprofen .....	66
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>69</b>
5.1	Methodik.....	70
5.2	Diskussion der Studienergebnisse.....	78
5.3	Schlussfolgerungen.....	89
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>91</b>
<b>7</b>	<b>Summary .....</b>	<b>93</b>
<b>8</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>95</b>
<b>9</b>	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>98</b>

<b>10</b>	<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>100</b>
<b>11</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>101</b>
<b>12</b>	<b>Tabellarischer Anhang .....</b>	<b>125</b>
<b>13</b>	<b>Publikationsverzeichnis .....</b>	<b>144</b>
<b>14</b>	<b>Ehrenwörtliche Erklärung .....</b>	<b>145</b>
<b>15</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>146</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Anatomie der menschlichen Hand- und Fingergelenke

Die menschliche Hand besteht aus 27 Knochen und den dazu gehörigen Gelenken. Die Fingergelenke werden in 3 Gelenkgruppen eingeteilt: Die distalen Interphalangealgelenke (DIP), die proximalen Interphalangealgelenke (PIP) und die Metakarpophalangealgelenke (MCP). Der Daumen besteht nur aus 2 Gelenken, da hier das Mittelgelenk fehlt: Das Interphalangealgelenk (IP) und das Metakarpophalangealgelenk (MCP). Das Handgelenk besteht aus 7 Knochen und wird funktionell in 2 Gelenkbereiche eingeteilt: Das distale Handgelenk und das proximale Handgelenk (Abbildung 1). Die Hand- und Fingerknochen werden durch eine Vielzahl an Muskeln, Bändern und Sehnen zusammengehalten. Des Weiteren besitzt die menschliche Hand eine sehr ausgeprägte sensible und motorische Innervation, die es dem Menschen ermöglicht die Hand als einzigartiges „Multifunktionswerkzeug“ zu benutzen.



**Abbildung 1:** Anatomie der menschlichen Hand. Dargestellt ist die Anatomie einer menschlichen Hand anhand einer Abbildung einer rechten Hand einer OA-Patientin: Distale Interphalangealgelenke (DIP), proximale Interphalangealgelenke (PIP), Metakarpophalangealgelenke (MCP), das Daumengrundgelenk (Interphalangealgelenk, IP) und das Daumensattelgelenk (Carpometacarpalgelenk, CMC 1). Abbildung mit freundlicher Genehmigung von Dr. med. U. Käßer.

## 1.2 Aufbau eines Gelenks

Ein echtes oder diarthrodiales Gelenk stellt eine diskontinuierliche, aber je nach Lage im menschlichen Körper eine mehr oder weniger gut bewegliche Verbindung zweier oder mehrerer Knochen dar. Dabei artikulieren innerhalb einer Gelenkkapsel zwei oder mehr Gelenkflächen verschiedener Knochen. Die Gelenkflächen sind von einer hyalinen Knorpelschicht überzogen und durch den Gelenkspalt getrennt. Innerhalb der Gelenkkapsel befindet sich die Synovial- oder Gelenkflüssigkeit. Der das Gelenk umgebende Knochen-, Muskel-, Band- und Sehnenapparat bestimmt das Bewegungsausmaß des betreffenden Gelenks. Bei den DIP- und PIP-Gelenken der Hand handelt es sich um Scharniergelenke, so dass lediglich die Flexion und die Extension in diesen Gelenken möglich sind. Ein Beispiel für ein komplexeres Gelenk ist das Daumensattelgelenk. Hierbei handelt es sich um ein funktionelles Kugelgelenk mit drei Freiheitsgraden: Extension/ Flexion, Abduktion/Adduktion und die Opposition.

Die Synovia ist ein Ultrafiltrat des Blutes und kann von den randständigen B-Synoviozyten um weitere Substanzen ergänzt werden. Die Synoviozyten können so die Zusammensetzung der Synovia ändern und Einfluss auf die Homöostase innerhalb des Gelenkes nehmen (Roach et al., 2007). Die Synovia dient als Gleitmittel, damit eine reibungsarme Artikulation der jeweiligen Knochen ermöglicht werden kann und verteilt weiterhin gleichmäßig die im Gelenk wirkenden Stoß- und Druckkräfte (Aumüller et al., 2014; Kosinska et al., 2015). Durch Diffusion von den Blutgefäßen in die Synovialflüssigkeit können Nährstoffe zum Knorpel gelangen. Viele Moleküle aus dem Inneren des Gelenks gelangen über die vielen Lymphbahnen ins venöse Blut. Aber auch eine Diffusion von Molekülen und Knorpelspaltprodukten über die Synovialflüssigkeit direkt ins venöse Blut ist möglich (Thonar et al., 1993). Die Arbeitsgruppe um Shi et al. konnte zeigen, dass es zur Vermehrung der Lymphkapillaren in Mäusekniegelenken im Frühstadium einer OA kommt. Im weiteren Verlauf konnte die gleiche Arbeitsgruppe nachweisen, dass in fortgeschrittenen OA-Stadien die Anzahl der großen Lymphgefäße abnimmt. Insgesamt war die Lymph-Clearance aber in beiden Fällen reduziert (Shi et al., 2014). Inwiefern die Veränderungen der Lymphgefäße und der Clearance einen Einfluss auf die Pathogenese der OA hat, ist bisher noch nicht bekannt.

## 1.3 Aufbau und Zusammensetzung des Gelenkknorpels

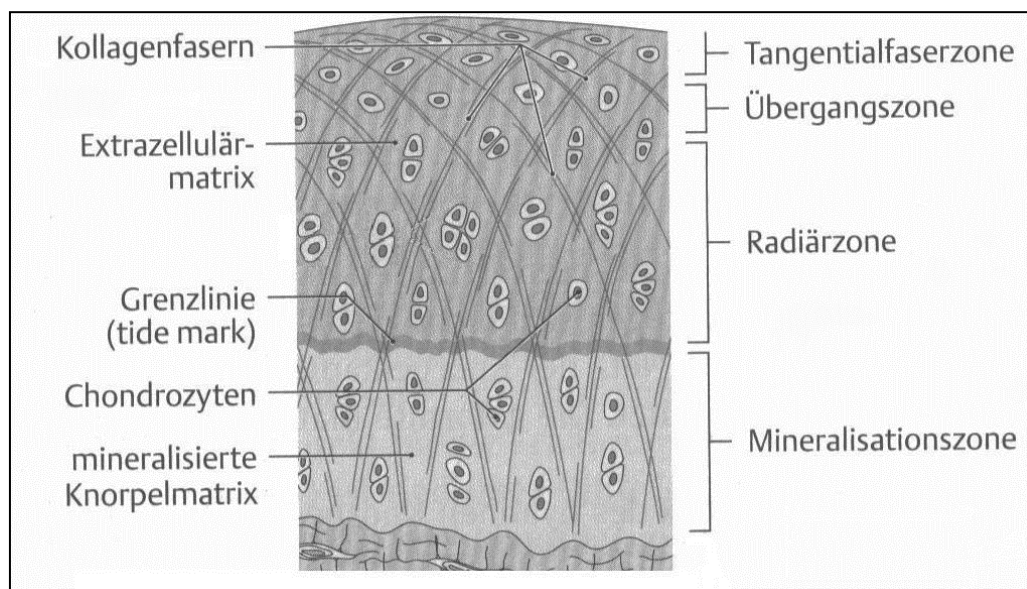
Es gibt vier verschiedene Arten des Knorpelgewebes, die sich hauptsächlich durch die Zusammensetzung der extrazellulären Matrix unterscheiden. Der Gelenkknorpel besteht



aus hyalinem Knorpel, daneben gibt es noch fetalen, elastischen und Faserknorpel. Hier soll weiter nur auf den hyalinen Gelenkknorpel eingegangen werden.

Die volle Funktionalität des hyalinen Gelenkknorpels beruht auf dessen besonderer molekularer Struktur. So sind seine Druckelastizität sowie seine glatte Oberfläche notwendig, um eine reibungsarme Bewegung der beteiligten Gelenkflächen gegeneinander zu ermöglichen. Der Gelenkknorpel besteht zum einen aus Chondrozyten und zum anderen aus der extrazellulären Knorpelmatrix. Die extrazelluläre Matrix kann unterteilt werden in die extrazellulären Kollagene und die amorphen extrazellulären nicht-kollagenen Proteine wie Proteoglykane, Glykoproteine und Glykosaminoglykane. Die Integrität der extrazellulären Matrix dient der Aufrechterhaltung einer normalen, reibungsarmen Knorpelfunktion.

Der hyaline Gelenkknorpel kann in vier Zonen eingeteilt werden: Die Tangentialzone, die Intermediärzone (Übergangszone), die Radiärzone und die knochennahe, verkalkte Mineralisationszone (Aumüller et al., 2007). Die Tidemark oder Grenzlinie, ist eine Grenzlamelle, die die nicht mineralisierte Radiärzone von der mineralisierten Knorpelmatrix trennt. Durch die Grenzlinie ziehen die Kollagenfasern senkrecht.



**Abbildung 2:** Aufbau des Gelenkknorpels (modifiziert nach Aumüller et al., 2014)

### 1.3.1 Die Chondrozyten

Die Chondrozyten sind die einzigen zellulären Bestandteile des Knorpels und machen ungefähr 0,4-2 % des Knorpelvolumens aus. Sie liegen, infolge einer fortlaufenden Synthese der extrazellulären Matrix, also eines interstitiellen Wachstums einzeln oder in

kleinen Gruppen im Knorpelgewebe vor. Die isogenen Zellgruppen werden von einer territorialen Matrix, dem sogenannten Knorpelhof und der Knorpelkapsel umgeben und werden dann als Chondrome bezeichnet. Adulter Knorpel ist nicht innerviert und enthält keine Blutgefäße. Die Ernährung der Chondrozyten erfolgt ausschließlich über Nährstoffe, die mittels Diffusion von der Synovia oder vom Perichondrium zu den Chondrozyten gelangen (Welsch et al., 2006). Die Energiegewinnung der Chondrozyten erfolgt über die anaerobe Glykolyse. Die Aufgabe der Chondrozyten besteht in der Synthese und dem Abbau der extrazellulären Matrix. Die Chondrozyten passen, stimuliert durch bestimmte Mechanorezeptoren in der Chondrozytenmembran, ihren Stoffwechsel an die jeweilige aktuelle Gelenkbelastung an (Urban, 1994). Des Weiteren werden die Stoffwechselvorgänge der Chondrozyten durch eine Reihe an Zytokinen und Wachstumsfaktoren (z.B. Interleukin-1, Insulin-like-growth-factor-1, u.a.) beeinflusst. Die schlechte Blutversorgung und der daraus resultierenden Nährstoffmangel beeinträchtigt die Regenerationskapazität des Knorpels.

### **1.3.2 Die extrazelluläre Knorpelmatrix**

Die Knorpelmatrix besteht aus 60-80 % Wasser und zu 10-30 % aus Kollagenen: Der Haupttyp ist Kollagen Typ II. Es finden sich in geringen Mengen aber auch noch Kollagene des Typs V, VI, IX, X und XI. Weitere Bestandteile der extrazellulären Matrix wie die Proteoglykane, z. B. Aggrecan, Hyaluronsäure, Glykosaminoglykanen und Glykoproteinen machen 5-10% des Knorpels aus (Sledge et al., 2001).

#### **1.3.2.1 Die extrazellulären Kollagene**

Die extrazelluläre Matrix des hyalinen Knorpels enthält Fibrillen des Kollagens Typ II. Die Kollagenfasern zeichnen sich durch ihre besondere Zugfestigkeit aus. Es gibt ca. 28 verschiedene Kollagene, die sich durch einen unterschiedlichen molekularen Aufbau unterscheiden (Ricard-Blum, 2011). Grundsätzlich bestehen alle Kollagene aus Kollagenmolekülen, die sich wiederum aus einer Triplehelix aus drei  $\alpha$ -Polypeptidketten mit einer bestimmten Aminosäuren-Abfolge zusammensetzen. Häufige Aminosäuren sind hierbei Glycin, Prolin und Hydroxyprolin, wobei Hydroxyprolin nur bei Kollagen Typ II vorkommt (Welsch et al., 2006). Die Triplehelix wird durch Wasserstoffbrückenbindungen zusammengehalten. Die Kollagenmoleküle lagern sich extrazellulär zu Fibrillen zusammen. Durch die Quervernetzung durch Glykoproteine und Wasserstoffbrücken bildet sich die einzigartige Struktur des hyalinen Gelenkknorpels. Bei der Synthese von Kollagen Typ II kommt es zu einer proteolytischen Spaltung von Prokollagen Typ II. Prokollagen Typ II besteht aus einem Amino-peptid-Ende und einem Carboxyl-peptid-Ende. Extrazelluläre Proteinase spalten bei der Herstellung der Kollagenfibrillen diese Enden ab und es kommt zur Freisetzung zum Beispiel des N-

terminalen Propeptids des Typ II Prokollagens (PIIANP). Weitere Kollagene, die im Knorpelgewebe vorkommen sind die Typen III, V, VI, IX, XI. Kollagen Typ X kommt nur in der knorpelnahen Mineralisationszone vor (Sledge et al., 2001) und weist auf hypertrophe Chondrozyten hin.

### **1.3.2.2 Hyaluronsäure, Proteoglykane und nicht-kollagene Proteine**

Die extrazelluläre Matrix besteht weiterhin aus Glykosaminoglykanen, Proteoglykanen und Glykoproteinen bzw. nicht-kollagenen Proteinen.

Wichtige Glykosaminoglykane im Knorpel sind die aus mehreren Disacchardiketten aufgebaute Hyaluronsäure (Hyaluronat), Chondroitinsulfat und Keratansulfat. Sie sind maßgeblich an der Gleitfunktion und der stoßdämpfenden Wirkung des Knorpels beteiligt. Dabei binden die negativ geladenen Glykosaminoglykane Kationen; es kommt zu einem osmotischen Gradienten und zur vermehrten Wasseraufnahme in den Knorpel. Die Proteoglykane bestehen aus einem zentralen Kernprotein (6-20%) und den daran gebundenen sulfatierten Glykosaminoglykanen (80-94%; Lohmander et al., 1988). Dabei ist Aggrekan das im Knorpel am häufigsten vorkommende Proteoglykan. Durch Bindungsproteine binden Proteoglykan-Monomere an Hyaluronsäure und bilden damit große Aggregate, die sogenannten Aggrekane. Die Glykosaminoglykane der Proteoglykan-Monomere bestehen dabei aus repetitiven Disacchariden. Proteoglykane dienen somit als Stützgerüst der extrazellulären Matrix und begünstigen die Wasseraufnahme in den Knorpel (Aumüller et al., 2014). Dabei führt Aggrekan aufgrund seiner starken negativen Ladung zu einer hohen Wasserbindungskapazität. Des Weiteren können Proteoglykane extrazelluläre Proteinase durch deren Bindung inaktivieren und helfen bei der Verknüpfung der Kollagenfasern mit den Chondrozyten (Poole et al., 1968).

Die nicht-kollagenen Proteine und Glykoproteine des Knorpels wie z.B. Fibronectin dienen als Verbindung zwischen den Matrixbestandteilen untereinander und mit den Chondrozyten (Di Cesare et al., 2002). Des Weiteren stimulieren Fibronectinfragmente katabole Enzyme wie Kollagenasen und Gelatinasen (Xie et al., 1993). Ein weiteres Glykoprotein des Knorpels ist das Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP). COMP kann mit verschiedenen Molekülen der Matrix wie z.B. auch mit den Kollagenen I, II und IX aber auch Fibronectin und Aggrekan Bindungen eingehen und trägt somit maßgeblich zur Stabilisierung und Organisation der extrazellulären Matrix bei (Dickinson et al., 2003; Di Cesare et al., 2002). Auch scheint COMP als Katalysator für die Kollagenfibrillen-Zusammensetzung von Kollagen Typ I und Typ II zu fungieren, in dem COMP die einzelnen Kollagenmoleküle durch Bindungen näher zusammenbringt und somit die Formation der Fibrillen erleichtert (Halász et al., 2007). Durch das perfekte

Zusammenspiel der Einzelbestandteile des Knorpels bekommt dieser seine einzigartige Struktur und Funktion.

## **1.4 Fingerpolyarthrose**

### **1.4.1 Epidemiologie**

Die Arthrose (engl. Osteoarthritis, OA) ist die häufigste chronisch-degenerative Gelenkerkrankung der heutigen Gesellschaft mit schätzungsweise 5 Millionen Betroffenen allein in Deutschland. Die Inzidenz steigt mit zunehmendem Alter, wobei es häufig im Alter von 50-60 Jahren zum vermehrten Auftreten von Neuerkrankungen kommt. Frauen sind häufiger von einer Arthrose, speziell der Fingerpolyarthrose betroffen als Männer (Dahaghin et al., 2005). Verschiedene epidemiologische Studien zeigen unterschiedliche Angaben der Prävalenz für die Fingerpolyarthrose. So fand die Arbeitsgruppe um Niu eine Prävalenz für eine radiologisch nachweisbare Fingerpolyarthrose bei Frauen von 33% und bei Männern von 22% (Niu et al., 2003). Eine weitere Studie beschreibt eine Prävalenz einer radiologisch nachweisbaren Fingerpolyarthrose, definiert als ein Kellgren-Lawrence-Score  $\geq 2$  pro Gelenk (siehe Kapitel 3.2.8.1) bei gleichzeitigem Vorliegen einer klinisch symptomatischen Fingerpolyarthrose bei Frauen mit 26% und bei Männern mit 13% (Zhang et al., 2002). Die Arbeitsgruppe um van Saase konnte bereits 1989 zeigen, dass die Prävalenz der OA bei Frauen im Bereich der DIP-Gelenke im Alter von 60 Jahren bei 68% lag, wobei diese bei gleichaltrigen Männer nur bei 48% bestand (Van Saase et al., 1989). Insgesamt wird die Inzidenz der Fingerpolyarthrose mit 100/100.000 pro Jahr angegeben (Oliveria et al., 1995). Die Forschungsaktivität der letzten Jahre zielte vor allem auf die großen Gelenke wie Knie und Hüfte ab, weswegen das Wissen um die Fingerpolyarthrose begrenzt ist und sich vornehmlich aus der Erkrankung größerer Gelenke wie Knie und Hüfte herleitet.

### **1.4.2 Pathogenese und Risikofaktoren der Fingerpolyarthrose**

Die exakte Pathogenese der Erkrankung ist zurzeit noch unbekannt. Bekannt ist, dass es durch das Einwirken verschiedener Faktoren wie z. B. Interleukin-1, der Tumornekrosefaktor- $\alpha$  und andere, zur Störung der Knorpelhomöostase kommt. Im weiteren Verlauf wird das sensible Gleichgewicht zwischen Knorpelsynthese und Abbau gestört. Der Knorpel verliert die Elastizität und die Integrität der extrazellulären Matrix. Es kommt zu einer irreversiblen Degradation der extrazellulären Matrix und zum Funktionsverlust der Chondrozyten. Dies wird begünstigt durch die vermehrte Ausschüttung verschiedener kataboler Zytokine wie Interleukin-1 und der

Tumornekrosefaktor- $\alpha$  zu Lasten der anabolen Wachstumsfaktoren, z.B. Insulin-like-growth-factor-1. Schon in frühen OA-Stadien kommt es zur einer Synovitis (Benito et al., 2005) verbunden mit einer Hypertrophie der Synovialmembran und einer daraus resultierenden Gelenkschwellung.

In fortgeschrittenen Stadien der OA kommt es zu einer zunehmenden Mitreaktion des subchondralen Knochens mit Ausbildung von Osteophyten, Zysten und einer Sklerosierung des subchondralen Knochens. Die Bildung von Osteophyten stellen den Versuch dar, die im Gelenk herrschenden mechanischen Drücke auf eine größere Gelenkfläche zu verteilen, um somit dem destruktiven Prozess entgegen zu wirken. Letztendlich erweisen sich die Reparaturversuche der Chondrozyten und des gesamten Gelenkes als insuffizient. Das klinische Vollbild der OA (siehe unten) wird durch den progressiven Knorpelverlust und der daraus resultierenden Gelenkzerstörung erreicht.

Eine Vielzahl an exogenen, mechanischen (z. B. Übergewicht, nach Gelenkverletzungen, usw.) und endogenen (hormonelle, genetische, usw.) Risikofaktoren der OA sind bekannt. Aufgrund des langsamen Voranschreitens in den meisten Erkrankungsfällen und die Heterogenität des Patientenguts, ist die Studienlage in Bezug auf Risikofaktoren der Handarthrose dünn. Es gibt einige Studien (z. B. Hart et al., 2000; Yusuf et al., 2010, Grotle et al., 2008), die speziell die Risikofaktoren für eine Hand- bzw. Fingerpolyarthrose, sowie Risikofaktoren für das Voranschreiten der Erkrankung untersuchen (Kwork et al., 2013, Botha-Scheers et al., 2009). So ist einer der Risikofaktoren für das vermehrte Auftreten der Erkrankung das Alter (Kalichman et al., 2004, Caspi et al., 2001, Lawrence, 1977), da sich im Alter die Stoffwechselrate der Chondrozyten deutlich verringert und sich somit deren Regegenerationsfähigkeit maßgeblich vermindert (Martin et al., 2002). Allerdings gibt es nur eine Studie, die eine Korrelation für die Krankheitsprogression mit dem Patientenalter aufzeigt. Dies wurde gemessen durch eine weitere Verminderung des Gelenkspaltes und größere Osteophyten (Kallman et al., 1990).

Ein weiterer Faktor, der die Entstehung von OA (Anderson et al., 1988; Spector et al., 1994; Hochberg et al., 1995; Felson et al., 1997) begünstigt, ist die Adipositas. In Bezug auf den Zusammenhang der Fingerpolyarthrose und der Adipositas sind die Angaben in der Literatur sehr unterschiedlich. So berichtet eine Studie, dass es zwar einen Zusammenhang von BMI und Hand-OA bei Männern gibt, aber es konnte keine Korrelation zwischen BMI und Hand-OA bei Frauen gefunden werden (Davis et al., 1990). Weitere Studien konnten allerdings eine Korrelation zwischen BMI und dem Grad der Hand-OA bei Frauen aufzeigen (Sowers et al., 1991; Ding et al., 2008). Insgesamt

deuten die Studienergebnisse darauf hin, dass ein BMI von über 30 kg/m<sup>2</sup> als Risikofaktor zu werten ist (Dahaghin et al., 2007; Ding, 2008; Szoeki et al., 2006, Visser et al., 2014).

Des Weiteren spielen auch hormonelle Faktoren und das Geschlecht eine Rolle bei der Entwicklung einer OA. So liegt die Prävalenz, eine Fingerpolyarthrose zu entwickeln, bei 38% der über 66-jährigen Frauen, wobei nur 25% der gleichaltrigen Männern betroffen sind (Hart et al., 1994). Eine weitere Studie konnte zeigen, dass die Prävalenz für eine DIP-OA bei 60-jährigen Frauen bei 68% und bei den gleichaltrigen Männern bei 48% liegt (van Saase et al., 1989). Die Arbeitsgruppe um Botha-Scheepers konnte zeigen, dass weibliche Patienten ein erhöhtes Risiko für ein nativradiologisches Voranschreiten der Fingerpolyarthrose haben (Botha-Scheepers et al., 2009). Auch konnte nachgewiesen werden, dass Frauen im Verlauf von vier Jahren vermehrt über eine subjektive Verschlechterung der Symptome, gemessen mit dem AUSCAN (Australian/ Canadian Hand Osteoarthritis Index), berichten (Verschlechterung um 51% gegenüber 42% für die rechte und eine Verschlechterung um 46% gegenüber 34% für die linke Hand) als Männer (Allen et al., 2006). Es wird davon ausgegangen, dass die Menopause und damit verbundene wechselnde Östrogenspiegel maßgeblich an diesem Unterschied beteiligt sind (Spector et al., 1989). Auch wurde gezeigt, dass die Durchführung einer Östrogensubstitution in der Perimenopause einen protektiven Effekt auf die Entstehung generell einer OA hat (Oliveria et al., 1996; Spector et al., 1997; Seo et al., 2012). So konnte die Arbeitsgruppe um Seo et al. zeigen, dass Frauen, die mit Östrogenen in der Postmenopause therapiert wurden, eine deutliche Verminderung des COMP-Spiegels (siehe Kapitel 1.5.2.1) aufwiesen (Seo et al., 2012). Allerdings ist der Effekt des Östrogens auf die Pathogenese der Arthrose noch nicht hinreichend geklärt.

Die genetische Prädisposition spielt ebenfalls eine wichtige Rolle in der Entstehung einer OA. So konnte die Arbeitsgruppe um Kellgren schon 1963 zeigen, dass OA zwei Mal so häufig in der nächsten Generation vorkommt als bei zufällig ausgewählten gesunden Probanden der Kontrollgruppe (Kellgren et al., 1963). Mittlerweile konnten eine Reihe von Genen und Genmutationen, die Proteine der extrazellulären Matrix, andere Proteine und Zytokine kodieren sowie weitere Faktoren identifiziert werden, die in Zusammenhang mit der Pathogenese der OA stehen (Reginato et al., 2002; Dabovic et al., 2002; Vades et al., 2008; Vaes et al., 2009; Hämäläinen et al., 2014). So gibt es Einzel-Nukleotid-Polymorphismen (Asporin = ASPN, Einzel-Nukleotid-Polymorphismus: rs13301537), die vor allem bei der Chondrogenese und der Chondrozytenproliferation eine Rolle spielen

und die in deutlichem Zusammenhang mit dem radiologischen Voranschreiten der Fingerpolyarthrose stehen (Bijsterbosch et al., 2013). Die Arbeitsgruppe um Hämäläinen et al. konnte ebenfalls zeigen, dass Gen-Polymorphismen in verschiedenen Genloci (A2BP1, TGFB1) einen Einfluss auf die genetische Prädisposition im Rahmen der Erkrankung der Fingerpolyarthrose haben (Hämäläinen et al., 2014a). Die gleiche Arbeitsgruppe konnte auch eine Assoziation der Fingerpolyarthrose mit TNF $\alpha$  Polymorphismen (Genotypen: "-1031" und "-863") nachweisen (Hämäläinen et al., 2014b).

Auch bestimmte repetitive Bewegungen (Rütteln, Sieben oder ähnliches) oder die Arbeit mit vibrierenden Werkzeugen bewirkt ein vermehrtes Auftreten von OA auch im Bereich der Hände (Bernard et al., 2010; Hammer et al., 2014).

Ein weiterer Faktor ist die sekundäre oder posttraumatische Arthrose z. B. nach einer Fraktur im Bereich des Gelenks oder einer anderen Verletzung des Gelenkes z. B. Meniskusschäden, diskoligamentäre Verletzungen oder Ähnliches.

### 1.4.3 Erscheinungsbild, Diagnose und Therapie der Fingerpolyarthrose

#### 1.4.3.1 *Klinisches Erscheinungsbild*



**Abbildung 3:** Abbildung einer arthrotisch veränderten rechten Hand einer OA-Patientin. Am DIP-Gelenk des Zeigefingers kann man die typischen Heberden-Knoten sehen. Die anderen Gelenke sind zum teil deutlich geschwollen. Abbildung mit freundlicher Genehmigung von Dr. med. U. Käßer.

Die Hauptsymptome der OA sind Schmerzen, Steifigkeit und Bewegungseinschränkung durch Schwellung und strukturelle Gelenkschädigung der betroffenen Gelenke. Im Rahmen der Fingerpolyarthrose können die Patienten wichtige Alltagsfunktionen der

Hände weniger nutzen oder nur unter starken Schmerzen. Dazu gehören z. B. das Öffnen von Gläsern, das Zuknöpfen von Blusen oder Hemden oder auch einfache Tätigkeiten wie das Greifen eines Schlüssels. Die Schmerzen treten häufig während und nach schwerer Gelenkbelastung auf. Die Gelenksteifigkeit tritt vor allem morgens nach dem Erwachen oder auch nach einer langen Phase der Ruhe auf. Die Symptomatik bessert sich im Tagesverlauf, häufig bereits nach 60 Minuten.

#### **1.4.3.2 Diagnose**

Die Diagnose einer Fingerpolyarthrose wird aufgrund der Symptome eines Patienten sowie mittels bildgebender Untersuchungen wie Röntgen, Magnetresonanztomographie, Ultraschall oder Computertomographie gestellt. Wichtig ist die klinische Untersuchung durch einen erfahrenen Arzt. Als Richtlinie zur Diagnostik der Fingerpolyarthrose dienen die Kriterien des American College of Rheumatology (ACR; Altmann et al., 1990; siehe Kapitel 3.2.1). Insgesamt wird in der klinischen Praxis die Diagnose hauptsächlich durch charakteristische Symptome, wie Schmerzen, Steifigkeit und Bewegungseinschränkung des Gelenks gestellt, trotz eingeschränkter Sensitivität und Spezifität.

Additive bildgebende Verfahren wie nativradiologische Röntgenbilder, Ultraschall oder die Magnetresonanztomographie können die Krankheit meist nur in fortgeschrittenen Stadien mit meist ausgeprägten strukturellen Gelenkschädigungen diagnostizieren. Dabei stellen nativradiologische Röntgenbilder immer noch den Goldstandard zur Diagnose und Verlaufsevaluation einer OA dar. Die radiologischen Kennzeichen einer OA, wie z. B. Osteophyten, Gelenkspaltverschmälerung, Sklerosierung des subchondralen Knochens (siehe auch Kapitel 3.2.8) sind in sehr frühen Stadien der Erkrankung bildgebend noch nicht nachweisbar. Die radiologischen Gelenkveränderungen stehen in keiner Korrelation mit den Beschwerden des Patienten. Auch zeigen viele Patienten radiologische Zeichen einer OA ohne dass diese klinische Symptome aufzeigen. Es dauert ungefähr 1-2 Jahre bis es zu einer Veränderung der radiologischen Scores kommt (Vignon et al., 2005). Mittels Ultraschall und der Magnetresonanztomographie kann der aktuelle Grad der Entzündung anhand der Gelenkschwellung evaluiert werden (Haugen, 2014). Diese Untersuchungen werden zurzeit meistens nur additiv oder bei speziellen Fragestellungen angewendet.

Es gibt für die Fingerpolyarthrose keine etablierten diagnostischen Bluttests oder andere standardisierten Verfahren zur Frühdiagnose. So können mittels Nachweis von Rheumafaktoren oder Antikörper gegen das citrullinierte Peptid eine rheumatoide Arthritis oder eine andere Erkrankung diagnostiziert bzw. ausgeschlossen werden, aber



ein klinisch etablierter Bluttest zur Frühdiagnose einer Fingerpolyarthrose fehlt. Erhöhte Serumspiegel des C-reaktiven Proteins (CRP) können dem behandelnden Arzt eine Auskunft über den aktuellen inflammatorischen Stand der Erkrankung geben. Allerdings finden sich erhöhte CRP-Werte auch bei anderen Erkrankungen mit entzündlichem Charakter.

Serummarker oder Biomarker sind biologische Metabolite, die in einem tierischen oder menschlichen Gewebe oder in einer Flüssigkeit (z. B. Blut, Gelenkflüssigkeit, Liquor, etc.) quantifiziert werden können und für bestimmte pathologische Prozesse im Körper charakteristisch sind. Es gibt Tumormarker, die bei erhöhten Konzentrationen im Blut auf eine Tumorerkrankung hinweisen können, z. B.  $\alpha$ -Fetoprotein (AFP) oder auch Marker, die für eine Schwangerschaft ( $\beta$ -humanes Choriongonadotropin =  $\beta$ hCG) charakteristisch sind. Für die OA generell sind bisher noch keine Biomarker für die Früherkennung oder die Kontrolle des Therapieerfolges klinisch etabliert. Bei Hüft- oder Gonarthrosen konnten allerdings bereits einige vielversprechende Knorpelstoffwechselmetabolite, z.B. COMP, YKL-40 (siehe unten) identifiziert werden, deren Eignung als Biomarker noch intensiv untersucht wird.

Für die Hand- und Fingergelenke gibt es nur wenige Berichte über mögliche Biomarker (siehe Kapitel 1.5 ff). Dies liegt zum einen daran, dass sich die weltweite Forschung im Wesentlichen auf die großen Gelenke wie Hüft- und Kniegelenke konzentriert. Des Weiteren ergeben sich Schwierigkeiten in Bezug auf die Messbarkeit der Marker, speziell aus den kleinen Gelenken. Auch werden die Marker nicht isoliert aus den Hand- und Fingergelenken freigesetzt, sondern z.B. auch aus der Wirbelsäule oder anderen Gelenken im menschlichen Körper. Daraus kann ein „Hintergrundrauschen“ der Marker im Blut resultieren. Ein isolierter Nachweis der möglichen Biomarker für die Fingerpolyarthrose aus den kleinen Fingergelenken wird somit erschwert.

### **1.4.3.3 Therapieoptionen**

Insgesamt gibt es nur wenige Therapieempfehlungen in den aktuellen Leitlinien, die sich exakt auf die Therapie der Fingerpolyarthrose beziehen (American College of Rheumatology, ACR: Hochberg et al., 2012; European League Against Rheumatism, EULAR: Zhang et al., 2007). Häufig werden eher Therapieempfehlungen für die großen Gelenke diskutiert (Osteoarthritis Research Society International, OARSI: McAlindon et al., 2014). Die aktuell zur Verfügung stehenden Therapieoptionen der Fingerpolyarthrose, gemäß den oben genannten Leitlinien können in drei großen Gruppen zusammengefasst werden: Pharmakologisch, chirurgisch und nicht-pharmakologisch.

Als bekannteste Pharmaka gelten die nicht steroidalen Antirheumatika/ Antiphlogistika (NSAR, NSAID), wie z.B. Ibuprofen oder die selektiven Cyclooxygenase-2-Hemmer (COX-2). Sie sollten nach Möglichkeit in der niedrigsten Dosis und nur für eine kurze Zeit gegeben werden (Zhang et al., 2007 und Zhang et al., 2008). Bei Patienten mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko sind die Cox-2-Inhibitoren kontraindiziert. Des Weiteren sollten bei Patienten mit einem erhöhten gastrointestinalen Risiko die NSAIDs nur in Verbindung mit einem Protonenpumpeninhibitor, wie z.B. Pantoprazol verabreicht werden.

Die Applikation von lokalen NSAIDs oder Capsaicin (Hochberg et al., 2012) entfaltet eine gute Wirkung bei der Fingerpolyarthrose. So konnten einige Studien zur Fingerpolyarthrose die Überlegenheit von topisch applizierten NSAIDs in Bezug auf das Nebenwirkungsprofil gegenüber oralen NSAIDs bei gleicher Wirkung nachweisen (Laslett et al., 2014; Lin et al., 2004; Moore et al., 1998). In der Therapie der Fingerpolyarthrose sollte bei nur wenig befallenen Gelenken und milder Symptomatik eine lokale Therapie bevorzugt werden (Zhang et al., 2007 und Hochberg et al., 2012).

Paracetamol zeigt eine geringere Wirkung in der Therapie der OA als NSAIDs. Studien zur Fingerpolyarthrose fehlen. Opiode, z. B. Tramadol oder stärkere wie z. B. Fentanyl oder Oxycodon werden aufgrund der starken Nebenwirkungen nur gelegentlich z. B. perioperativ verschrieben und meist auch nur in Bezug auf die großen Gelenke und nicht bei der Fingerpolyarthrose (Avouac et al., 2007). Studien zur Therapie mit Opioiden bei Fingerpolyarthrose fehlen.

Des Weiteren stehen noch die symptomatic slow-acting drugs for osteoarthritis (SYSADOAs) wie z.B. Glukosamin, Hyaluronsäure und Chondroitinsulfat zur Verfügung. In diesem Bereich gibt es nur wenige Studien in Bezug auf die symptomlindernde Wirksamkeit bei Fingerpolyarthrose. Gerne werden die Ergebnisse aus den Studien zur Knie- und Hüftgelenksarthrose auf die Fingerpolyarthrose übertragen. Insgesamt zeigt sich nur ein minimaler positiver Effekt der SYSADOAs auf die Symptome. Effekte auf die Funktion oder einen Einfluss auf die Krankheitsprogression konnten bisher nicht sicher nachgewiesen werden (Towheed et al., 2006; McAlindon et al., 2014; Steinmeyer und Kontinen, 2006).

Eine lokale Anwendung der SYSADOAs findet fast ausschließlich im Bereich des Daumensattelgelenks statt. Zur lokalen Injektion von Hyaluronsäure und Glukokortikoiden bei Fingerpolyarthrose gibt es nur wenige Studien mit sehr kleinen Fallzahlen. So konnte bei der lokalen Injektion von Hyaluronsäure eine Schmerzreduktion von 2.18 Punkten auf der visuellen Analogskala (VAS 0 - 10, siehe

Kapitel 3.2.9.3) festgestellt werden (Schumacher et al., 2004). Die intraartikuläre Applikation von Kortikoiden zeigte im Vergleich mit Placebo keinen positiven Effekt bei einer OA des CMC1 (Meenagh et al., 2004; Joshi, 2005). Die Arbeitsgruppe um Frizziero konnte eine Schmerzreduktion bei der lokalen Injektion von Hyaluronsäure im Bereich des Daumensattelgelenks nachweisen, allerdings nur bei Patienten mit einer Unverträglichkeit gegenüber NSAIDs (Frizziero et al., 2014). Die aktuellen Leitlinien geben daher keine Empfehlung für eine lokale Therapie mit SYSADOAs (McAlindon et al., 2014, Hochberg et al., 2012).

Die chirurgischen Optionen beziehen sich meistens auf das Daumensattelgelenk. Zur Verfügung stehen die Arthrodesse, die Osteotomie, die Interpositionsarthroplastik und weitere. Die verschiedenen Verfahren finden nur Anwendung in weit fortgeschrittenen Stadien der Fingerpolyarthrose, die auf eine konservative Therapie ungenügend ansprechen.

Als nicht-pharmakologische Therapiemaßnahmen im Bereich der Fingerpolyarthrose gibt es physiotherapeutische Anwendungen, physikalische Therapien (z. B. Wärme oder Ultraschall) und die Akkupunktur. Eine breite klinische Anwendung finden Schienen und angepassten Orthesen. Es gibt nur wenige Studien mit kleinen Fallzahlen, die die verschiedenen Orthesen untereinander vergleichen (Weiss et al., 2004; Buurke et al., 1999). Allerdings fehlen hier unabhängige kontrollierte Studien zu deren Effektivität.

Insgesamt gilt für die Therapie von Fingerpolyarthrosen ein multimodales Konzept, kombiniert aus pharmakologischen Therapien, nicht pharmakologischen Therapien und der Chirurgie. Als Zielsetzung der Therapien zählen vor allem die Symptomlinderung, die Verlangsamung der Krankheitsprogression und die Verbesserung der Mobilität der Gelenke. Die Therapie sollte für jeden Patienten individuell in Zusammenschau der persönlichen Risikofaktoren, des Krankheitsstadiums, der Symptomschwere und der relevanten Nebenerkrankungen ausgewählt werden. Zurzeit gibt es keine Therapien, die die Entstehung der Krankheit und die Progression stoppen können (Oliviero et al., 2010, Hackenbroch et al., 2007, Steinmeyer und Kontinen, 2006).

## **1.5 Biomarker der Fingerpolyarthrose**

### **1.5.1 Anforderungen an Biomarker**

Biomarker sollten einige wichtige Kriterien erfüllen, um als solche überhaupt dienen zu können. So sollten die Messungen solcher Marker in Körperflüssigkeiten einfach und

schnell sein. Eine aufwendige oder schwierige Probengewinnung sowie eine aufwendige Laborbestimmung stellen ein Hindernis in der klinischen Praxis dar. Des Weiteren sollten die Einflüsse auf die Biomarker-Level hinreichend erforscht sein, um eine Interpretation der Werte zu ermöglichen und bestimmte Störeinflüsse oder Messfehler zu vermeiden. Auch sollten nach Möglichkeit Grenzwerte, beziehungsweise Schwellenwerte für die Marker bekannt sein, um die aktuellen Werte besser interpretieren (normwertig versus pathologisch) zu können. Wichtig ist auch die Kenntnis über die Physiologie eines bestimmten Biomarkers und wie spezifisch der Marker für einen bestimmten Stoffwechselzustand des Körpers ist. Als Beispiel für einen sehr unspezifischen Marker, allerdings ein Marker mit einer sehr breiten klinischen Anwendung, wäre hier das C-reaktive Protein zu nennen. Das CRP wird im Rahmen einer Infektionsdiagnostik bestimmt und kann Hinweise auf eine Infektion, Entzündung oder Gewebeschädigung liefern. Allerdings ist das CRP nicht spezifisch für bestimmte Erkrankungen und kann somit auch postoperativ erhöht sein. Daher wäre es von Vorteil Biomarker zu finden, die zum einen spezifisch für eine Erkrankung sind, zum anderen aber auch die Schwere einer Erkrankung aufzeigen können. Auch Marker, die zur Verlaufs- und Erfolgskontrolle bei Pharmakotherapie oder anderen Therapieinterventionen dienen können, wären vielversprechend.

Zuletzt sollte die Bestimmung der Biomarker nach Möglichkeit durch eine kostengünstige Analysemethode erfolgen, um den wachsenden ökonomischen Ansprüchen im klinischen Alltag gerecht zu werden. Nur selten sind alle Ansprüche an Biomarker erfüllbar. Viele Biomarker im Bereich der OA-Forschung befinden sich noch in den Anfängen der Grundlagenforschung und viele Stoffwechselwege sind noch nicht hinreichend bekannt, um den Nutzen der einzelnen Marker für die Gesamterkrankung abschätzen zu können.

### **1.5.2 Einteilung der Biomarker**

Es gibt nur wenige Biomarker, bei denen zum aktuellen Stand der Forschung die genaue Kenntnis der Gelenkphysiologie bzw. der Pathophysiologie der OA vorliegt. Noch weniger Biomarker gibt es, die zur Prognose, zur Diagnose oder sogar zur Frühdiagnose einer OA beitragen können. Eine wichtige Rolle im Bereich der Biomarkerforschung der OA spielen Kollagensynthese- oder Kollagenabbauprodukte, wie N- oder C-Propeptide des Kollagen Typ II, Aggrecan oder auch bestimmte Matrixmetalloproteinasen. Auch Stoffwechselfparameter aus den gelenknahen Knochen z. B. C-terminales Propeptid des Kollagen Typ I (CTXI) und Desoxypyridinolin-Crosslinks (DPD) oder des umgebenen Synovialgewebes, z. B. N-terminales-Propeptid des Typ III Prokollagens, können zur Analyse der Stoffwechselfvorgänge beim Arthroseprozess beitragen.

Wie oben bereits erwähnt, konzentriert sich die Grundlagenforschung vermehrt auf die großen Gelenke des menschlichen Körpers. So wurden zunächst die seit längerem bekannten Marker wie COMP oder das Spaltprodukt des C-terminalen Telopeptids des Typ II Kollagens (CTX II) im Bereich Fingerpolyarthrose untersucht.

Resultate aus der Forschung der großen Gelenke werden gerne auf die kleinen Gelenke übertragen, ohne dass dies genau evaluiert wurde. Um die in der OA-Forschung untersuchten Marker besser zu klassifizieren, entwarf die Arbeitsgruppe um Bauer et al. die BIPED-Klassifikation (Bauer et al., 2006). Dabei werden die Biomarker der Arthrose in fünf Kategorien eingeteilt: Marker der Erkrankungsschwere (Burden of disease), noch zu untersuchende Marker (Investigative), Prognose-Marker (Prognostic), Marker des Therapieerfolges (Efficacy of intervention) und Diagnose-Marker (Diagnostic). Anhand dieser Klassifikation ist es möglich, eine bessere Systematik in die verschiedenen Biomarker und Biomarker-Studien zu bringen. Allerdings zeigt diese Einteilung der Biomarker auch, dass sich die meisten Marker noch im experimentellen Stadium befinden und eine klinische Anwendung noch nicht stattfindet (van Spil et al., 2010).

In der vorliegenden Studie werden folgende Biomarker näher untersucht. Zur besseren Übersicht wurden diese auf Basis der BIPED-Klassifikation (Bauer et al., 2006) durch uns eingeteilt:

<b>BIPED-Kriterien</b>	<b>Biomarker</b>
Burden of disease	COMP, C1,2C, CP II, YKL-40, CS846, sVCAM-1
Investigative	NGAL, sVCAM-1, IL-15
Prognostic	COMP, C1,2C, PIIANP
Efficacy of intervention	COMP, C1,2C
Diagnostic	COMP, C1,2C, PIIANP, CP II, YKL-40, CS846, sVCAM-1, IL-15, NGAL

**Tabelle 1:** Einteilung der hier untersuchten Biomarker anhand der BIPED-Kriterien (Burden of disease, Investigative, Prognostic, Efficacy of Intervention, Diagnostic; Bauer et al., 2006). COMP = Cartilage oligomeric matrix protein, C1,2C = COL-2-3/4 short, PIIANP = N-terminales Propeptid von Typ II Prokollagen, CPII = C-terminales Propetid von Prokollagen Typ II, CS846 = Aggreacan-Chondroitin-Sulfat-846-Epitop, sVCAM-1 = Soluble-vascular-cell-adhesion-molecule-1, IL-15 = Interleukin 15, NGAL = neutrophil-gelatinase-associated lipocalin und YKL-40 = cartilage glycoprotein 39.

### **1.5.2.1 COMP - Cartilage Oligomeric Matrix Protein**

Das Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP) gehört zu den am besten untersuchten Biomarker der OA. Hierbei handelt es sich um ein 524 kDa großes extrazelluläres Glykoprotein, das zur Thrombospondinfamilie gehört (Oldberg et al., 1992). COMP ist ein homopentameres Protein, wobei jede Untereinheit aus 755 Aminosäuren besteht (Hedbom et al., 1992). Die C-terminale globuläre Domäne kann Kollagen I, II, IX und

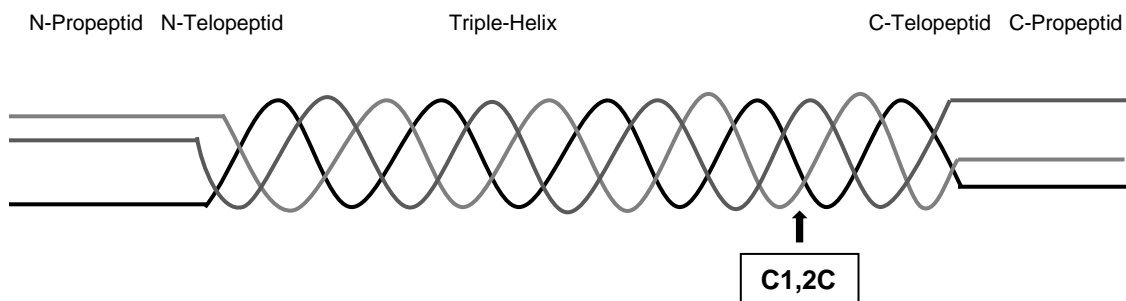
Fibronektin binden. COMP wird von verschiedenen Zellen im menschlichen Körper sezerniert, so zum Beispiel von Osteoblasten, Fibroblasten und Synoviozyten (Hedbom et al., 1992; Di Cesare et al., 1994). Die eigentliche Funktion von COMP ist bis jetzt noch nicht ausreichend geklärt. Es wird vermutet, dass COMP eine wichtige Rolle in der enchondralen Ossifikation und in der Stabilisierung der extrazellulären Matrix spielt (Tseng et al., 2009). So beeinflusst COMP die Kollagenfibrillenformation von Kollagen Typ I und II und bindet an Aggrekan (Halasz et al., 2007).

Einige Studien haben gezeigt, dass COMP ein wichtiger Biomarker (entweder im Serum oder in der Synovialflüssigkeit) beim Knorpelabbau in Gelenken ist und somit auch bei OA (z. B.: Petersson et al., 1997; Clark et al., 1999; Sharif et al., 2004; Sharif et al., 2006; Lohmander et al., 1994). Erhöhte Werte können auf einen Knorpelschaden oder aber auch auf Knorpelverlust hinweisen. So konnte gezeigt werden, dass bei erhöhtem Knorpelabbau in Ratten vermehrt COMP im Serum nachgewiesen wurde (Larsson et al., 2004). Frühere Studien haben gezeigt, dass die Konzentration von COMP gut mit der Erkrankungsschwere der OA korreliert (Saxne et al., 1992). So haben Patienten mit einem geringeren Kellgren-Lawrence-Score auch niedrigere COMP-Konzentrationen als Patienten mit höherem Scorewert.

Weitere physiologische Faktoren, die die Konzentration im Serum erhöhen, sind ein hoher Body-Maß-Index (BMI), steigendes Alter (Jordan et al., 2003 und Bos et al., 2013) und Bewegung der Gelenke (Andersson et al., 2006a). Die Arbeitsgruppe um Bos et al., untersuchte in einem Zeitraum von 4 Jahren in einem Studienkollektiv von 1050 Probanden, davon 329 gesunde Personen und deren jeweiligen Partnern, sowie 392 Hand-OA-Patienten, den Zusammenhang zwischen der Serum-COMP-Konzentration, dem Alter und den nativradiologischen Aufnahmen der Hände, wobei ein Kellgren-Lawrence-Score  $\geq 2$  als OA definiert wurde. Diese Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass die Konzentration von COMP im Serum mit steigendem Alter ebenfalls anstieg, unabhängig von den radiologischen Scores der Fingerpolyarthrose (Bos et al., 2013). Des Weiteren unterliegen die Serum-COMP-Spiegel einem zirkadianen Rhythmus. Die Arbeitsgruppe um Andersson et al., konnte in einer Kohorte von 10 Patienten mit einer Gonarthrose zeigen, dass die COMP-Spiegel während der Tageszeit von 9-21 Uhr konstant blieben und zwischen vier und fünf Uhr morgens einen Tiefpunkt erreichten (Andersson et al., 2006b). Kong et al., berichten, dass die COMP-Konzentrationen im Serum am Morgen, etwa eine Stunde nach dem Aufstehen, wieder ansteigen (Kong et al., 2006).

### 1.5.2.2 C1,2C – $\frac{3}{4}$ Spaltprodukt von Kollagen Typ II (COL2- $\frac{3}{4}$ Short)

Bei C1,2C (COL2-  $\frac{3}{4}$  Short) handelt es sich um einen Kollagenmetabolit, genauer um ein  $\frac{3}{4}$  Spaltprodukt des Kollagen Typ II, das beim Abbau von Kollagen Typ I und Typ II durch Matrixmetalloproteinasen (MMP-1, MMP-8 und MMP-13) entsteht. C1,2C gilt als Marker für einen erhöhten Kollagenabbau (Abbildung 4). Verschiedene Studien konnten zeigen, dass C1,2C im Knorpel bei Patienten mit frühen sowie mit späten OA-Stadien deutlich höher lag als in normalem Knorpel (Billinghurst et al., 1997, Aurich et al., 2005). C1,2C spielt als Biomarker auch eine Rolle bei der RA. So können erhöhte Konzentration von C1,2C auf eine Krankheitsprogression bei der rheumatoiden Arthritis hinweisen (Verstappen et al., 2006). Es konnte keine zirkadiane Rhythmik für die C1,2C-Konzentrationen im Blut gefunden werden (Kong et al., 2006).



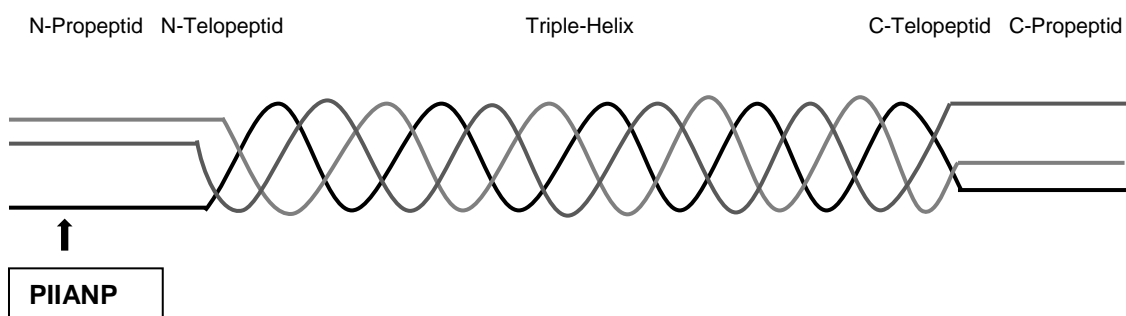
**Abbildung 4:** Schematische Darstellung eines Kollagenmoleküls (C1,2C). Dargestellt ist eine Schemazeichnung eines Kollagenmoleküls mit dem N-terminalen Ende, bestehend aus dem N-Propeptid und dem N-Telopeptid, der Triple-Helix sowie dem C-Telopeptid und dem C-Propeptid. Der Pfeil markiert die Ansatzstelle der Kollagenasen/ Matrixmetalloproteinasen zur Abspaltung des  $\frac{3}{4}$  Spaltprodukt des Kollagen Typ II (C1,2C).

### 1.5.2.3 PIIANP - N-terminales Propeptid von Typ II Prokollagen

Bei der Reifung von Kollagen Typ II wird durch Proteinase das N-terminale Propeptid des Typ II Prokollagens (PIINP) vom Prokollagen Typ II abgespalten und freigesetzt (Abbildung 5). Dabei liegt PIINP durch 2 alternative RNA-Splicevariationen in 2 Formen vor: PIIANP und PIIBNP, die sich durch 69 cysteinreiche Aminosäuressequenzen unterscheiden (Ryan et al., 1990 und Nah et al., 1991). PIIBNP wird von normalen adulten Knorpelzellen exprimiert, während PIIANP nur von Chondrozytenvorläuferzellen und adulten OA-Knorpelzellen exprimiert wird. Normale adulte Chondrozyten exprimieren kein PIIANP (Ryan et al., 1990; Aigner et al., 1999). PIIANP kann somit als Marker der Synthese von Typ II Kollagen im arthrotischen Knorpel dienen.

Verschiedene Studien zeigen, dass erhöhte Ausgangswerte von PIIANP bei Patienten mit einer Gonarthrose auf eine erhöhte Progression der Erkrankung hindeuten (Sharif et al., 2007; Garnero et al., 2002). So untersuchte eine Studie mit initial 135 Gonarthrose-Patienten über 5 Jahre die Serumkonzentrationen von PIIANP im Vergleich zur

nativradiologischen Krankheitsprogression, objektiviert mittels des radiologischen Scores nach Kellgren-Lawrence (Sharif et al., 2007). Diese Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass erhöhte PIIANP-Serumkonzentrationen zu Beginn der Studie mit einem deutlich erhöhten Risiko einer Krankheitsprogression einhergingen im Vergleich zu Patienten mit einem niedrigeren PIIANP-Spiegel zu Beginn der Studie (Sharif et al., 2007). Auf der anderen Seite war die Konzentration von PIIANP bei Patienten mit einer fortgeschrittenen Gonarthrose im Vergleich zu gesunden Probanden erniedrigt, was auf eine supprimierte Kollagensynthese bei fortgeschrittenen OA-Stadien hinweisen kann (Rousseau et al., 2004). Die Arbeitsgruppe um Quintana et al. konnte in einer Kohorte von 40 Patienten mit einer symptomatischen Gonarthrose (n = 40) eine zirkadiane Rhythmik für die PIIANP-Konzentration im Blut nachweisen: Die Konzentration stieg am Morgen nach dem Aufstehen an, um dann nach 2 Stunden wieder auf den Ausgangswert zu fallen (Quintana et al., 2008). Die Konzentrationen für PIIANP zeigen eine deutliche Korrelation mit dem Alter (Krumm et al., 2009).



**Abbildung 5:** Schematische Darstellung eines Kollagenmoleküls (PIIANP). Dargestellt ist eine Schemazeichnung eines Kollagenmoleküls mit dem N-terminalen Ende, bestehend aus dem N-Propeptid und dem N-Telopeptid, der Triple-Helix sowie dem C-Telopeptid und dem C-Propeptid. Der Pfeil markiert das N-terminale Propeptid des Typ II Prokollagens (PIIANP).

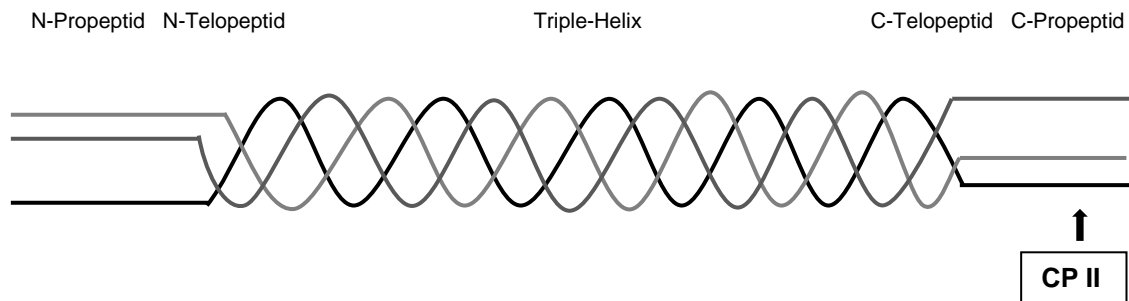
#### 1.5.2.4 CPII - C-terminales Propeptid von Prokollagen Typ II

Das C-terminale Propeptid des Prokollagen Typ II (CP II, Chondrocalcin) wird bei der Reifung von Typ-II Kollagen durch Abspaltung mittels Amino- oder Carboxy-Proteinasen freigesetzt (Abbildung 6). Somit dient CPII ebenfalls als ein Marker der Typ II Kollagensyntheseaktivität des Knorpels.

Kaboyashi et al., konnten eine positive Korrelation der Konzentration des CPIIs in der Synovialflüssigkeit mit dem BMI beweisen. So lag die Konzentration bei einem mittleren BMI von 20.3 kg/m<sup>2</sup> bei 2,7 ng/ml und bei einem mittleren BMI von 28.9 kg/m<sup>2</sup> bei 4,8 ng/ml (Kobayashi et al., 1997). Eine Korrelation mit dem Geschlecht sowie mit dem Alter bestand nicht. Als Ausnahme sind hier Personen unter 18 Jahren zu nennen. Hier ist die



Konzentration deutlich erhöht (Lohmander et al., 1996). Eine weitere Studie konnte nachweisen, dass die Konzentration von CII in der Synovialflüssigkeit bei Patienten mit einer OA deutlich höher war, als in der gesunden Kontrollgruppe (Garnero et al., 2002).



**Abbildung 6:** Schematische Darstellung eines Kollagenmoleküls (CPII). Dargestellt ist eine Schemazeichnung eines Kollagenmoleküls mit dem N-terminalen Ende, bestehend aus dem N-Propeptid und dem N-Telopeptid, der Triple-Helix, sowie dem C-Telopeptid und dem C-Propeptid. Der Pfeil markiert das C-terminale Propeptid des Typ II Prokollagens (CPII).

Auch steigt die Konzentration von CPII in der Synovialflüssigkeit und im Serum bei Pferden nach Bewegung der Karpalgelenke an. Dieser Anstieg fällt bei Pferden mit OA größer aus, als bei Pferden mit gesunden Gelenken (Frisbie et al., 2008). Die Arbeitsgruppe um Kong et al. fand eine zirkadiane Rhythmik der CPII-Konzentrationen im Serum. Die CPII-Konzentrationen stiegen bis zu vier Stunden nach dem morgendlichen Aufstehen deutlich an, fielen aber nach zwölf Stunden bei normaler Tagesaktivitäten wieder auf die Ausgangskonzentration ab (Kong et al., 2006).

#### 1.5.2.5 CS846 - Aggrekan-Chondroitin-Sulfat-846-Epitop

Das Aggrekan-Chondroitin-Sulfat-846-Epitop (CS846) kommt normalerweise nur in intaktem fetalem Knorpel und hier nur im Aggrekan vor, während es im adulten gesunden Knorpel fehlt. CS846 ist Bestandteil des Aggrekans, einem extrazellulären Matrixproteoglykan im Knorpel. Der Gehalt von CS846 steigt, als Reparatur- und Knorpelsynthesemarker bei Knorpelschäden und bei verschiedenen rheumatischen Erkrankungen in Aggrekan an und ist somit in erhöhten Konzentrationen im Serum, Synovialflüssigkeit (Lohmander et al., 1999) sowie im Gelenkknorpel (Rizkalla et al., 1992) nachweisbar. Die Konzentration von CS846 korreliert gut mit der Knorpelsynthese in geschädigten adulten Knorpel (Rizkalla et al., 1992).

Einige Studien berichten über einen erhöhten Gehalt an CS846 im Knorpel von OA Patienten im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (Rizkalla et al., 1992; Adams, 1994). Auch korrelieren die CS846-Konzentrationen gut mit der Krankheitsprogression bei RA-Patienten (Mansson et al., 1995). Die Arbeitsgruppe um Frisbie konnte zeigen,

dass CS846 in der Synovialflüssigkeit bei Pferden nach Bewegung der Karpalgelenke ansteigt. Auch fiel dieser Konzentrationsanstieg bei Pferden mit OA viel höher aus, als bei gesunden Pferden mit normalen Gelenken (Frisbie et al., 2008). Es konnte keine zirkadiane Rhythmik für die CS846-Konzentration im Serum gefunden werden (Kong et al., 2006).

#### **1.5.2.6 sVCAM-1 - Soluble-vascular-cell-adhesion-molecule-1**

Das Gefäß-Zell-Adhäsion-Molekül-1 (VCAM-1) ist ein transmembranäres Glykoprotein. Es ist ein Mitglied der Immunglobulinfamilie und besitzt eine molekulare Masse von 100-110 kDa. VCAM-1 fördert die Adhäsion von z. B. Lymphozyten am Endothel und somit die Migration von Immunzellen in aktiviertem inflammatorischen Gewebe. Des Weiteren spielt VCAM-1 eine Rolle bei der Angiogenese und der Pathogenese der Artherosklerose (Koch et al., 1995).

Das lösliche Gefäß-Zell-Adhäsion-Molekül-1 (sVCAM-1) ist im Blut (Sudhoff et al., 1996) und Liquor (Droogan et al., 1996) zu finden. Es wird vom Endothel im Subsynovialgewebe sowie von eingewanderten Monozyten in der Synovia bei RA-Patienten vermehrt exprimiert. Zudem sind die sVCAM-1 Werte bei RA-Patienten im Serum höher als bei OA-Patienten und korrelieren gut mit den Entzündungsmarkern wie dem CRP (Klimiuk et al., 2002). Die löslichen Zelladhäsionsmoleküle könnten als wichtige Marker im Bereich von entzündlichen Prozessen eingesetzt werden (Janssen et al., 1994).

Einige Studien haben gezeigt, dass sVCAM-1 als ein potentieller Biomarker der OA dienen kann. So zeigen Schett et al., dass sVCAM-1 einen schweren Verlauf der Knie- und Hüftarthrose anzeigen kann. Hohe Konzentrationen ( $943.8 \pm 589.9$  ng/ml) von sVCAM-1 gingen, verglichen mit niedrigeren sVCAM-1-Konzentrationen ( $675.8 \pm 275.5$  ng/ml), mit einem erhöhten Risiko für einen Gelenkersatz einher (Schett et al., 2009). Shawn et al. berichten, dass eine hohe Expression von sVCAM-1, Notch-1 und weiteren Proteinen im arthrotisch veränderten Knorpel für eine erhöhte Immunzellaktivierung in der OA-Pathogenese sprechen kann (Grogan et al., 2009). Dadurch kommt es zu einer vermehrten Migration von Monozyten oder ähnlichen Zellen in das aktivierte Gewebe und ist somit Ausdruck einer gesteigerten Entzündungsaktivität.

#### **1.5.2.7 IL-15 - Interleukin-15**

Interleukin-15 ist ein 14 kDa großes Glykoprotein und gehört zur Familie der Zytokine (Perera, 2000). IL-15 spielt eine Rolle in der Immunregulation. So ist IL-15 bei der T-Zell- und natürlichen Killerzellaktivierung und -proliferation beteiligt, wie z. B. im Rahmen von

Virus- und bakteriellen Infektionen (Perera et al., 2012). Es bestehen viele Ähnlichkeiten zu IL-2. Die Rolle von IL-15 lässt sich kurz als die eines "Immunmodulators" zusammenfassen. Des Weiteren spielt IL-15 eine Rolle bei chronisch-entzündlichen Krankheiten und auch bei Autoimmunerkrankungen.

Im Bereich der OA-Forschung konnten erhöhte IL-15 Konzentrationen im Bereich von 10-20 pg/ml in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit einer frühen Gonarthrose im Vergleich zu fortgeschrittenen Krankheitsstadien (0-10 pg/ml) nachgewiesen werden (Scanzello et al., 2009). Die Arbeitsgruppe um Ling et al. analysierten verschiedene Proteinprofile in Serumproben von 22 Knie- und Handarthrose-Patienten und von 66 gesunden Kontrollen. Dabei zeigte sich im Vergleich mit den Röntgenbildern, dass insgesamt 4 dieser Proteine, unter anderem IL-15, bei den OA-Patienten im Frühstadium der Erkrankung im Serum erhöht exprimiert waren. Somit konnten Ling et al. IL-15 neben anderen Proteinen als potentiellen Marker für die Früherkennung der OA identifizieren (Ling et al., 2009).

#### **1.5.2.8 NGAL - Neutrophil-gelatinase-associated lipocalin**

NGAL ist ein kleines Bindungsprotein mit einer molekularen Masse von 25 kDa und gehört zur Familie der Lipocaline (Pervais und Brew, 1987). NGAL wurde erstmals in aktivierten Neutrophilen nachgewiesen (Kjeldsen et al., 1993). NGAL kommt auch in anderen Geweben vor, wie z. B. Prostata und Niere. NGAL ist bereits als Marker vor allem von bakteriellen Infektionen (Xu et al., 1995), bei Tumorerkrankungen z. B. Urothelkarzinom (Monier et al., 2000), Brustkrebs (Stoesz et al., 1998) und als Nierenfunktionsparameter (Mishra et al., 2003) bekannt.

In gesundem Knorpel ist NGAL nicht nachweisbar (Zegera et al., 2000). Die NGAL-Liberation im Knorpel geschieht als Folge einer Stimulation durch IL-1. Damit konnte die Arbeitsgruppe um Wilson et al. (2008) NGAL als möglichen Biomarker für OA identifizieren. Des Weiteren bildet NGAL einen Komplex mit der Matrixmetalloproteinase-9 (MMP-9, Yan et al., 2001), die eine Rolle in der Knorpeldegradation in der OA-Pathogenese spielt. Gupta et al. konnten erstmals ein Vorkommen von NGAL mittels Westernblot (Immunblot) in der Synovialflüssigkeit von OA-Patienten (n= 5) nachweisen (Gupta et al., 2007).

#### **1.5.2.9 YKL-40 - Cartilage glycoprotein 39**

YKL-40 ist auch bekannt als Chitinase-3-like-protein oder human cartilage glycoprotein 39. Es ist ein 40 kDa schweres Glykoprotein. Der Name YKL-40 leitet sich von den letzten drei N-terminalen Aminosäuren und der molekularen Masse ab. YKL-40 wird in Regionen freigesetzt, in denen es zu einem Umbau der extrazellulären Matrix kommt

(Živanović et al., 2009). Die eigentliche Funktion dieses Proteins ist bisher unbekannt. Erhöhte Konzentrationen an YKL-40 werden bei chronischen Erkrankungen (Hakala et al., 1993) aber auch bei Karzinomen wie z.B. dem Mammakarzinom (Johansen et al., 1995), bei kolorektalen Karzinomen (Cintin et al., 1999) oder der Leberfibrose (Johansen et al., 2000) bestimmt. Bei der OA konnte die Arbeitsgruppe um Johansen et al. erhöhte Konzentrationen im OA-Knorpel (4,13 ng/mg Knorpel) im Vergleich zu gesundem Knorpel (0,82 ng/mg Knorpel) nachweisen (Johansen et al., 2001). YKL-40 wird von Chondrozyten und Synoviozyten bei Patienten mit RA oder OA freigesetzt. Im normalen gesunden Knorpel konnte YKL-40 nicht oder nur in sehr niedrigen Konzentrationen nachgewiesen werden (Volck et al., 1999). Erhöhte Werte im Serum oder in der Synovialflüssigkeit ließen sich bei Patienten mit einer rheumatoiden Arthritis (87 µg/l; 2120 µg/l) oder einer schweren OA (73 µg/l; 1190 µg/l) mittels ELISA bestimmen (Volck et al., 2001). Weitere Arbeitsgruppen konnten ebenfalls erhöhte Werte für YKL-40 im Serum bestimmen. So lag der Median des YKL-40-Spiegels bei gesunden Probandinnen in einer Studie bei 42,9 µg/L im Vergleich zum Median der OA-Patienten von 104,2 µg/l (Harvey et al., 1998). Eine weitere Studie fand YKL-40 Spiegel im Median bei gesunden Probanden bei 108 µg/l im Vergleich zu den deutlich erhöhten Werten (168 µg/l) bei der OA Gruppe (Johansen et al., 1996). Somit scheint YKL-40 ein potentieller Biomarker für OA mit Knorpelzerstörung und Synovitis zu sein. Die Arbeitsgruppe um Johansen et al. stellte fest, dass die Konzentration von YKL-40 mit zunehmendem Alter ansteigt. Zudem konnte die gleiche Arbeitsgruppe zeigen, dass Radfahren und damit die Gelenkbewegung keinen Effekt auf die Konzentration von YKL-40 hat (Johansen et al., 2008). Auch ergaben sich keine Hinweise auf eine zirkadiane Rhythmik der YKL-40 Spiegel (Johansen et al., 2008).

Zusammenfassend gibt es einige vielversprechende Biomarker der Fingerpolyarthrose, die die Möglichkeit geben, die Erkrankung, auch in sehr frühen Krankheitsstadien, zu diagnostizieren und gegebenenfalls auch als Verlaufsparemeter zu dienen. Oft ist allerdings wenig über die genaue Pathogenese und die Rolle der Biomarker im Bereich der Fingerpolyarthrose bekannt. Derzeit konzentriert sich die aktuelle Forschung vor allem auf die großen Gelenke wie Knie oder Hüfte. Die Fingerpolyarthrose ist eine häufig vorkommende Erkrankung, mit allein 5 Millionen Betroffenen in Deutschland. Jedoch sind Biomarker-Studien in diesem Bereich eine Rarität. Solche Biomarker könnten zukünftig nicht nur zur frühen Diagnose sondern auch zur Prophylaxe sowie Kontrolle des Therapieerfolges mit einem Pharmakon dienen. Damit würden die Biomarker ein großes Benefit für vielen Patientinnen und Patienten darstellen. Die vorliegende Arbeit soll hierzu einen Beitrag leisten.

## 2 Zielsetzung

Fingerpolyarthrosen sind eine weit verbreitete degenerative Gelenkerkrankung, über die es nur wenige wissenschaftliche Untersuchungen gibt. Insbesondere Frauen sind betroffen. Auch existieren nur wenige Studien über Biomarker der Hand- und Fingerpolyarthrosen, wobei deren Konzentrationen nahe der Nachweisgrenze liegen. Die vorliegende Arbeit beschreibt eine klinisch-experimentelle Pilotstudie, die einer besseren Identifizierung und Quantifizierung von Biomarkern der Hand- und Fingerpolyarthrose dienen soll. Hierbei sollte die zugrundeliegende Hypothese geprüft werden, dass die bei OA und RA vorliegenden erhöhten Biomarker-Spiegel in der Gelenkflüssigkeit durch mechanische Stimulation der Fingergelenke vermehrt freigesetzt und somit im Serum messbar gemacht werden können.

Insbesondere sollten folgende Ziele erreicht werden:

1. Es sollte ein optimaler Zeitpunkt zur Blutentnahme nach Belastung der Fingergelenke gefunden werden, um die maximale Konzentration der Biomarker im venösen Blut der Unterarme sicher detektieren zu können.
2. Weiterhin sollten Unterschiede der Biomarker-Spiegel im Serum der einzelnen untersuchten Kohorten erfasst werden.
3. Auch sollte erstmalig nachgewiesen werden, ob Korrelationen zwischen den hier untersuchten Biomarkern und klinischen und/oder radiologischen Scores der Fingerpolyarthrose existieren.

Ein weiteres Ziel dieser Studie war es aufzuzeigen, ob eine analgetische und antiphlogistische Therapie mit Ibuprofen mit den hier eingesetzten klinischen Scores bei Handarthrose-Patientinnen quantifizierbar ist.

Die Ergebnisse unserer Studie sollen die Grundlage für weiterführende klinische Studien bilden, mit deren Hilfe der Einsatz von Serummarkern zur Diagnose, Prognose und Kontrolle des Therapieerfolges untersucht werden kann. Die Identifizierung und Validierung von Serummarkern könnte somit ein großes diagnostisches und therapeutisches Benefit für die vielen Patienten/ -innen mit Arthrosen der Hand- und Fingergelenke bedeuten.

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Material

#### 3.1.1 Verbrauchsmaterialien

Material	Hersteller
Bechergläser 250 ml / 600 ml	Duran Group GmbH, Wertheim
Blutröhrchen (S-Monovette® Serum-Gel), 4,9 ml, #04.1935.001	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht
ELISA Mikrotiterplatten 96 Well, Microton 96k, U-Form	Greiner Bio-one GmbH, Frickenhausen
Gewindeflaschen, 20 ml, Glas, #OVG0428	Fisher Scientific GmbH, Schwerte
Pipettiereinheit 8-Kanal, #BRA 704526	Fisher Scientific GmbH, Schwerte
Messzylinder, 500 ml	Duran Group GmbH, Wertheim
Parafilm M	American National Can Company, Norwalk, USA
Perfusorspritze, Perfuject®, 50 ml, #30402750	Dispomed, Witt oHG, Gelnhausen
Pipettenspitzen: 10 µl, 100 µl, 300 µl, 1000 µl	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht
Reagiergefäße, 0,5 ml, #72.699	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht
Reagiergefäße, 1,5 ml, #0030120086	Eppendorf AG, Hamburg
Serologische Pipetten: 5 ml, 10 ml, 25 ml	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg
Venenverweilkatheter (Vasofix® Braunülen®), G22, G20	B.Braun Melsungen AG, Melsungen

#### 3.1.2 Geräte

Gerät	Hersteller
Autoklav, Typ 3850 EL	Tuttnauer Europe B.V., Breda, Niederlande
Achtkanal-Pipetten: 100 µl, 300 µl	Eppendorf AG, Hamburg
Einkanal-Pipetten: 10 µl, 100 µl, 300 µl, 1000 µl	Eppendorf AG, Hamburg
ELISA-Reader, Multiscan Plus MK11	Titertek Instruments, Huntsville, USA
Gefrierschrank (-20°C)	Bosch GmbH, Gerlingen-Schillerhöhe

Gefrierschrank (-86°C)	Thermo Electron GmbH, Langenselbhold
Kühlschrank (+4°C)	Bosch GmbH, Gerlingen-Schillerhöhe
Magnetrührer, Modell MR 3002, 800 W	Heidolph Instruments, Huntsville, USA
Mikro-Zentrifuge, Modell 5415 D	Eppendorf AG, Hamburg
Pipettierhilfe Pipetboy acu	IBS, Integra, Fernwald
Thermoshaker, Modell LD-45	Kisker Biotech GmbH & Co. KG, Steinfurt
Trockenschrank, Typ 700	Memmert GmbH & Co. KG, Schwabach
Vortex-Mixer, Vortex-Genie 2 T	Scientific Industries Inc., Bohemia, USA

### 3.1.3 Chemikalien

Chemikalie/ ELISA-Kit	Hersteller
Aqua dest., Ecotrainer 1l	B. Braun Melsungen AG, Melsungen
C1,2C ELISA-Kit, #60-1002-001 (COL2-3/4-Short)	IBEX Pharmaceuticals Inc., Montréal, Québec, Kanada
COMP ELISA-Kit, #COMP 200 (Cartilage Oligomeric Matrix Protein)	Wieslab®, Euro-Diagnostika, Malmö, Schweden
CP II ELISA-Kit, #60-1003-001 (C-terminales Propeptid von Typ II Prokollagen)	IBEX Pharmaceuticals Inc., Montréal, Québec, Kanada
CS 846 ELISA-Kit, #60-1004 (Aggrecan-Chondroitin-Sulfat-846- Epitop)	IBEX Pharmaceuticals Inc., Montréal, Québec, Kanada
Heterophilic Blocking Tubes (HBT®), #3IX762	Scantibodies Laboratory Inc., Villebon/ Yvette, Frankreich
IL-15 ELISA-Kit, #D1500 (Interleukin-15)	R&D Systems, Minneapolis, USA
NGAL ELISA-Kit, #KIT036 (Neutrophil-Gelatinase-Associated Lipocalin)	Bio Porto Diagnostics, Gentofte, Dänemark
PIIANP ELISA-Kit, #EZPIIANP-53K (N-terminales Propeptid von Typ II Prokollagen)	Millipore™, Billerica, USA
sVCAM-1 ELISA-Kit, #DVC00 (Soluble-Vascular-Cell-Adhesion- Molecule-1)	R&D Systems, Minneapolis, USA
YKL-40 ELISA-Kit, #8020 (Cartilage Glycoprotein 39)	MicroVue®, San Diego, USA

### 3.1.4 Software

GraphPadPrism® 4 und 5

Excel® 2003, 2013

Word® 2003, 2013

R® 2.12.0

## 3.2 Methoden

### 3.2.1 Charakterisierung des Studienkollektivs

In die vorliegende Pilotstudie zur Fingerpolyarthrose wurden insgesamt 53 Patientinnen bzw. Probandinnen eingeschlossen. Die Teilnehmerinnen wurden ohne Randomisierung in der Reihenfolge ihres Erscheinens in der rheumatologischen Schwerpunktpraxis von dem Prüfarzt Dr. med. Ulrich Käßer untersucht, anschließend nach Prüfung aller Ein- und Ausschlusskriterien für die Pilotstudie in die passende Kohorte eingeschlossen. Es wurden insgesamt drei Kohorten gebildet.

A) Die erste Kohorte: Die erste Kohorte bestand aus 24 Patientinnen mit einer Fingerpolyarthrose (OA-Gruppe), die Diagnosestellung erfolgte gemäß der American College of Rheumatology (ACR)-Kriterien für Fingerpolyarthrosen (siehe unten, Altman et al., 1990). Davon litten klinisch jeweils 12 Patientinnen an einer mehr Heberdenbetonten Fingerpolyarthrose und 12 Patientinnen an einer vorwiegend Bouchardbetonten Fingerpolyarthrose. Die Diagnose der Handarthrose erfolgte durch eine ausführliche klinische Untersuchung der einzelnen Fingergelenke (DIP, PIP, IP1, MCP und CMC1) mit Untersuchungsschwerpunkt auf Schwellung, Druckschmerzhaftigkeit, Steifigkeit, Knotenbildung und Deformität. Des Weiteren trug ein digitales Röntgenbild der Indexhand in 2 Ebenen (Kellgren-Lawrence-Score von mindestens 1 - 4 Punkten) zur Diagnosestellung bei. Für diese Studie wurden Röntgenbilder der Patientinnen verwendet, die schon bei unserem Prüfarzt in den Patientendateien vorhanden und nicht älter als 6 Monate seit Studienbeginn waren.

Zusätzlich mussten folgende ACR-Kriterien für Handarthrose (Altman et al., 1990) ebenfalls zur Diagnosestellung erfüllt sein: Hand/Finger-Schmerz und Hand-/Fingergelenk-Steifigkeit an  $\geq 15$  Tagen im vergangenen Monat plus 3 von 4 der folgenden Punkte:



- 1) Harte Knoten an mindestens  $\geq 2$  DIP-Gelenken oder
- 2) Mindestens  $\geq 2$  harte DIP-Knoten oder PIP-Knoten an den 10 o. g. Gelenken
- 3) Verformung an mindestens einem Fingergelenk
- 4) MCP Schwellung an  $\leq 2$  Gelenken

Weitere Einschlusskriterien für diese Gruppe waren ein Alter zwischen 50 und 75 Jahren, wobei die Patientinnen sich zu Studienbeginn in der Postmenopause befinden sollten.

B) Die zweite Kohorte: Die zweite Kohorte fungierte als Kontrollgruppe, bestehend aus insgesamt 24 gesunden Probandinnen. Davon waren 12 Probandinnen prämenopausal (Prä-Gruppe), gesund und zwischen 20 und 30 Jahre alt. Die restlichen 12 Probandinnen waren postmenopausal (Post-Gruppe) und zum Zeitpunkt der Studie zwischen 50 und 75 Jahre alt. Die als Kontrollgruppe dienenden gesunden Probandinnen gaben an, dass sie sich während der gesamten Studienzeit subjektiv gesund fühlten. Sie wiesen klinisch keinerlei Symptome einer Arthrose oder andere, durch eine normale körperliche Untersuchung feststellbare arthritische oder andere den rheumatoiden Formenkreis betreffende Veränderungen am gesamten Körper auf. Auf eine Aufnahme von Röntgenbildern der Hände in dieser Kontrollgruppe wurde aus ethisch-rechtlichen Gründen verzichtet.

C) Die dritte Kohorte: Die dritte Kohorte bestand aus 5 Patientinnen, die sich während des Studienzeitraumes mit einer Erstmanifestation einer rheumatoiden Arthritis (RA) und somit ohne adäquate Therapie bei unserem Prüfarzt in der rheumatologischen Praxis vorstellten (RA-Gruppe). Die Diagnose der RA erfolgte gemäß den Kriterien der ACR-Richtlinien für rheumatoide Arthritis (Arnett et al., 1988):

- 1) Morgensteifigkeit: Mindestdauer eine Stunde, in den Gelenken oder in Gelenknähe
- 2) Arthritis: In mindestens drei oder mehr Gelenkregionen: Weichteilschwellung oder Erguss in mindestens drei Gelenkbereichen
- 3) Arthritis der Hand- und/ oder Fingergelenke (in mindestens einem Gelenk)
- 4) Symmetrische Arthritis: Simultaner Befall der gleichen Gelenkregionen auf beiden Körperhälften
- 5) Rheumaknoten: Subkutane Knoten über Knochenvorsprüngen, an Extensorflächen oder in Gelenknähe

- 6) Rheumafaktoren: Nachweis von ungewöhnlich hohen Mengen im Serum mit jedem Verfahren, dass bei Normalpersonen in <5% der Fälle positive Ergebnisse liefert
- 7) Typische radiologische Veränderungen der Hände: Erosionen und/ oder gelenknahe Osteoporose in den klinisch betroffenen Gelenken (osteoarthritische Veränderungen waren alleine nicht ausreichend)

Patienten mit einer bekannten RA und längeren Krankheitsverläufen wurden aus der Studie ausgeschlossen. Die dritte Kohorte sollte zu Beginn der Studie auch 12 Patientinnen umfassen und als positive Kontrollgruppe dienen, da bei diesen Patienten ein Anstieg der Biomarker-Level aufgrund der definitiven Gelenkzerstörung zu erwarten war. Unsere Ein- und Ausschlusskriterien waren allerdings streng, wobei wir nur Patientinnen mit einer Erstmanifestation in die Studie einschließen konnten, so dass bis zum Studienende nur 5 Patientinnen rekrutiert werden konnten. Da diese Gruppe zu klein war, um statistisch verwertbare Daten zu erhalten, dienten die Messwerte dieser Gruppe bei allen weiteren Auswertungen nur zur Orientierung.

### **3.2.2 Generelle Ein- und Ausschlusskriterien der Studie**

Die Pilotstudie zur Fingerpolyarthrose wurde mit Genehmigung der zuständigen Ethikkommission (Az.145/08) durchgeführt. Alle Studienteilnehmerinnen waren während des gesamten Studienverlaufs geistig voll entscheidungs- und zustimmungsfähig. Zu Beginn der Studie lagen nach Aufklärung alle schriftlichen Einverständniserklärungen zur Studienteilnahme unterschrieben vor.

Ein generelles Teilnahme Kriterium für die Studie war ein Body-Maß-Index (BMI) zwischen 20 und 30 kg/m<sup>2</sup>. Dieses Kriterium wurde im Laufe der Studie leicht verändert, da vor allem im Bereich der prämenopausalen Probandinnen des Öfteren ein BMI kleiner 20 kg/m<sup>2</sup> festgestellt wurde und die Probandinnen kein Untergewicht aufwiesen. Somit waren im Verlauf der Studie BMI-Werte von 18 – 30 kg/m<sup>2</sup> erlaubt.

Als generelle Ausschlusskriterien galten: Männer, andere entzündliche rheumatische Erkrankungen, wie zum Beispiel eine reaktive Arthritis, Kollagenosen etc., andere deformierenden Zustände und Erkrankungen der Hände (z. B. Frakturen, Dupuytren-Kontraktur), Verbrennungen, Traumata, Bänderzerrungen, Luxationstraumen, Gelenkinfektionen, Tendinitiden, Epikondylopathien, neurologische Erkrankungen (z. B. Karpaltunnelsyndrom, M. Sudeck, Paresen), schwere Leber- ( Cholestase, GPT oder GOT > 100 U/l) oder Nierenerkrankungen (Kreatinin > 2 mg/dl), Fibromyalgie oder

somatoforme Schmerzstörungen, Endokrinopathien (M. Wilson, Diabetes mellitus, Akromegalie, Hyperparathyreoidismus, Hämochromatose, Gicht, etc., ), M. Paget, manifeste Osteoporose, Frakturen oder Operationen innerhalb der letzten 24 Monate vor Studienteilnahme, Immunschwächen, Tumorerkrankungen, psychische Erkrankungen, Alkoholmissbrauch, Arzneimittelmisbrauch, Rauchen, sowie Epilepsien.

Ein- und Ausschlusskriterien galten auch für die einzelnen Beobachtungseinheiten. Die Patientinnen der OA-Kohorte durften parallel zu ihrer Fingerpolyarthrose keine rheumatoide Arthritis oder eine Psoriasis-Arthritis aufweisen und die Patientinnen der RA-Kohorte durften keine Psoriasis-Arthritis oder harte arthritische Knoten in mehr als 2 Gelenken aufweisen. Zudem mussten die gesunden Probandinnen absolut frei von jeglicher Art von Gelenksymptomen sein (siehe oben).

Während der gesamten Studienteilnahme waren den Patientinnen und auch den Probandinnen eine Rescue-Medikation bestehend aus 1-3 x 500 mg Paracetamol pro Tag erlaubt. Ansonsten waren alle anderen nichtsteroidale Antirheumatika (NSARs) bis 3 Monate vor Studienteilnahme verboten.

Des Weiteren war die Einnahme folgender Medikamente ab drei Monate vor Studienteilnahme ein Ausschlusskriterium: Bisphosphonate (bis 6 Monaten vor Studienteilnahme), orale Kortikosteroide (intraartikulär war die Applikation bis 4 Wochen vor Studienteilnahme erlaubt), Hyaluronat (keine Applikation ab 6 Monate vor Teilnahme), sogenannte Chondroprotektiva (Chondroitine, Glukosamine), Antikoagulantien, Vitamin D, Vitamin E und Kalzium.

Eine Ausnahme bildete die Einnahme von Ibuprofen, da dies ein Teil der eigentlichen Studie war: Die OA-Patienten erhielten an Tag 1 (T1, siehe unten) nach der Blutentnahme bis zu Tag 2 (T2, siehe unten) 3 x 800 mg Ibuprofen, um dessen Wirkung an T2 anhand der speziellen Fragebögen für die Evaluation von Schmerzen und Alltagsbehinderungen zu erfassen (zum Studiendesign siehe Abbildung 7).

### **3.2.3 Probensammlung und Asservierung**

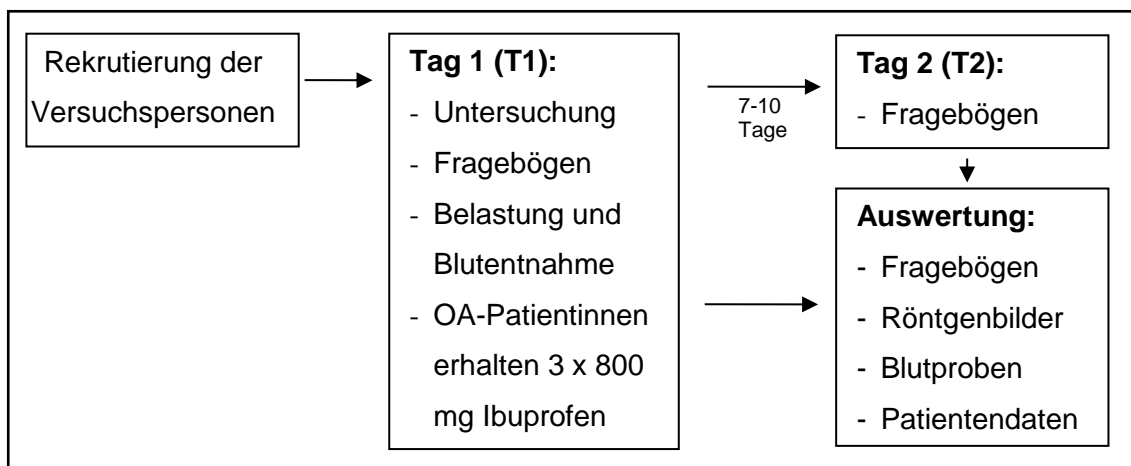
Nach der oben beschriebenen Rekrutierung und Kohortenzuteilung kamen die Studienteilnehmerinnen am ersten Studientag (T1) morgens nüchtern in die Schwerpunktpraxis für Rheumatologie im Balseischen Stift in Gießen zu unserem Prüfarzt Dr. med. U. Käßer. Die Studienteilnehmerinnen füllten die Fragebögen (Australian/Canadian Hand Osteoarthritis Index (AUSCAN™), den Health Assessment Questionnaire (HAQ), die visuelle Analogskala für Schmerz (VAS-Schmerz), die visuelle

Analogskala für Steifigkeit (VAS-Steifigkeit) und die visuelle Analogskala für Ästhetik (VAS-Ästhetik) aus.

Anschließend wurde die jeweilige Indexhand der Versuchspersonen festgelegt: Bei den Arthrose-Patientinnen wurde die Indexhand als symptomführende Hand definiert und bei den Probandinnen wurde zufällig eine Hand als Indexhand festgelegt. Danach wurde den Patientinnen bzw. Probandinnen ein Venenverweilkatheter in eine Vene in den Unterarm, zwischen der Indexhand und dem dazugehörigen Ellenbogen (bevorzugt distale und gut zu punktierende Venen) gelegt, der es im folgenden Beobachtungszeitraum ermöglichte, ohne erneute Punktion und zum richtigen Zeitpunkt Blut abnehmen zu können.

Die Abnahme der ersten Blutprobe [Leerwert, Wert vor Belastung (1)] erfolgte sofort nach erfolgreicher Punktion mit dem Venenverweilkatheter. Anschließend wurden die Frauen aufgefordert, eine auf 30 mmHg aufgepumpte Blutdruckmanschette für 30 Sekunden 20-mal kräftig zusammenzudrücken. Daraufhin wurde direkt nach Belastung (2) und nach 2 (3), 5 (4), 10 (5), 15 (6), 30 (7), 45 (8) und 60 (9) Minuten jeweils 5 ml Blut aus der Venenverweilkanüle mittels einem Serum-Gel-Röhrchen (S-Monovette®; 4,9 ml) entnommen.

30 Minuten nach der letzten Blutentnahme wurden die Proben im Labor des Krankenhauses Baleserische Stiftung bei 2000 x g über 10 Minuten bei Zimmertemperatur zentrifugiert. Das Serum wurde zu je 250 µl pro Eppendorfgefäß für alle 9 Zeitpunkte aliquotiert und beschriftet. Somit gab es theoretisch von jeder Patientin/Probandin jeweils 9 mal 9 Proben, also pro Zeitpunkt 9 Aliquots. Die Proben wurden bei -20°C eingefroren und am nächsten Tag nach dem Transport der Proben in unser Labor für Experimentelle Orthopädie der Universität Gießen im Gefrierschrank bei -86°C bis zur weiteren Analyse aufbewahrt (zum Studiendesign siehe Abbildung 7).



**Abbildung 7:** Das Studiendesign

### **3.2.4 Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISAs)**

Die Biomarker COMP, C1,2C, CPII, sVCAM-1, IL-15, NGAL, PIIANP, CS846 und YKL-40 wurden im Serum mit Hilfe von verschiedenen kommerziell erhältlichen Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISAs, siehe Kapitel 3.1.3) quantifiziert. Die jeweiligen ELISA-Kits für die Biomarker-Analysen wurden gemäß den Angaben der Hersteller durchgeführt. Bei den ELISA-Kits für C1,2C, COMP und CS 846 wurde eine Modifikation der Standardkurve basierend auf der Empfehlung von TecoMedical® eingesetzt: Hierbei wurde die Verdünnungsreihe der Standards durch ein vereinfachtes Pipettierschema optimiert. Die zu untersuchenden Proben wurden in einfacher Ausführung gemessen. Die Absorption wurde mit einem ELISA-Photometer mit dem jeweils benötigten Filter für 405 nm, 450 nm oder 540 nm gemessen.

#### **3.2.4.1 Reaktionsprinzip: Sandwich-ELISA**

ELISAs, die nach dem quantitativen Sandwich-Prinzip durchgeführt wurden, sind die für IL-15, sVCAM-1 und NGAL. Hierbei wurde die zu untersuchende Probe auf eine mit einem monoklonalen Antikörper beschichtete ELISA-Platte aufgetragen. Im nächsten Schritt wurde ein zweiter monoklonaler Antikörper, spezifisch für den gesuchten Biomarker, gekoppelt mit einem Enzym (Horseradish Peroxidase, HRP) hinzugefügt. Dabei wird der gesuchte Biomarker wie in einem Sandwich von zwei Antikörpern festgehalten. Durch Zugabe eines Substrates (Tetramethylbenzidin, TMB), welches durch die Peroxidase enzymatisch gespalten wird, kann dann eine Farbreaktion von gelb zu blau beobachtet werden. Die Farbintensität verläuft proportional zu der in der Probe enthaltenen Biomarkermenge. Nach Beendigung der Farbreaktion mittels einer Stopplösung (Schwefelsäure, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) kann mit Hilfe eines Photometers die Extinktion gemessen und anhand der Standardkurve die Konzentration des Biomarkers berechnet werden.

**3.2.4.2 Übersicht über die ELISA-Protokolle für IL-15, sVCAM-1 und NGAL**

Versuchsablauf	IL-15	sVCAM-1	NGAL
Probenvolumen (Verdünnung)	50 µl	100 µl (1: 20)	100 µl (1:500)
Inkubationszeit (RT)	Probe 3 h	Probe + 100 µl Konjugat 1,5 h	Probe 1 h
Waschgänge	4	4	3
Inkubationszeit (RT)	200 µl Konjugat 1 h	100 µl TMB: 20 min (dunkel)	100 µl Antikörper 1 h
Waschgänge	4	-	3
Inkubationszeit (RT)	200 µl TMB 30 min (dunkel)	-	100 µl Konjugat 1 h
Waschgänge	-	-	3
Inkubationszeit (RT)	-	-	100 µl TMB 10 min (dunkel)
Stopp-Lösung	50 µl (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	50 µl (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	100 µl (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )
Wellenlänge (λ) (λ-Korrektur)	450 nm (540 nm)	450 nm (540 nm)	450 nm

**Tabelle 2:** Übersicht über die ELISA-Protokolle für IL-15, sVCAM-1 und NGAL (TMB = Tetramethylbenzidin, RT= Raumtemperatur, h = Stunde).

**3.2.4.3 Reaktionsprinzip: Kompetitiver ELISA**

Die Biomarker PIIANP, CPII, C1,2C, COMP, YKL-40 und CS 846 wurden mittels ELISAs, die nach dem kompetitiven Reaktionsprinzip ablaufen ermittelt. Dabei wurde auf die mit Antikörper beschichtete ELISA-Platte die zu analysierende Probe und ein dem gesuchten Biomarker strukturell sehr ähnliches Antigen, an das ein Enzym gekoppelt ist, hinzugefügt. Der Biomarker in der Probe konkurriert nun mit dem strukturverwandten Antigen um eine Bindungsstelle am Antikörper. Durch anschließende Zugabe des Substrates TMB oder Para-Nitrophenylphosphat (pNPP), welche enzymatisch gespalten werden, wird die Farbreaktion als Maß der Bindung des synthetischen Antigens sichtbar. Je höher die gesuchte Biomarker-Konzentration ist, umso weniger synthetisches Antigen wird gebunden und umso geringer fällt die Farbintensität aus. Die Farbintensität ist somit umgekehrt proportional zur Konzentration des gesuchten Biomarkers. Die Extinktion wird nach Zugabe einer Stopplösung (Ausnahme COMP) mittels Photometer gemessen. Anhand der jeweiligen Standardkurve kann nun die Konzentration des Biomarkers in der Probe errechnet werden.

### 3.2.4.4 Übersicht über die ELISA-Protokolle für PIIANP, CPII, C1,2C, COMP, YKL-40 und CS 846

Versuchs-ablauf	PIIANP	CPII	C1,2C	COMP	YKL-40	CS846
Probenvolumen (Verdünnung)	10 µl (1:2)	60 µl (1:2)	50 µl (1:2)	75 µl (1:50)	20 µl	50 µl (1:5)
Inkubationszeit (Vorinkubations-platte)	-	Probe + 60 µl Ak 1 h bei RT	Probe + 50 µl Ak 30 min bei RT	Probe + 75 µl Ak 12-18 h bei 4°C	-	-
Inkubationszeit (ELISA-Platte, RT)	Probe + 25 µl Capture-Lösung + 50 µl Ak 2 h	80 µl 120 min	80 µl 60 min	100 µl 60 min	Probe + 100 µl Capture-Lösung 60 min	Probe + 50 µl Capture-Lösung + 50 µl Ak 2 h
Waschgänge	3	6	6	3	4	6
Inkubationszeit (RT)	100 µl Konjugat 30 min	100 µl Konjugat 30 min	100 µl Konjugat 30 min	100 µl Konjugat 60 min	100 µl Konjugat 60 min	100 µl Konjugat 60 min
Waschgänge	3	6	6	3	4	6
Inkubationszeit (RT)	100 µl TMB 30 min (dunkel)	100 µl TMB 30 min (dunkel)	100 µl TMB 30 min (dunkel)	100 µl pNPP 60 min (dunkel)	100 µl TMB 60 min (dunkel)	100 µl TMB 30 min (dunkel)
Stopp-Lösung	100 µl (HCl)	100 µl (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	100 µl (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Keine	100 µl (NaOH)	100 µl (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )
Wellenlänge	450 nm	450 nm	450 nm	405 nm	405 nm	450nm

**Tabelle 3:** Übersicht über die ELISA-Protokolle für PIIANP, CPII, C1,2C, COMP, YKL-40 und CS 846. (Abkürzungen: RT = Raumtemperatur, Ak = Antikörper, TMB = Tetramethylbenzidin, pNPP = Para-Nitrophenylphosphat h= Stunde).

### 3.2.5 Lagerungsversuch

Da viele der Blutproben über einen längeren Zeitraum von bis zu einem Jahr bei -86°C gelagert wurden, sollte mit Hilfe des Lagerungsversuches ausgeschlossen werden, dass die Lagerungsdauer einen Einfluss auf die Konzentration der Biomarker im Serum hat. Dafür wurde die Konzentration in Blutproben von acht zufällig ausgewählten Probandinnen/ Patientinnen zu vier unterschiedlichen Lagerungszeitpunkten (0 Monate = T0, 3 Monate = T1, 7,5- 8 Monate = T2 und 11 Monate = T3) gemessen und miteinander verglichen.

### 3.2.6 Blockierung eventuell vorhandener heterophiler Antikörper

In der Literatur findet man immer häufiger Berichte über falsch-positive oder falsch-negative Ergebnisse in Immunoassays. Diese falschen Ergebnisse werden zum Teil durch heterophile Antikörper z.B. Rheumafaktoren verursacht. Um diese Interferenzen, die insbesondere bei der Anwendung der Sandwich-ELISA-Technik auftreten können,

auszuschließen, wurde in einem separaten Versuch geprüft, ob die Ergebnisse von heterophilen Antikörpern beeinflusst wurden. Dazu wählten wir die folgenden 12 Proben aus: Alle Proben der fünf RA-Patientinnen, da im Serum von rheumatoiden Arthritis-Patienten vermehrt Rheuma-Faktoren auftraten und sieben weitere zufällig ausgewählte Proben.

Es wurden jeweils 500 µl der zu untersuchenden Proben vor Durchführung der jeweiligen ELISAs in den Heterophilic Blocking Tubes (HBT®) eine Stunde bei RT inkubiert. Bei den Heterophilic Blocking Tubes (HBT®) handelt es sich um ein Reaktionsgefäß, das ein Blocking-Reagenz mit spezifischen Bindungspartnern zur Inaktivierung der heterophilen Antikörper enthält. Die genaue Zusammensetzung des Blocking-Reagenz ist nur der Herstellerfirma bekannt. Anschließend wurden die ELISAs gemäß Herstellerangaben mit den so behandelten Proben durchgeführt.

### **3.2.7 Auswirkungen von wiederholtem Auftauen und Einfrieren**

Von jedem Patienten sollten theoretisch 9 x 9 Serumaliquots verfügbar sein. Da allerdings aus technischen Faktoren das zu erhaltende Blutvolumen bei einigen Patientinnen zu gering ausfiel, mussten manche Proben zweimal aufgetaut, benutzt und wieder eingefroren werden. Um etwaige Auswirkungen von wiederholtem Auftauen und Einfrieren auf die Proben zu detektieren, wurden acht Serumaliquots von 8 Patientinnen zweifach aufgetaut, die Biomarker mittels ELISA analysiert und wieder eingefroren. Um einen möglichen Konzentrationsunterschied aufzeigen zu können, wurden die Daten statistisch analysiert.

### **3.2.8 Auswertung der Röntgenbilder**

Das Röntgenbild der Indexhand der jeweiligen Handarthrosepatientin wurde anhand zweier häufig in der Literatur verwendeter Bewertungssysteme ausgewertet: Zum einen nach Kellgren und Lawrence (Kellgren und Lawrence, 1957), modifiziert nach Dahaghin (Dahaghin et al., 2005) und zum anderen nach Kallman (Kallman et al., 1989).

Die Röntgenbilder der RA-Patienten wurden mithilfe des Larsen-Scores (Larsen et al., 1977) und der Sharp-Methode (Sharp et al., 1971) modifiziert nach van der Heijde (Van der Heijde, 1996) evaluiert. Beide Methoden beziehen für den Gesamtscore auch die Punktzahlen aus den Fußgelenken mit ein. Da das Röntgen der Füße aus ethisch-rechtlichen Gründen nicht vertretbar war und diese Studie speziell auf die Fingerpolyarthrose ausgerichtet war, beschränkten wir uns hier auf die Evaluation der Röntgenbilder der jeweiligen Indexhand der Patientinnen. Die Bilder wurden in insgesamt 2 Sitzungen von Professor Dr. med. Georg Bachmann und mir der Reihe nach anhand der oben genannten Scores evaluiert.



### 3.2.8.1 *Der Kellgren und Lawrence Score*

Es wurden folgende radiologische Stadieneinteilung der Arthrose bei der Evaluierung gemäß Kellgren und Lawrence (Kellgren J. und Lawrence J., 1957) modifiziert nach Dahaghin S. (Dahaghin et al., 2005) berücksichtigt (KL-Score):

Stadium 0 (Keine Arthrose): Kein Anhalt für Arthrose

Stadium 1 (Zweifelhafte Arthrose): Winzige Osteophyten, zweifelhafte Signifikanz

Stadium 2 (Minimale Arthrose): Deutliche Osteophyten, keine Gelenkspaltverschmälerung

Stadium 3 (Mäßige Arthrose): Deutliche Osteophyten, verminderter Gelenkspalt

Stadium 4 (Schwere Arthrose): Deutliche Osteophyten, Gelenkspalt vermindert, sowie sklerotische Areale im Bereich des subchondralen Knochens.

Gemäß Dahaghin (Dahaghin et al., 2005) wurden alle DIP-, PIP-, MCP-Gelenke, das IP1-Gelenk und das CMC1-Gelenk der Indexhand der Patientinnen evaluiert. Insgesamt waren es 15 Gelenke und die maximal erreichbare Punktzahl pro Gelenk war vier, pro Gelenkgruppe vier und pro Hand ebenfalls vier. Ein Gelenk galt als radiologisch nachweisbar positiv für Arthrose, wenn der Kellgren/ Lawrence-Score für das jeweilige Gelenk größer gleich zwei Punkte war. Die komplette Hand galt als arthrotisch gemäß Kellgren und Lawrence (1957), wenn zwei von drei Gelenkgruppen (DIPs, PIPs, MCPs) jeweils einen Score von  $\geq 2$  aufwiesen. In der Summe konnten maximal 60 Punkte pro Hand (15 Gelenke a maximal 4 Punkte) erreicht werden.

### 3.2.8.2 *Evaluation nach Kallman et al. (1989)*

Bei der Auswertung nach Kallman (Kallman et al., 1989) wurden sechs röntgenologisch erfassbare Arthrose-Kriterien berücksichtigt und jeweils mit einem Scorewert versehen:

1. Osteophyten: 0 = keine, 1 = kleine, 2 =mäßige und 3 = große
2. Gelenkspaltverschmälerung (gemessen anhand des Abstandes zwischen den Knochenendplatten): 0 = keine, 1 = etwas, 2 = erhebliche, 3 = Gelenkfusion an mindestens einer Stelle
3. subchondrale Sklerose: 0 = keine, 1 = vorhanden
4. subchondrale Zysten: 0 = keine, 1 = vorhanden
5. Zerstörung des zentralen Gelenks/ der Kortikalis des Knochens:  
0 = nicht vorhanden, 1 = vorhanden
6. seitliche Verformung (definiert als eine Achsabweichung von mindestens 15 Grad): 0 = nicht vorhanden, 1= vorhanden.

Es wurden insgesamt 11 Finger- und Handgelenke (DIP Gelenke, PIP Gelenke, IP1, Carcometacarpalgelenk 1 = CMC1 und Trapezioscaphoidgelenk = TS) bewertet. CMC1 und TS wurden nicht bei der Gelenkzerstörung berücksichtigt. Des Weiteren wurden die Osteophyten und die seitliche Verformung für das TS-Gelenk ebenfalls nicht gewertet, da diese Veränderungen hier nicht klassisch für die Arthrose sind. Maximal sind somit 104 Score-Punkte pro Hand möglich (9 Gelenke a 10 Punkte, CMC1-Gelenk a 9 Punkte und das TS-Gelenk a 5 Punkte).

### **3.2.8.3 Evaluation nach Larsen et al. (1977)**

Bei der Methode nach Larsen (Larsen et al., 1977 modifiziert nach Rau et al., 2003) wurde der radiologische Verlauf der rheumatoiden Arthritis in sechs Schweregrade (0-5 Punkte) eingeteilt. Es wurden insgesamt 32 Gelenke (PIP Gelenke II-V, IP I, MCP Gelenke I-V, MTP Gelenke I-V und das Handgelenk (vier Einzelbereiche)) beurteilt. Eine Maximalpunktzahl von insgesamt 160 Punkten (55 Punkte pro Hand und 25 Punkte pro Fuß) konnte erzielt werden. Diese Methode zielte auf einen globalen Gesamtscore pro Gelenk ab. Da in unserer Studie nur das jeweilige Röntgenbild der Indexhand zur Verfügung stand, waren hier nur 55 Punkte möglich (Rau et al., 2003):

Grad 0 Normalzustand

Grad 1 (geringe Veränderungen): Weichteilschwellung, gelenknahe Osteoporose oder geringe Gelenkspaltverschmälerung

Grad 2 (definitive Veränderungen): Eine oder mehrere kleine Erosionen

Grad 3 (deutliche Veränderungen): Ausgeprägte Erosionen sind vorhanden

Grad 4 (schwere Veränderungen): Große Erosionen vorhanden, nur Teile der ursprünglichen Gelenkfläche noch erhalten

Grad 5 (mutilierende Veränderungen): die ursprüngliche Gelenkfläche ist verschwunden, schwere Deformität möglich

### **3.2.8.4 Die Sharp-Methode modifiziert nach van der Heijde (1989 und 1996)**

Bei dieser Methode (van der Heijde, 1989 und 1996) wurden die Erosionen getrennt von den Gelenkspaltverschmälerungen beurteilt. Bezüglich vorhandener Erosionen wurden 32 Gelenke beider Hände, wobei normalerweise auch die 12 Gelenke beider Füße bewertet werden: PIP II-V, IP I (Daumen), MCP I-V, Basis des Metacarpale I, Multangulum, Skaphoid, Lunatum, distaler Radius, Ulna, MTP I-V, IP I (Großzehe), jeweils von beiden Seiten, rechts und links, wobei die Fußgelenk doppelt gewichtet wurden.

- Grad 0: Keine
- Grad 1: Eine kleine Erosion
- Grad 2: Eine längere Erosion, oder 2 kleinere Erosionen
- Grad 3: Eine die Mittellinie überscheidende Erosion, oder 3 kleine Erosionen
- Grad 4: 4 kleinere Erosionen oder 2 längere Erosionen oder eine die Mittellinie überscheidende Erosion und eine kleine Erosion
- Grad 5: Summe der Erosionen 5 oder mehr

Davon getrennt wurde die Gelenkspaltverschmälerung bei insgesamt 42 Gelenken auch jeweils links und rechts evaluiert: PIP II-V, MCP I-V, Carpometacarpale III-V, Trapezioskaphoidalgelenk, Gelenk zwischen Skaphoid/Lunatum und Capitatum, Radiocarpalgelenk, MTP- Gelenke I-V, IP I (Großzehe):

- Grad 0: Gelenkspalt normalweit, keine Verschmälerung
- Grad 1: Fokale Verschmälerung
- Grad 2: Diffuse Verschmälerung um weniger als 50%
- Grad 3: Diffuse Verschmälerung um mehr als 50%, oder Subluxation
- Grad 4: Ankylose oder Luxation

Die maximal mögliche Gesamtpunktzahl betrug 448 (maximaler Erosionsscore: 280, maximaler Gelenkspaltverschmälerungsscore: 168). Da in unserer Studie nur eine Hand bewertet wurde, ergibt sich somit ein möglicher Gesamtscore von 120 Punkten (maximaler Erosionsscore: 80 und maximaler Gelenkspaltverschmälerungsscore von 60 Punkten).

### **3.2.9 Fragebögen zur Erhebung von Symptomen**

Am ersten Studientag (T1) bekamen die Patientinnen und Probandinnen vor der Untersuchung durch den Prüfarzt Dr. med. U. Käßer folgende Fragebögen zum Ausfüllen vorgelegt: Den Australian/Canadian Hand Osteoarthritis Index (AUSCAN™), den Health Assessment Questionnaire (HAQ), die visuelle Analogskala für Schmerz (VAS-Schmerz), die visuelle Analogskala für Steifigkeit (VAS-Steifigkeit) und die visuelle Analogskala für Ästhetik (VAS-Ästhetik). Die gleichen Fragebögen wurden am zweiten Studientag (T2), zehn Tage nach T1 und nach Einnahme von 3 x 800 mg Ibuprofen, erneut ausgefüllt. Am Ende der Studienteilnahme wurden die jeweiligen Fragebögen ausgewertet, die Punktzahlen bestimmt und tabellarisch festgehalten.

### **3.2.9.1 Australian/ Canadian Hand Osteoarthritis Index™**

Der Australian/Canadian Hand Osteoarthritis Index (AUSCAN™) ist ein validierter, speziell für die Handarthrose entwickelter, von den Patienten selbst auszufüllender Fragebogen, der auf die drei großen Handicaps nämlich Schmerz, Behinderung und Gelenksteifigkeit und deren Einfluss auf den Alltag der Arthrose-Patienten, hier speziell für Handarthrose-Patienten abzielt. Er hilft somit Veränderungen im Gesundheitsstatus der Patienten zu detektieren. Der Fragebogen besteht insgesamt aus 15 Fragen: 5 Fragen in Bezug auf die Beeinträchtigung durch Schmerzen, eine Frage in Bezug auf die Steifigkeit der Hände und 9 Fragen in Bezug auf das Verrichten von Alltagstätigkeiten. Es dauert weniger als 5 Minuten um den Fragebogen auszufüllen. Für die Benutzung des Fragebogens für diese Studie wurde eine Nutzungsgebühr an Professor Nicholas Bellamy gezahlt. (Bellamy et al., 2002a; b; c; 1996; 1997a; b; 1998).

Der AUSCAN™-Index ist der am häufigsten empfohlene Fragebogen zur Evaluation der Handicaps von Handarthrose-Patienten (Maheu et al., 2006). In der vorliegenden Studie wurde der AUSCAN 3.1© in Form einer 100 mm visuellen Analogskala aus dem Jahre 2006 in der deutschsprachigen Version verwendet, das heißt die Versuchspersonen kreuzten auf einer 100 mm langen „Linie“ pro Frage an, wie stark sie beeinträchtigt waren: 0 mm bedeutete keine Beeinträchtigung und 100 mm bedeuteten eine extreme Beeinträchtigung. Anschließend wurden die Skalen ausgemessen und die Werte in Millimetern notiert. Somit ergaben sich 1500 mm (Punkte) als mögliche Gesamtpunktzahl beziehungsweise 500 mm (Schmerz, 5 Einzelfragen), 100 mm (Steifigkeit, eine Frage) und 900 mm (Alltagstätigkeiten, 9 Einzelfragen) als Einzelpunktzahlen der einzelnen Testbestandteile.

### **3.2.9.2 Health Assessment Questionnaire (HAQ)**

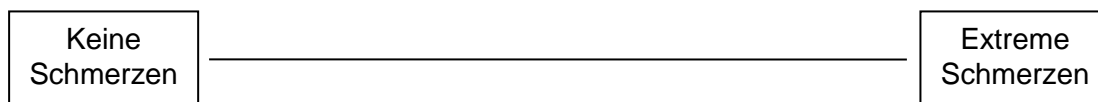
Der Health Assessment Questionnaire (Fries et al., 1980; modifiziert von Pincus et al., 1983) ist ein wichtiges Instrument, um die tägliche Beeinträchtigung von Patienten im normalen Leben durch eine entzündlich-degenerative Gelenkerkrankung objektivieren zu können. Der Fragebogen wurde von den Patienten selbständig ausgefüllt und enthielt Fragen, die auf die Fähigkeit zur Durchführung alltäglicher Tätigkeiten wie zum Beispiel Anziehen, Aufstehen, Essen, Gehen und weitere abzielen. Die Patienten konnten die Fragen wie folgt beantworten:

- ohne Schwierigkeiten durchführbar (0 Punkte)
- mit Schwierigkeiten durchführbar (1 Punkt)
- mit Hilfe von anderen durchführbar (2 Punkte)
- nicht fähig, diese Tätigkeit zu verrichten (3 Punkte).

Am Ende wurde die höchste Punktzahl aus den Fragen zu den jeweiligen Teilabschnitten als Punktzahl für diesen Abschnitt festgesetzt. Zur Ermittlung der Höhe des HAQ-Wertes wurden die Punktzahlen der acht einzelnen Teilbereiche addiert und durch die Anzahl der Teilabschnitte - also acht - dividiert. Somit lagen die möglichen Werte des HAQs zwischen 0 - 3.

### 3.2.9.3 Visuelle-Analog-Skala (Schmerz, Steifigkeit, Ästhetik)

Die visuelle Analogskala (VAS) ist ein Instrument zur Patientenbefragung. In dieser Studie, soll mit ihrer Hilfe die Schmerzen, die Steifigkeit der Fingergelenke und die ästhetische Beeinträchtigung der Patienten objektiviert werden. Die visuelle Analogskala ist eine Strecke von 10 cm zwischen zwei Endpunkten. Zur Erläuterung soll hier die VAS-Schmerz (Abbildung 8) dienen: Die Patienten können auf einer Strecke vom 10 cm mit dem Anfangspunkt = keine Schmerzen und dem Endpunkt, definiert als maximal vorstellbarer Schmerz, eine Markierung setzen. Die Punktzahl der VAS-Schmerz ergibt sich dann durch das Messen des angegebenen Punktes auf der Strecke von – bis in mm. Gleiches gilt für die VAS-Steifigkeit (keine Steifigkeit – maximale Steifigkeit) und die VAS-Ästhetik (subjektiv schöne Finger oder Hand – subjektiv hässliche Finger oder Hand).



**Abbildung 8:** Beispiel für die Bestimmung der VAS-Schmerz.

### 3.2.10 Statistik

Die statistischen Berechnungen wurden mittels Microsoft Excel 2013®, GraphPadPrism5® und R® 2.12.0 durchgeführt. Die Beratung zur statistischen Auswertung erfolgte am Institut für Medizinische Informatik der Justus-Liebig-Universität, Gießen durch Herrn Dr. rer. physiol. H. Bödeker. Folgende statistische Verfahren wurden eingesetzt.

#### 3.2.10.1 Biomarker-Peak-Bestimmung

Um festzustellen, inwiefern ein Biomarker mit einer erhöhten Konzentration (Peak) nach Belastung analysiert wurde, wurden die Leerwerte, also die Werte vor Belastung, mit den Maximalkonzentrationen innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung verglichen. Dazu wurden die Differenzen zwischen den beiden Werten gebildet. Mit Hilfe des Wilcoxon-Rangsummentests für nicht-parametrische Grundgesamtheiten, wurde

der statistische Unterschied der einzelnen Differenzen (entspricht einer Konzentrationsänderung) zum Nullwert (entspricht keiner Konzentrationsänderung) berechnet. So konnte eine Konzentrationserhöhung nach Belastung für die einzelnen Biomarker aufgezeigt werden. Die graphische Darstellung der Daten erfolgte mit Hilfe sogenannter Notched-Boxplots.

Da es sich hier um eine explorative Studie handelt und der Stichprobenumfang somit klein ist, sind die Ergebnisse dieser Studie als ein Hinweis und nicht als Nachweis zu werten. Die Ergebnisse solcher Untersuchungen sollten durch konfirmatorische Studien mit einem größeren Stichprobenumfang bestätigt werden.

#### **3.2.10.2 Biomarker-Anstieg und Vergleich der einzelnen Patientengruppen**

Ein weiteres Ziel dieser Studie war es Unterschiede in der Konzentrationserhöhung der Biomarker-Levels nach Belastung zwischen den einzelnen Patientengruppen (OA-, Prä- und Post-Kohorte) zu finden. Der Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen erfolgte mit Hilfe des H-Tests nach Kruskal und Wallis mit anschließendem Dunn's Post-Hoc-Test, einem Test für nicht-normalverteilte Variablen. Hierbei wurden die jeweiligen Differenzen (siehe 3.2.10.1) der einzelnen Gruppen (Arthrose-Patientinnen versus prämenopausale Probandinnen versus postmenopausale Probandinnen) pro Biomarker miteinander verglichen. Erneut dienten die Notched-Boxplots zur graphischen Darstellung. Ein statistisch signifikanter Anstieg/ Unterschied zwischen den Gruppen wurde im Folgenden definiert als ein p-Wert von  $p \leq 0,05$ .

#### **3.2.10.3 Korrelation der Biomarker mit klinischen und radiologischen Scores**

Zur Korrelation der Biomarker, die einen signifikanten Unterschied zwischen den hier untersuchten Kohorten zeigten, mit den einzelnen klinischen und radiologischen Scores sowie patientenbezogenen Parametern wie AUSCAN©, HAQ, VAS-Schmerz, Kellgren und Lawrence, Kallman, Alter, BMI und CRP, wurde die Rangkorrelation nach Spearman angewendet. Die graphische Darstellung erfolgt mittels Streudiagramm (engl. Scatter-Plots).

#### **3.2.10.4 Lagerungsversuch**

Um die Auswirkung der Lagerungsdauer auf die Biomarker-Konzentration in den Blutproben erfassen zu können, ermittelten wir die Konzentrationen zu den einzelnen Zeitpunkten T0, T1 (ca. 3 Monate), T2 (ca. 7 Monate), T3 (ca. 11 Monate). Als statistisches Verfahren wurde der Wilcoxon-Rangsummentest für gepaarte, nicht-parametrische Stichproben angewendet, um die Differenzen der Konzentration von T0 und T3 zu evaluieren.

**3.2.10.5 Blockierung heterophiler Antikörper**

Um eine Beeinflussung der ELISA-Messergebnisse durch heterophile Antikörper zu detektieren, wurden die Differenzen der Konzentrationen der Proben mit Behandlung durch die Heterophilic-Blocking-Tubes® und die der Proben ohne Behandlung mittels HBT® ermittelt. Zum Vergleich der nun erhaltenen Differenzen mit dem Nullwert, der keiner Änderung der Konzentration durch heterophile Antikörper entspricht, wendeten wir den Wilcoxon-Rangsummentest an.

**3.2.10.6 Auswirkungen von wiederholtem Auftauen und Einfrieren**

Die statistische Auswertung der Daten aus der Versuchsreihe über die Auswirkung von wiederholtem Auftauen und Einfrieren der Blutproben auf die Biomarker-Konzentrationen, erfolgte mit Hilfe des Wilcoxon-Rangsummentests. Hierzu wurden die Differenzen von den Ausgangskonzentrationen mit den Konzentrationen nach mehrmaligem Auftauen und Einfrieren mit dem Nullwert, der keine Konzentrationsänderung darstellt, verglichen.

**3.2.10.7 Wirkung von Ibuprofen**

Inwiefern Ibuprofen innerhalb einer Woche eine mittels AUSCAN®, VAS-Schmerz, VAS-Ästhetik und HAQ messbare Wirkung entfaltete, wurde ebenfalls mittels Wilcoxon-Rangsummentests untersucht. Hierzu wurden die Differenzen der Scorepunkte von Studientag 1 (T1) und von Studientag 2 (T2) herangezogen und mit dem Nullwert, der keine Änderung im Scorewert entspricht, verglichen. Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit Notched-Boxplots. Auch wurde die Anzahl der Non-Responder, d.h. Patienten, die nicht auf die Medikation mit einer mindestens 20%igen Besserung des vorherigen Ausgangswertes ansprachen, bestimmt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Populationsbeschreibung

	Heberden-OA	Bouchard-OA	Prä-Gruppe	Post-Gruppe	RA-Gruppe
<b>Anzahl</b>	12	12	12	12	5
<b>Alter</b>	60,3 ± 5,7	62,8 ± 7,1	23,4 ± 1,2	59,9 ± 7,0	52 ± 11,4
<b>BMI</b>	26,0 ± 3,4	26,5 ± 3,4	21,5 ± 2,0	23,0 ± 3,3	25,7 ± 4,2
<b>CRP</b>	3,5 ± 0,5	5,0 ± 2,2	2,2 ± 2,3	1,0 ± 0,9	22,7 ± 18,3
<b>AUSCAN Gesamt (T1) [0-1500 mm]</b>	632,4 ± 334,7	642,8 ± 388,0	0,0 ± 0,0	5,5 ± 12,9	1143,2 ± 244,2
<b>AUSCAN Morgensteife (T1) [0-100 mm]</b>	37,8 ± 30,2	41,8 ± 28,3	0,0 ± 0,0	2,6 ± 9,0	77,8 ± 24,5
<b>AUSCAN Schmerz (T1) [0-500 mm]</b>	197,9 ± 136,9	189,8 ± 121,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	348,2 ± 117,1
<b>AUSCAN ADL (T1) [0-900 mm]</b>	396,8 ± 210,7	411,3 ± 269,6	0,0 ± 0,0	2,9 ± 10,1	717,2 ± 116,2
<b>VAS Schmerz (T1) [0-100 mm]</b>	39,6 ± 27,4	38,0 ± 24,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	69,6 ± 23,4
<b>VAS Ästhetik (T1) [0-100 mm]</b>	65,0 ± 37,1	56,6 ± 25,7	0,0 ± 0,0	0,4 ± 1,4	61,0 ± 33,5
<b>HAQ (T1) [0-3]</b>	0,7 ± 0,5	0,9 ± 0,718	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,1	1,6 ± 0,5
<b>Morgensteife (T1) [min]</b>	40,1 ± 27,6	92,5 ± 126,3	0,0 ± 0,0	2,5 ± 8,7	180,0 ± 184,9
<b>Kellgren/Lawrence (Gesamtsumme)</b>	23,6 ± 7,4	27,4 ± 10,7	n. b.	n. b.	n. b.
<b>Kallman (Gesamtsumme)</b>	32,8 ± 11,0	36,1 ± 16,3	n. b.	n. b.	n. b.

**Tabelle 4:** Übersicht über das Studienkollektiv. Dargestellt sind die Mittelwerte ± Standardabweichungen der Heberden-OA-Gruppe, Bouchard-OA-Gruppe, prämenopausalen und postmenopausalen Kontrollgruppe und der rheumatoiden Arthritis-(RA-)Gruppe in Bezug auf Alter, BMI, CRP, klinische Scores zum T1 (Studientag 1): AUSCAN: Gesamt, Morgensteife, Schmerz, ADL (activity of daily living), VAS: Schmerz und Ästhetik, HAQ, die Morgensteife in Minuten, und die Röntgenscores als Gesamtsumme der Punktzahlen gemäß Kellgren/Lawrence bzw. Kallman.



Insgesamt konnten 53 Patientinnen und Probandinnen in die Studie eingeschlossen werden. Tabelle 4 stellt eine Übersicht über die rekrutierten und untersuchten Kohorten dar. Relevante Begleiterkrankungen gab es in keiner Kohorte.

Es wurden alle Vorgaben der beschriebenen Ein- und Ausschlusskriterien (siehe Kapitel 3.2.2) gemäß Studienprotokoll eingehalten. Interessant ist hier, dass die Mittelwerte des BMIs in beiden Kontrollgruppen sich im Rahmen des Normalgewichtes bewegten und die Mittelwerte des BMIs der betroffenen Patientinnen sich eher im Bereich des leichten Übergewichtes befanden.

Die RA-Kohorte konnte aufgrund der strengen Einschlusskriterien, vor allem in Bezug auf eine neudiagnostizierte und somit einer noch nicht adäquat behandelten RA nicht mit den geplanten 12 Patientinnen aufgefüllt werden. Insgesamt konnten nur 5 Patientinnen rekrutiert werden. Daher wurden die Ergebnisse, die diese Kohorte betrafen, in den weiteren Auswertungen nur zur Orientierung verwendet oder überhaupt nicht berücksichtigt, da keine statistisch verwertbare Anzahl an Patientinnen vorlag.

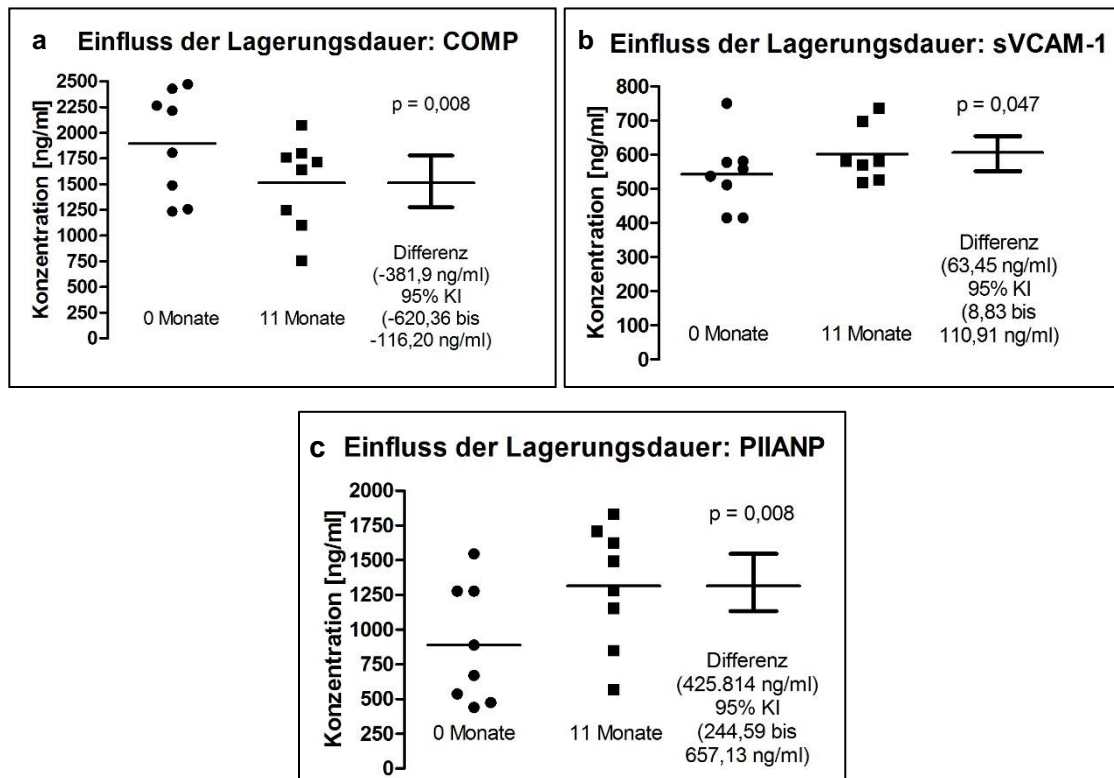
Von den insgesamt 24 Handarthrose-Patientinnen haben nur 3 Patientinnen eine erlaubte Rescue-Medikation (zwischen eine und 6 Tabletten Paracetamol à 500 mg, während des Studienzeitraumes von 10 Tagen) bei stärkeren Schmerzen eingenommen. Weitere Analgetika wurden durch die Patientinnen nicht benutzt.

## 4.2 Zusätzliche Laboruntersuchungen

### 4.2.1 Einfluss der Lagerungsdauer der Serumproben

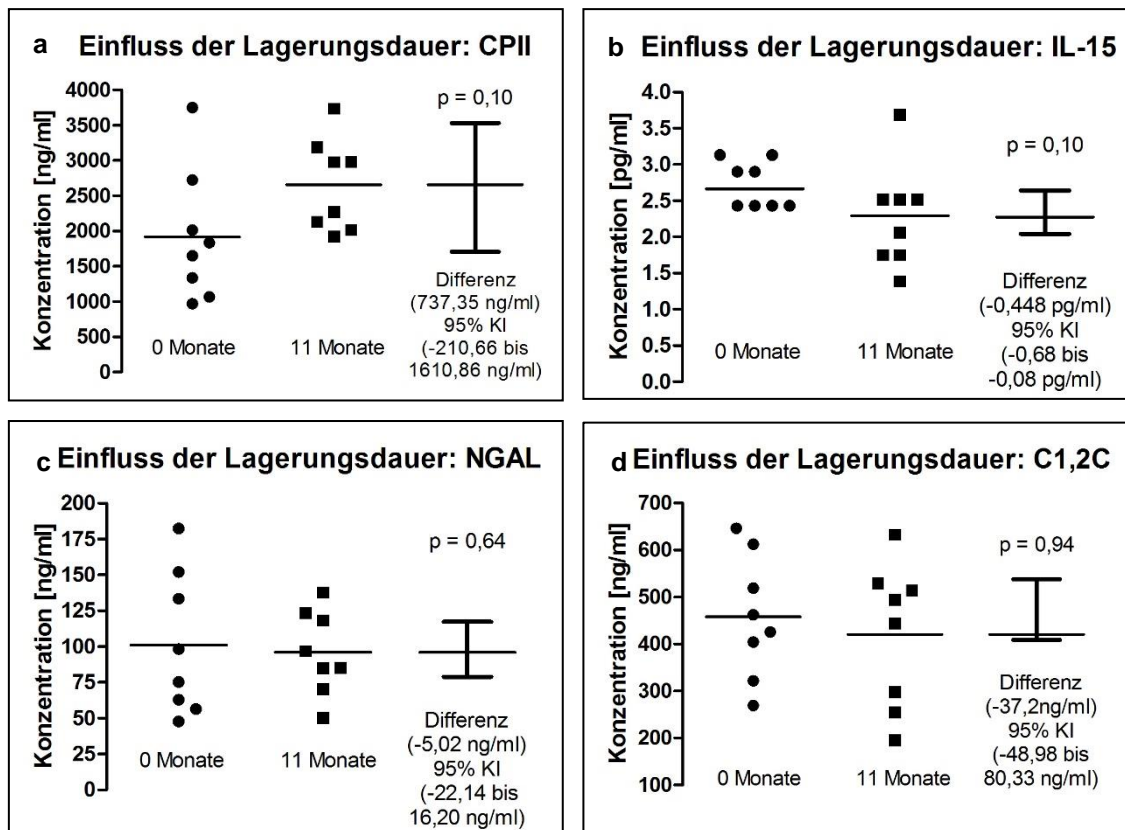
Um den Einfluss der Lagerungsdauer auf die Konzentration unserer Biomarker in den bei -86 °C im Gefrierschrank gelagerten Blutproben zu testen, wurde bei 8 Blutproben stichprobenhaft die Konzentrationsbestimmung nach 3, 7 und 11 Monaten wiederholt, um eine eventuelle Änderung der Konzentration detektieren zu können (Ergebnisse siehe Tabelle 12.1.1 und 12.1.2 des tabellarischen Anhangs).

Es konnten bei den Biomarkern COMP (-20,2%), sVCAM-1 (+11,7%) und PIIANP (+47,9%) eine Änderung der Konzentrationen nach 11 Monaten Lagerungsdauer beobachtet werden (Abbildung 9 a - c).



**Abbildung 9:** Einfluss der Lagerungsdauer für (a) COMP, (b) sVCAM-1 und (c) PIIANP. Dargestellt sind die Konzentrationen der gemessenen Biomarkerkonzentrationen von 0 (T0) zu 11 (T3) Monaten Lagerungsdauer ( $n = 8$ , sVCAM-1:  $n = 7$ ) in ng/ml und der jeweilige Mittelwert der gemessenen Konzentrationen. Daneben ist die jeweilige Differenz der gemessenen Mittelwerte mit dem 95% Konfidenzintervall (KI) in ng/ml dargestellt.

Die Konzentrationen der anderen Biomarker CPII, IL-15, NGAL und C1,2C blieben von der Lagerungsdauer unbeeinträchtigt (Abbildung 10 a - d).



**Abbildung 10:** Einfluss der Lagerungsdauer für (a) CPII, (b) IL-15, (c) NGAL und (d) C1,2C. Dargestellt sind die Konzentrationen der gemessenen Biomarkerkonzentrationen von 0 (T0) zu 11 (T3) Monaten Lagerungsdauer (n = 8) in ng/ml bzw. pg/ml und der jeweilige Mittelwert der gemessenen Konzentrationen. Daneben ist die jeweilige Differenz der gemessenen Mittelwerte mit dem 95% Konfidenzintervall (KI) in ng/ml bzw. pg/ml dargestellt. Bei diesen Markern kam es zu keinen markant ausgeprägten Veränderungen der Konzentrationen: CPII: p = 0,10, IL-15: p = 0,10, NGAL: p = 0,64 und C1,2C: p = 0,94.

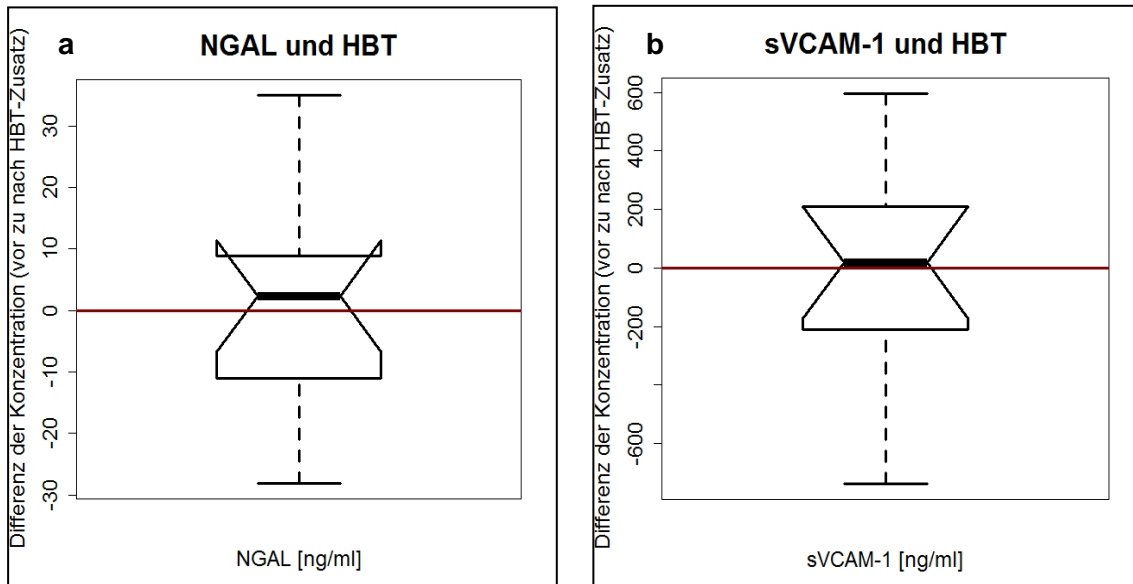
#### 4.2.2 Der Einfluss von heterophilen Antikörpern

Durch die Behandlung der Blutproben mit HBT® sollte festgestellt werden, inwiefern die Ergebnisse der Blutproben durch Interferenzen mit heterophilen Antikörpern verfälscht wurden. Hierzu wurden die Konzentrationen der 12 Blutproben mit den Konzentrationen nach Behandlung mit HBT® verglichen und die jeweiligen Differenzen der zwei Werte ermittelt. (Ergebnisse siehe Tabelle 12.1.3 des tabellarischen Anhangs). Mit den erhaltenen Differenzen wurde der Wilcoxon-Rangsummentest durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde mit  $p \leq 0,05$  definiert.

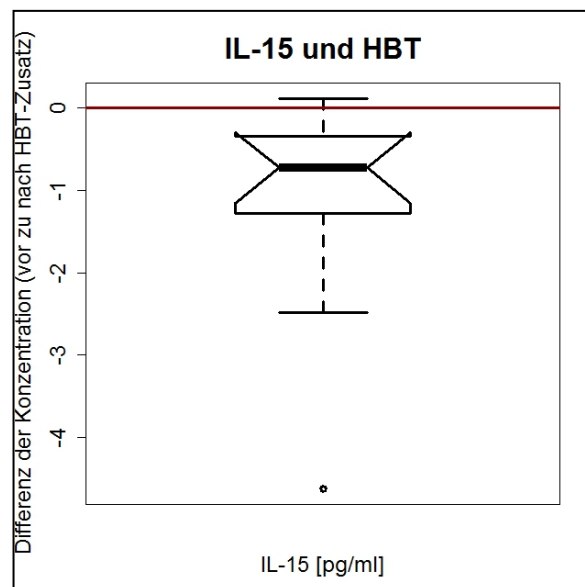
Eine mögliche Beeinflussung durch heterophile Antikörper konnte für die Biomarker sVCAM-1 (p = 0,79). und NGAL (p = 0,97) ausgeschlossen werden (Abbildung 11 a, b).

Dagegen kann bei einzelnen Proben die Konzentration an IL-15 und somit die Versuchsergebnisse durch eine potentielle Interferenz mit heterophilen Antikörpern

verfälscht worden sein. So ergab die Behandlung der Proben mit HBT® ( $3,34 \pm 1,58$  pg/ml) im Vergleich zu den unbehandelten Proben ( $2,24 \pm 0,59$  pg/ml) einen signifikanten Anstieg von 49,4 % der Biomarker-Konzentration von IL-15 ( $p = 0,001$ , Abbildung 12).



**Abbildung 11:** Einfluss von heterophilen Antikörpern auf die Konzentration von (a) NGAL und (b) sVCAM-1. Dargestellt sind die Differenzen der gemessenen Konzentrationen der Biomarker als Notched-Boxplots vor und nach Behandlung der Proben mit HBT®. Mittels HBT® sollten potentielle Interferenzen durch heterophile Antikörper verhindert werden. Die rote Linie kennzeichnet den Nullwert, d.h. hier besteht keine Konzentrationsänderung im Vergleich zur nativen Probe ( $n = 12$ ).

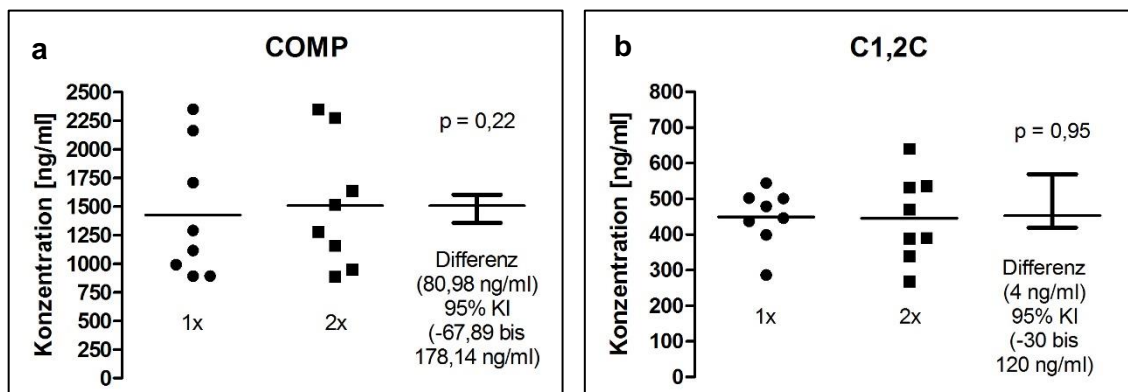


**Abbildung 12:** Einfluss von heterophilen Antikörpern auf die Konzentration von IL-15. Dargestellt sind die Differenzen der gemessenen Biomarkerkonzentrationen als Notched-Boxplots von IL-15 vor und nach Behandlung der Proben mit HBT®. Die rote Linie kennzeichnet den Nullwert, d.h. hier besteht keine Konzentrationsänderung im Vergleich zur nativen Probe ( $n = 12$ ). Mittels HBT® sollten potentielle Interferenzen durch heterophile Antikörper verhindert werden.

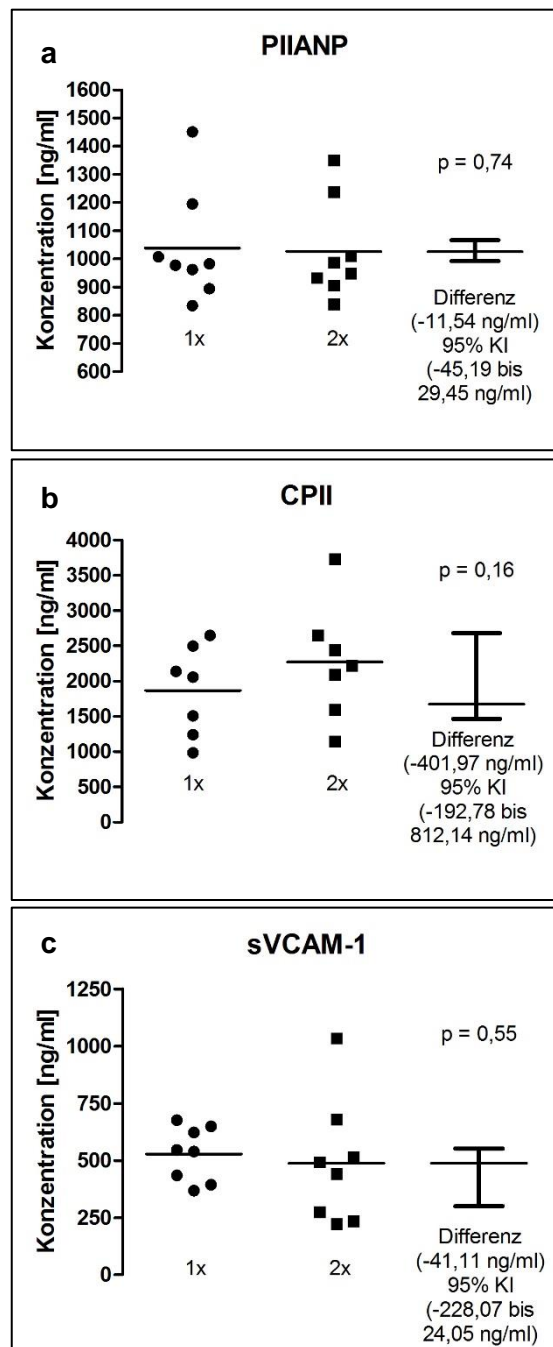
### 4.2.3 Wiederholtes Auftauen und Einfrieren der Proben

Da manche Serumaliquots aufgrund von zu wenig gesammeltem Blutvolumen zweimal benutzt werden mussten, sollte durch diesen Versuch eine mögliche Konzentrationsänderung der Biomarker im Serum durch zweimaliges Auftauen und Einfrieren der Serumaliquots untersucht werden. Hierzu wurden die Differenzen der ersten Bestimmung und der zweiten Bestimmung nach zweimaligem Einfrieren und Auftauen mittels Wilcoxon-Rangsummentest verglichen ( $n = 8$ ). Als signifikante Änderung der Konzentration wurde ein  $p$ -Wert  $\leq 0,05$  definiert.

In den folgenden Graphiken sind die Differenzen der Biomarker-Konzentrationen, die aus den Werten vor und nach zweifachem Auftauen und Einfrieren bestimmt wurden, dargestellt. Die Abbildung 13 und Abbildung 14 zeigen die Biomarker, deren Konzentration durch mehrfaches Auftauen und Einfrieren nicht beeinflusst wurde. Die Einzelergebnisse sind der Tabelle 12.1.4 und 12.1.5 des tabellarischen Anhangs zu entnehmen.

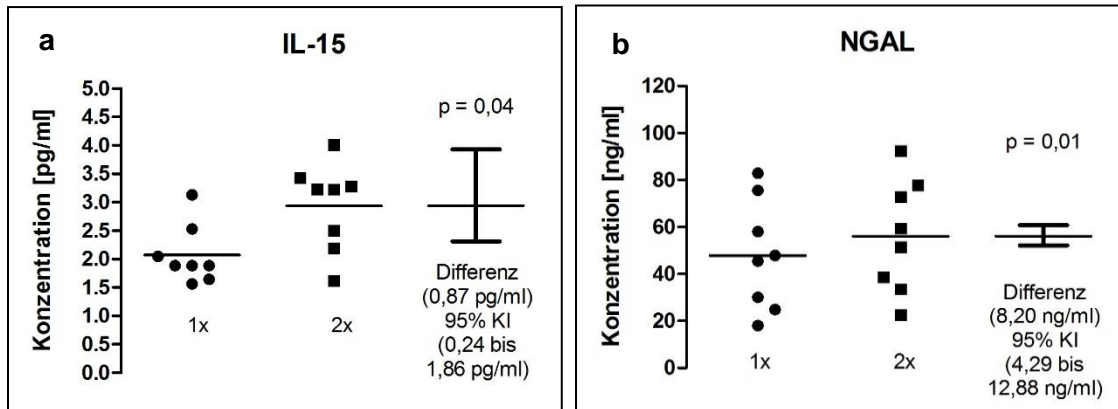


**Abbildung 13:** Einfluss des wiederholten Auftauens und Einfrierens der Proben auf die Konzentrationen der Biomarker. Dargestellt sind die Konzentrationen der gemessenen Biomarker (a) COMP ( $p = 0,22$ ), (b) C1,2C ( $p = 0,95$ ) im Serum in ng/ml vor und nach zweifachem Einfrieren und Auftauen der Blutproben ( $n = 8$ ). Daneben ist auf der rechten Y-Achse die jeweilige Differenz der gemessenen Mittelwerte mit dem 95% Konfidenzintervall (KI) in ng/ml dargestellt.



**Abbildung 14:** Einfluss des wiederholten Auftauens und Einfrierens der Proben auf die Konzentrationen der Biomarker. Dargestellt sind die Konzentrationen der gemessenen Biomarker (a) PIIANP ( $p = 0,74$ ), (b) CPII ( $p = 0,16$ ) und (c) sVCAM-1 ( $p = 0,55$ ) im Serum in ng/ml vor und nach zweifachem Einfrieren und Auftauen der Blutproben ( $n = 8$ , CPII:  $n = 7$ ). Daneben ist auf der rechten Y-Achse die jeweilige Differenz der gemessenen Mittelwerte mit dem 95% Konfidenzintervall (KI) in ng/ml dargestellt.

Bei den Biomarkern NGAL und IL-15 kam es zu einer Veränderung der Biomarker-Konzentration nach zweifachem Auftauen der Serum-Proben. Die Konzentration stieg um 17,2% beziehungsweise um 41,8% nach zweimaligem Auftauen an (Abbildung 15 a, b).



**Abbildung 15:** Einfluss des wiederholten Einfrierens und Auftauens auf die Konzentration der Biomarker IL-15 und NGAL. Dargestellt sind die Konzentrationen der gemessenen Biomarker (a) IL-15 ( $p = 0,04$ ) und (b) NGAL ( $p = 0,008$ ) im Serum in ng/ml bzw. pg/ml vor und nach zweifachem Einfrieren und Auftauen der Blutproben ( $n = 8$ ). Daneben ist auf der rechten Y-Achse die jeweilige Differenz der gemessenen Mittelwerte mit dem 95% Konfidenzintervall (KI) in ng/ml dargestellt.

Bei der Bestimmung der Biomarker-Konzentrationen von NGAL wurde in den Hauptversuchen nur eine einzige Probe zweimal aufgetaut. Hierbei handelte es sich um die Leerwertbestimmung einer postmenopausalen Kontrolle. Somit konnte eine Beeinflussung des Auftauens auf die Biomarker-Konzentration von NGAL in den OA-Kohorten und in der prämenopausalen Kontrollgruppe ausgeschlossen werden.

Zur Bestimmung der IL-15 Konzentrationen in den Hauptversuchen wurden keine Proben mehrfach aufgetaut. Deshalb ist eine Beeinflussung dieser Ergebnisse durch mehrfaches Auftauen und Einfrieren der Proben ausgeschlossen.

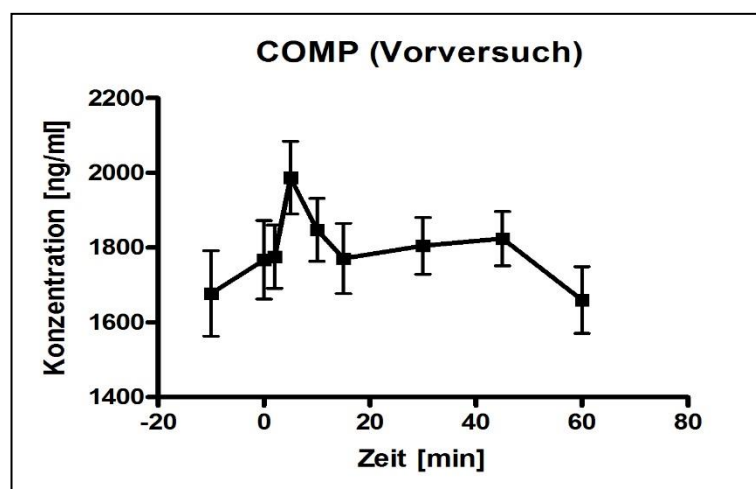
### 4.3 Ergebnisse aus der Biomarker-Analyse mittels ELISA

#### 4.3.1 Konzentrationsverläufe der Biomarker im Blut nach Belastung

Zum Zeitpunkt der Durchführung dieser Studie gab es keine Informationen über den zeitlichen Verlauf der Konzentrationen der Biomarker im peripheren venösen Blut nach mehrfachem Kraftschluss der Indexhand. Es war auch nicht sicher, dass diese überhaupt nach Belastung speziell der Hand- und Fingergelenke im venösen Abflussgebiet des jeweiligen Armes messbar gemacht werden konnten. Auch lagen keine Informationen vor, wann der beste Entnahmepunkt des Blutes sein würde, um die zu erwartende Maximalkonzentration der Biomarker detektieren zu können. Aufgrund des Fehlens dieser Angaben wurden zunächst aus jeder Kohorte die Blutproben von vier zufällig ausgewählten Patientinnen/ Probandinnen mit allen 9 gemessenen Zeitpunkten

exemplarisch untersucht. Aus der kleineren RA-Kohorte wurden nur die Proben von zwei Patientinnen exemplarisch untersucht.

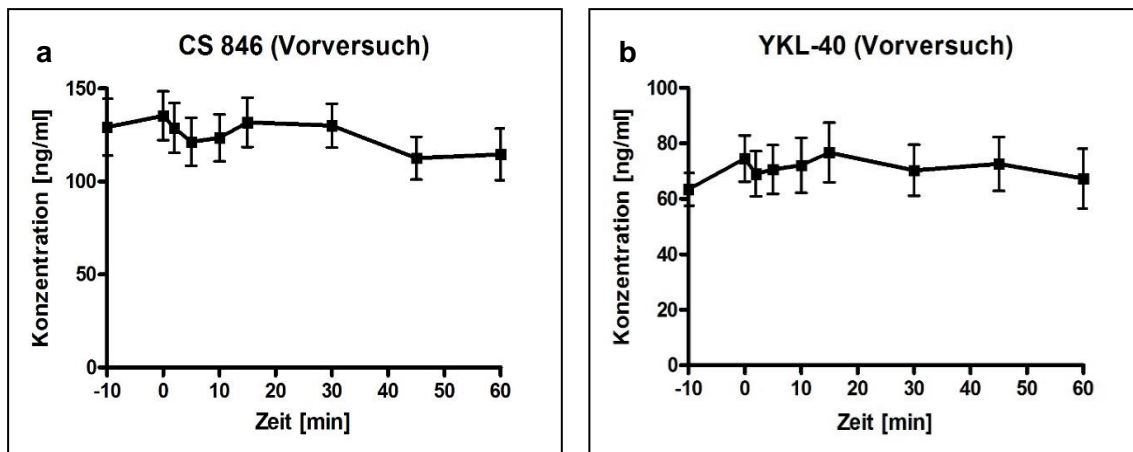
Die Ergebnisse der ersten ELISAs zeigten, dass alle Marker im venösen Blut des jeweiligen Arms vor und nach Belastung messbar waren. Für die Marker CPII, C1,2C, COMP, sVCAM-1, IL-15, NGAL und PIIANP konnte ein Anstieg der Biomarkerkonzentrationen nach Belastung im venösen Blut gemessen werden. Ein exemplarischer Verlauf für den Biomarker COMP zeigt Abbildung 16.



**Abbildung 16:** Exemplarische Darstellung der zeitabhängigen Serumkonzentration von COMP. Die Messergebnisse von insgesamt 18 zufällig ausgewählten Versuchspersonen wurden verwendet, davon jeweils 4 aus der Heberden-, Bouchard-, Prä-, und Post-Kohorte sowie 2 aus der RA-Kohorte, wurden verwendet. Die y-Achse gibt die Biomarkerkonzentration von COMP in ng/ml und die X-Achse die jeweiligen Messzeitpunkte: Vor Belastung (-10) und 1, 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60 Minuten nach Belastung an. Der Wert vor Belastung wurde mit -10 Minuten zur besseren Übersicht gewählt und lag in Wirklichkeit bei -1 Minute.

Für die Biomarker CS846 und YKL-40 konnte in dem Vorversuch kein sicherer Anstieg nach Belastung der Hand- und Fingergelenke festgestellt werden (Abbildung 17), so dass für alle weiteren Analysen nur die oben genannten sieben Biomarker weiter untersucht wurden.





**Abbildung 17:** Exemplarische Darstellung der zeitabhängigen Serumkonzentrationen von (a) CS846 und (b) YKL-40. Die Messergebnisse von insgesamt 18 zufällig ausgewählten Probandinnen/ Patientinnen wurden verwendet, davon jeweils 4 aus der Heberden-, Bouchard-, Prä-, und Post-Kohorte sowie 2 aus der RA-Kohorte. Die y-Achse gibt die Konzentration in ng/ml und die X-Achse die jeweiligen Zeitpunkte: Vor Belastung (-10) und 1, 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60 Minuten nach Belastung an. Der Wert vor Belastung wurde mit -10 Minuten zur besseren Übersicht gewählt und lag in Wirklichkeit bei -1 Minute.

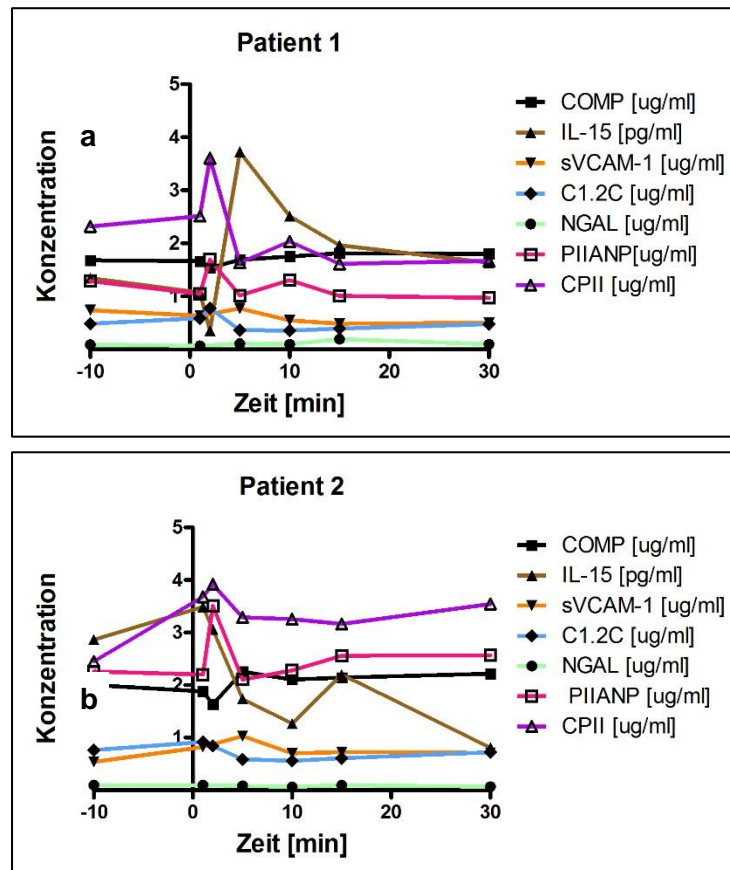
Die Einzelergebnisse der Biomarker-Konzentrationen für alle Zeitpunkte und alle Patienten finden sich im tabellarischen Anhang (Tabelle 12.2).

#### 4.3.2 Zeitliche Bestimmung der maximalen Biomarker-Konzentrationen

Nach Abschluss der Vorversuche wurden die Blutproben aller Patienten mittels ELISA analysiert und die Biomarker-Konzentrationen der Studienteilnehmerinnen zu allen Zeitpunkten der Blutentnahme bestimmt.

Bei Betrachtung aller Biomarker-Konzentrationsverläufe pro Patientin/Probandin konnte bei großer intraindividuelle Varianz der Biomarker-Verläufe kein gemeinsamer Zeitpunkt für das Anfluten aller Biomarker im Blut gefunden werden. Aber auch im Vergleich der Patientinnen/Probandinnen untereinander zeigte sich eine große interindividuelle Varianz der Biomarker-Konzentrationsverläufe, insbesondere bezüglich des Zeitpunktes an dem die Maximalkonzentrationen der einzelnen Biomarker gemessen wurden. Es konnte daher kein Zeitpunkt identifiziert werden, an dem ein einzelner Biomarker bei allen Studienteilnehmerinnen gleichzeitig seine Maximalkonzentration nach Belastung der Hand- und Fingergelenke erreichte. Bei Betrachtung der Konzentrationen aller Biomarker im Messzeitraum von insgesamt 60 Minuten nach Belastung zeigt sich deutlich, dass es in den meisten Fällen innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke im Vergleich zum gemessenen Ausgangswert vor Belastung zu einem Konzentrationsanstieg im venösen

Blut des jeweiligen Arms kam. In den danach folgenden Abnahmezeitpunkten kam es nur zu wenigen Konzentrationsanstiegen oder -änderungen der Biomarker-Level. Aus diesem Grund wurden die Zeitpunkte 45 und 60 Minuten nach Belastung für die weiteren Berechnungen nicht mehr berücksichtigt.



**Abbildung 18:** Exemplarischer Konzentrationsverlauf der Biomarker im Serum zweier zufällig ausgewählter Patientinnen. Dargestellt sind die Biomarkerkonzentrationsverläufe vor ( $t = -10$  Minuten) und nach Belastung der Hand- und Fingergelenke. Die x-Achse gibt die Zeit in Minuten an und die y-Achse die Konzentrationen der jeweiligen Biomarker. Der Wert vor Belastung wurde mit -10 Minuten zur besseren Darstellung gewählt und lag in Wirklichkeit bei -1 Minute.

In Abbildung 18 a und b sind die Konzentrationsverläufe aller Biomarker zweier zufällig ausgewählter Patientinnen ohne die Zeitpunkte 45 Minuten und 60 Minuten dargestellt (Abbildung 18). Die Graphiken machen, wie bereits oben beschrieben, deutlich, dass die Konzentrationsänderungen im Blut in den ersten 15 Minuten nach Belastung auftreten. Auch zeigt sich, dass es keinen gemeinsamen Zeitpunkt für alle Biomarker gibt, bei denen eine maximale Konzentration nach Belastung im Blut gemessen werden konnte. Die weiteren statistischen Auswertungen wurden daher mit der Maximalkonzentration des jeweiligen Biomarkers innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke der jeweiligen Patientin durchgeführt.

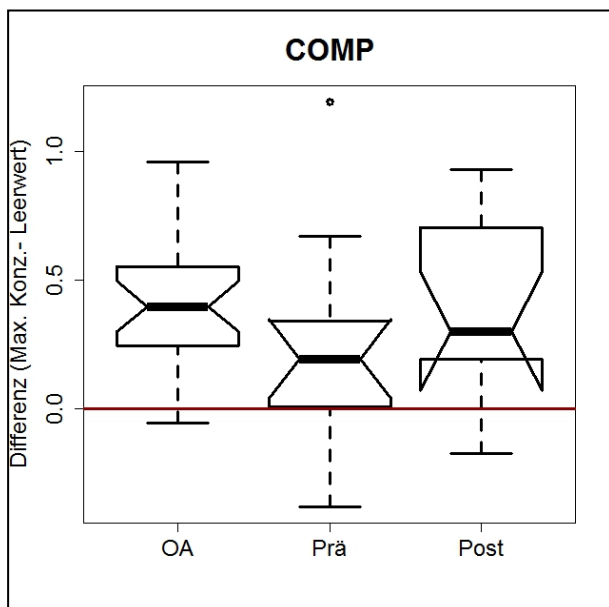
Während der gesamten Studie wurde darauf geachtet, dass die Abnahmezeitpunkte exakt eingehalten wurden. Allerdings kam es gelegentlich auch zu einer Verschiebung dieses Zeitpunktes z.B. durch den Verschluss der Venenverweilkanüle.

### 4.3.3 Konzentrationsanstieg nach Belastung und Unterschiede zwischen den einzelnen Kohorten

Ein primäres Ziel dieser Arbeit war es herauszufinden, ob es einen Unterschied der jeweiligen Biomarker-Konzentration zwischen den einzelnen hier untersuchten Kohorten gibt. Dazu wurden die Differenzen zwischen der Maximalkonzentration des Markers innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung und dem Leerwert, also der Konzentration vor Belastung gebildet.

#### 4.3.3.1 COMP

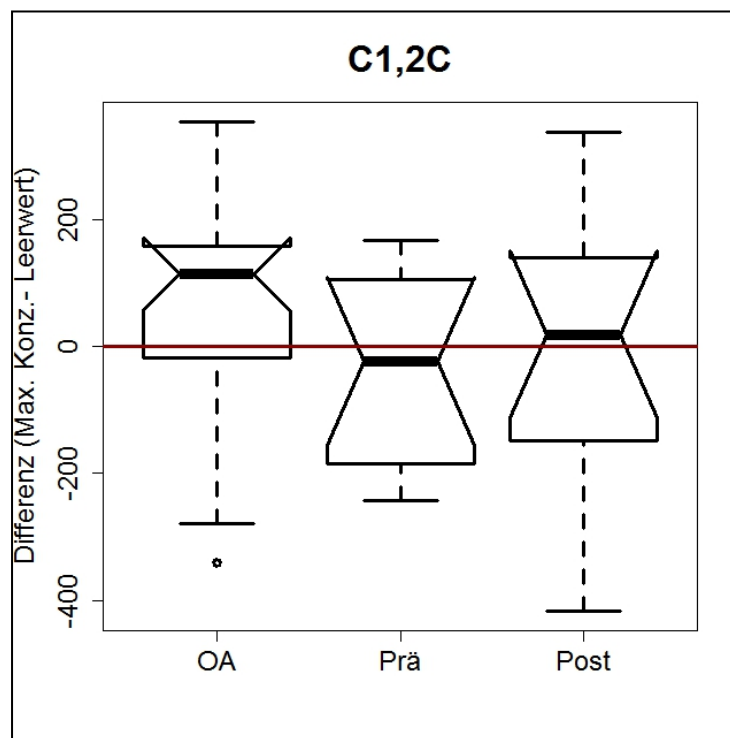
Der Marker COMP weist in allen untersuchten Kohorten einen signifikanten Anstieg der Serum-Konzentration nach Belastung im Vergleich zum Wert vor Kraftschluss der Indexhand auf. Abbildung 19 zeigt, dass alle Boxen oberhalb der Nulllinie sind und somit ein Anstieg der Konzentration nach Belastung, verglichen mit den Werten vor Belastung, nachweisbar ist. Im Vergleich der einzelnen Gruppen untereinander konnte allerdings kein Unterschied zwischen den Biomarker-Konzentrationen nach Belastung gefunden werden ( $p = 0,23$ ). Die genauen Werte der graphischen Darstellung und der statistischen Ergebnisse finden sich im tabellarischen Anhang (Tabelle 12.3.1).



**Abbildung 19:** Serumkonzentrationen von COMP. Dargestellt sind die Differenzen als Notched-Boxplots zwischen der maximalen COMP-Konzentration [ $\mu\text{g/ml}$ ] innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und der Biomarkerkonzentration vor Belastung pro untersuchter Kohorte [OA = Kohorte der Patientinnen mit einer Fingerpolyarthrose ( $p < 0,0001$ ),  $n = 24$ ; Prä = prämenopausale Kontrollgruppe ( $p = 0,04$ ),  $n = 12$ ; Post = postmenopausale Kontrollgruppe ( $p = 0,001$ ),  $n = 12$ ]. Die X-Achse (rote Linie) kennzeichnet den Nullwert, d.h. hier besteht keine Konzentrationsänderung im Vergleich zum Zeitpunkt vor Belastung.

#### 4.3.3.2 C1,2C

Der Biomarker C1,2C zeigt als einziger der hier untersuchten Biomarker keinen nachweisbaren Konzentrationsanstieg im Blut nach erfolgter Belastung der Hand- und Fingergelenke in allen Gruppen (Abbildung 20). Auch konnte kein Unterschied im Auftreten der maximalen Biomarker-Konzentration zwischen den einzelnen Gruppen ( $p = 0,31$ ) gefunden werden (Abbildung 20). Die genauen Ergebnisse sind dem tabellarischen Anhang zu entnehmen (Tabelle 12.3.2).



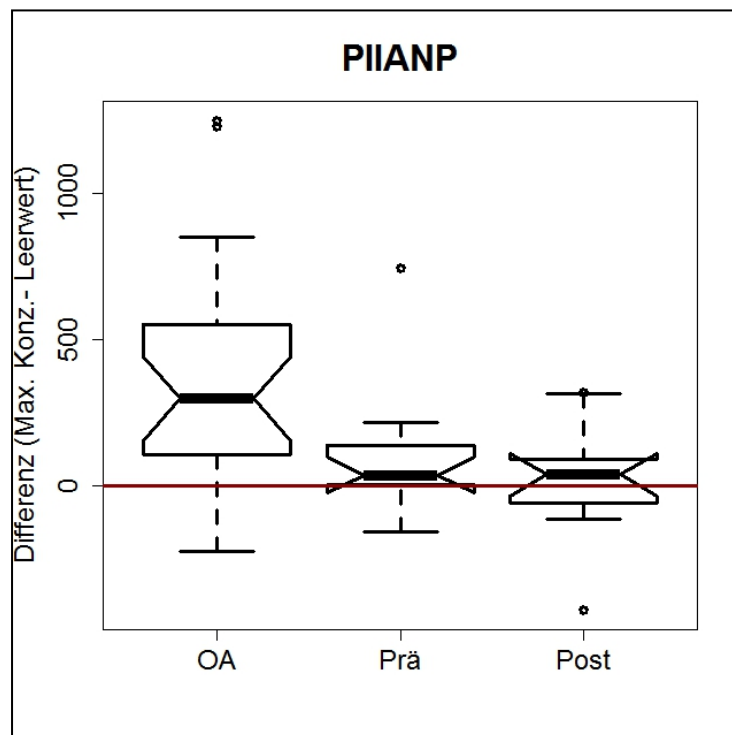
**Abbildung 20:** Serumkonzentrationen von C1,2C. Dargestellt sind die Differenzen als Notched-Boxplots zwischen der maximalen C1,2C-Konzentration [ng/ml] innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und der Biomarkerkonzentration vor Belastung pro untersuchter Kohorte [OA = Kohorte der Patientinnen mit einer Fingerpolyarthrose ( $p = 0,09$ ),  $n = 24$ ; Prä = prämenopausale Kontrollgruppe ( $p = 0,47$ ),  $n = 12$ ; Post = postmenopausale Kontrollgruppe  $p = 0,90$ ),  $n = 12$ ]. Die X-Achse (rote Linie) kennzeichnet den Nullwert, d.h. hier besteht keine Konzentrationsänderung im Vergleich zum Zeitpunkt vor Belastung.

#### 4.3.3.3 PIIANP

Der Knorpelsynthesemarker PIIANP zeigt nur in der OA-Gruppe einen messbaren Konzentrationsanstieg nach Belastung (Abbildung 21). Es konnte kein signifikanter Anstieg der Konzentration im Blut der prämenopausalen und der postmenopausalen Kontrollgruppe gemessen werden.

Ein deutlicher Unterschied zwischen den einzelnen Kohorten im Auftreten der Maximalkonzentration nach Belastung konnte statistisch nachgewiesen werden. PIIANP ist der einzige Biomarker, der diesen statistisch nachweisbaren Unterschied zwischen der OA-Kohorte und der prä- sowie auch der postmenopausalen Kohorte aufweist ( $p = 0,003$ ).

Die statistische Auswertung ist dem tabellarischen Anhang zu entnehmen (Tabelle 12.3.3).



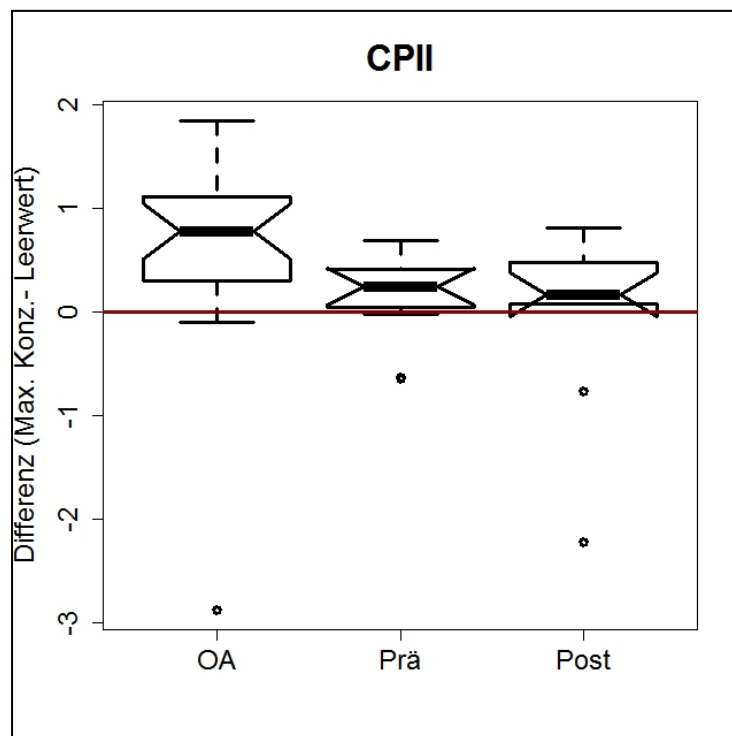
**Abbildung 21:** Serumkonzentrationen von PIIANP. Dargestellt sind die Differenzen als Notched-Boxplots zwischen der maximalen PIIANP-Konzentration [ng/ml] innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und der Biomarkerkonzentration vor Belastung pro untersuchter Kohorte [OA = Kohorte der Patientinnen mit einer Fingerpolyarthrose ( $p = 0,0001$ ),  $n = 24$ ; Prä = prämenopausale Kontrollgruppe ( $p = 0,09$ ),  $n = 12$ ; Post = postmenopausale Kontrollgruppe ( $p = 0,64$ ),  $n = 12$ ]. Die X-Achse (rote Linie) kennzeichnet den Nullwert, d.h. hier besteht keine Konzentrationsänderung im Vergleich zum Zeitpunkt vor Belastung.

#### 4.3.3.4 CPII

Der Knorpelformationsmarker CPII zeigte ebenfalls nur in der OA-Gruppe einen deutlichen Konzentrationsanstieg nach Belastung im Blut (Abbildung 22). In den beiden Kontroll-Kohorten konnte kein signifikanter Anstieg der Konzentrationen im Blut nach Belastung der Hand- und Fingergelenke nachgewiesen werden.

Verglichen mit der prämenopausalen Kohorte wies die OA-Kohorte eine deutlich erhöhte CPII-Konzentration im Blut ( $p = 0,009$ ) innerhalb der ersten 15 Minuten nach Kraftschluss der Hand auf (Abbildung 22).

Die Einzelergebnisse der statistischen Auswertung sind dem tabellarischen Anhang zu entnehmen (Tabelle 12.3.4).



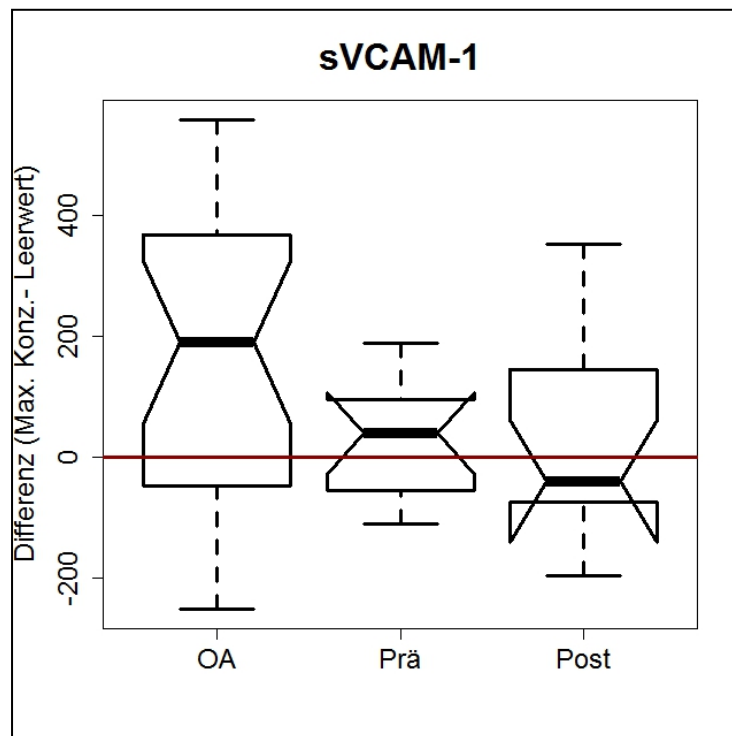
**Abbildung 22:** Serumkonzentrationen von CPII. Dargestellt sind die Differenzen als Notched-Boxplots zwischen der maximalen CPII-Konzentration [ $\mu\text{g/ml}$ ] innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und der Biomarkerkonzentration vor Belastung pro untersuchter Kohorte [OA = Kohorte der Patientinnen mit einer Fingerpolyarthrose ( $p = 0,004$ ),  $n = 24$ ; Prä = prämenopausale Kontrollgruppe ( $p = 0,28$ ),  $n = 12$ ; Post = postmenopausale Kontrollgruppe ( $p = 0,50$ ),  $n = 12$ ]. Die X-Achse (rote Linie) kennzeichnet den Nullwert, d.h. hier besteht keine Konzentrationsänderung im Vergleich zum Zeitpunkt vor Belastung.

#### 4.3.3.5 sVCAM-1

Der Biomarker sVCAM-1 zeigt ebenso wie CPII nur in der OA-Kohorte einen deutlichen Anstieg ( $p = 0,0026$ ) der Biomarker-Konzentration im Blut nach Belastung der Hand- und Fingergelenke (Abbildung 23).

Es konnte kein Unterschied der maximalen Biomarker-Konzentrationen zwischen den einzelnen untersuchten Kohorten festgestellt werden ( $p = 0,15$ ).

Die Einzelwerte sind dem tabellarischen Anhang zu entnehmen (Tabelle 12.3.5).



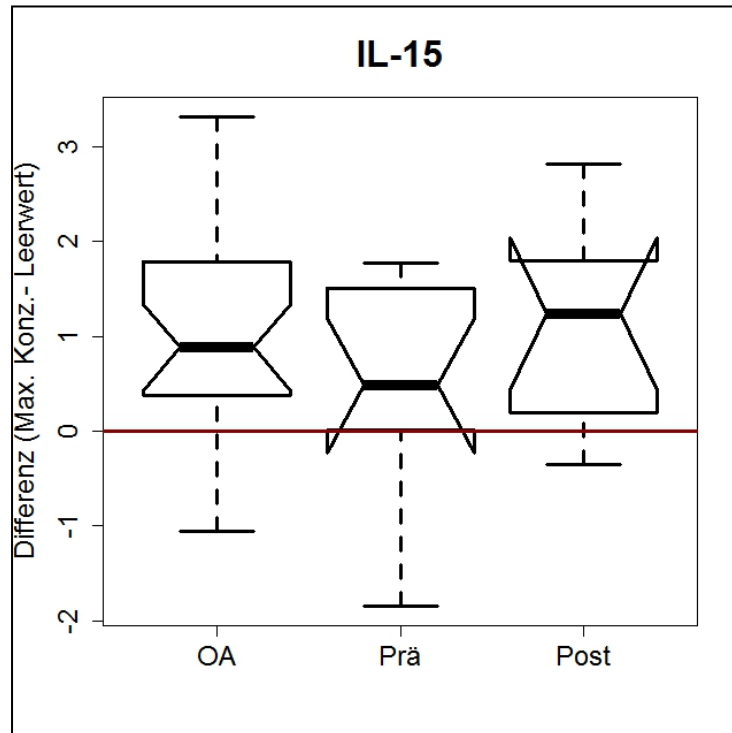
**Abbildung 23:** Serumkonzentrationen von sVCAM-1. Dargestellt sind die Differenzen als Notched-Boxplots zwischen der maximalen sVCAM-1-Konzentration [ng/ml] innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und der Biomarkerkonzentration vor Belastung pro untersuchter Kohorte (OA = Kohorte der Patientinnen mit einer Fingerpolyarthrose ( $p = 0,003$ ),  $n = 24$ ; Prä = prämenopausale Kontrollgruppe ( $p = 0,30$ ),  $n = 12$ ; Post = postmenopausale Kontrollgruppe ( $p = 0,62$ ),  $n = 12$ ). Die X-Achse (rote Linie) kennzeichnet den Nullwert, d.h. hier besteht keine Konzentrationsänderung im Vergleich zum Zeitpunkt vor Belastung.

#### 4.3.3.6 IL-15

Für den Biomarker Interleukin-15 konnte ein deutlicher Anstieg der Biomarkerkonzentration im Blut nach Kraftschluss der Indexhand nur in der OA-Kohorte ( $p = 0,0002$ ) und in der Post-Kohorte ( $p = 0,01$ ) gefunden werden (Abbildung 24). Es konnte kein Anstieg der Konzentrationen nach Belastung der Hand- und Fingergelenke in der Prä-Kohorte ( $p = 0,19$ ) nachgewiesen werden (Abbildung 24).

Es konnte kein Unterschied der maximalen Interleukin-15-Biomarkerkonzentrationen zwischen den einzelnen untersuchten Kohorten festgestellt werden ( $p = 0,35$ ).

Die Einzelwerte sind dem tabellarischen Anhang (Tabelle 12.3.6) zu entnehmen.



**Abbildung 24:** Serumkonzentrationen von IL-15. Dargestellt sind die Differenzen als Notched-Boxplots zwischen der maximalen IL-15-Konzentration [pg/ml] innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und der Biomarkerkonzentration vor Belastung pro untersuchter Kohorte (OA = Kohorte der Patientinnen mit einer Fingerpolyarthrose ( $p = 0,0002$ ),  $n = 24$  Prä = prämenopausale Kontrollgruppe ( $p = 0,19$ ),  $n = 12$ ; Post = postmenopausale Kontrollgruppe ( $p = 0,01$ ),  $n = 12$ ). Die X-Achse (rote Linie) kennzeichnet den Nullwert, d.h. hier besteht keine Konzentrationsänderung im Vergleich zum Zeitpunkt vor Belastung.

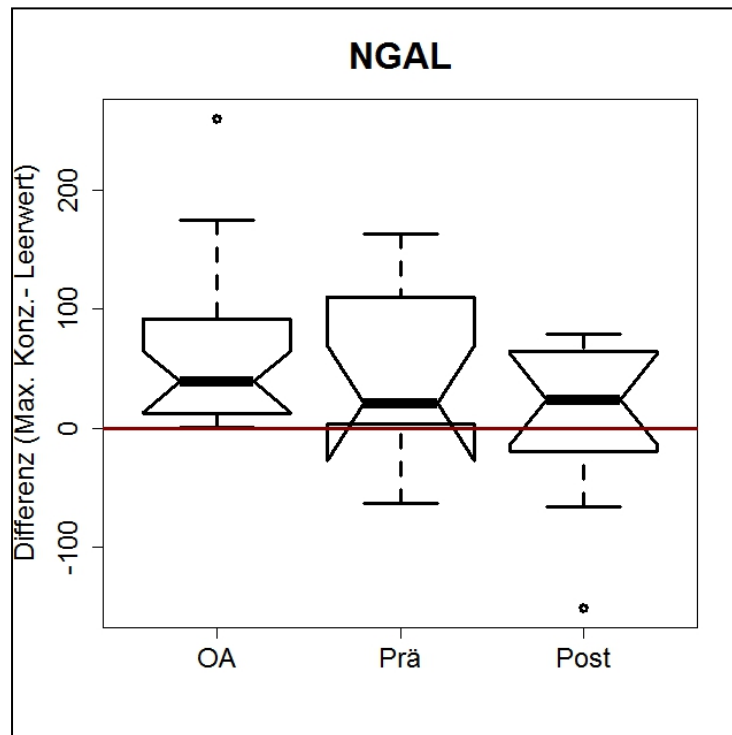
#### 4.3.3.7 NGAL

Für den Biomarker NGAL konnte in der Prä-Kohorte ( $p = 0,03$ ), sowie in der OA-Kohorte ( $p \leq 0,0001$ ) ein deutlicher Anstieg der Konzentration im Blut von NGAL nach Belastung der Hand- und Fingergelenke gefunden werden (Abbildung 25). Hingegen konnte kein Anstieg der Konzentration im Blut der Post-Kohorte ( $p = 0,30$ ) nachgewiesen werden (Abbildung 25).

Es konnte kein Unterschied der maximalen NGAL-Biomarker-Konzentrationen zwischen den einzelnen untersuchten Kohorten festgestellt werden ( $p = 0,3237$ ).

Die Einzelwerte finden sich im tabellarischen Anhang (Tabelle 12.3.7).





**Abbildung 25:** Serumkonzentrationen von NGAL. Dargestellt sind die Differenzen als Notched-Boxplots zwischen der maximalen NGAL-Konzentration [ng/ml] innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und der Biomarkerkonzentration vor Belastung pro untersuchter Kohorte [OA = Kohorte der Patientinnen mit einer Fingerpolyarthrose ( $p \leq 0,0001$ ),  $n = 24$ ; Prä = prämenopausale Kontrollgruppe ( $p = 0,03$ ),  $n = 12$ ; Post = postmenopausale Kontrollgruppe ( $p = 0,30$ ),  $n = 12$ ]. Die X-Achse (rote Linie) kennzeichnet den Nullwert, d.h. hier besteht keine Konzentrationsänderung im Vergleich zum Zeitpunkt vor Belastung.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass viele der hier untersuchten Biomarker nach Belastung der Hand- und Fingergelenke in einer höheren Konzentration als vor Belastung im venösen Blut des Unterarms vorhanden sind. Somit ist anzunehmen, dass durch die mechanische Belastung der Hand- und Fingergelenke der Abtransport der Biomarker über das Lymph- und Blutssystem der Gelenke deutlich zunimmt.

Für die Biomarker PIIANP und CPII konnte ein deutlicher Unterschied der Biomarker-Maximalkonzentration nach Belastung zwischen den einzelnen Kohorten aufgezeigt werden. So fällt der Biomarker-Peak bei dem untersuchten Knorpelformationsmarker PIIANP bei den OA-Patientinnen deutlich höher aus als bei den beiden als Kontrolle dienenden prä- und postmenopausalen Probandinnen.

Ein weiterer Knorpelformationsmarker CPII zeigte ebenfalls eine deutlich höhere Serumkonzentration in der OA-Gruppe als in der prämenopausalen Kontrollgruppe. Hier konnte allerdings kein Unterschied zwischen der postmenopausalen Kontrollgruppe und den OA-Patientinnen gefunden werden.

## 4.4 Ergebnisse aus der Evaluation der Röntgenbilder

### 4.4.1 Die Einzelergebnisse

Für die Auswertung der Punktzahlen aus den Einzelscores (Kellgren- und Lawrence-Score, Kallman-Score, Larsen-Score und der nach *van der Heijde* modifizierte Sharp-Score) der Handarthrose und der rheumatoiden Arthritis wurden die Daten in tabellarischer Form gesammelt.

Es wurde für die Gesamtauswertung der Röntgenbilder jeder einzelne Scorewert notiert. Für die Auswertung der Röntgenscores nach Kellgren und Lawrence und nach Kallman wurde jeweils noch die Gesamtsumme der Scores für die ganze Indexhand und die Durchschnittswerte für alle Gelenke ermittelt. Für die Gesamtsumme wurden alle Punktzahlen der Einzelscores pro Gelenk für jeden Patienten addiert (Kellgren/Lawrence-Score: maximal 60 Punkte, Kallman-Score: maximal 99 Punkte). Für die jeweiligen Durchschnittswerte wurde der Gesamtscore dann jeweils noch durch die Anzahl der insgesamt evaluierten Gelenke (Kellgren-Lawrence-Score: 15 Gelenke, Kallman-Score: 11 Gelenke) dividiert. Eine Übersicht über die Auswertung der Röntgenbilder gibt Tabelle 5.

	OA-Patientinnen (n=24)	RA-Patientinnen (n=5)
<b>Kellgren-Lawrence-Score</b> (Summe, max. 60)	25,5 ± 9,2	n.b.
<b>Kellgren-Lawrence-Score</b> (Durchschnittswert/ Hand)	1,7 ± 0,6	n.b.
<b>Kallman-Score</b> (Summe, max. 99)	34,5 ± 13,7	n.b.
<b>Kallman-Score</b> (Durchschnittswert):		
- <b>Osteophyten</b> (max. 3)	1,6 ± 0,5	n.b.
- <b>JSN</b> (max. 2)	0,8 ± 0,5	n.b.
- <b>Subchon. Sklerose</b> (max. 1)	0,4 ± 0,3	n.b.
- <b>Subchon. Zysten</b> (max. 1)	0,5 ± 0,3	n.b.
- <b>Seitl. Verformung</b> (max. 1)	0,1 ± 0,2	n.b.
- <b>Zerstörung</b> (max. 1)	0,1 ± 0,1	n.b.
<b>Larson-Score</b> (max. 55 Punkte)	n.b.	0 ± 0
<b>Sharp/ v. d. Heijde-Score:</b>		
- <b>Erosionen</b> (max. 5)	n.b.	0 ± 0
- <b>JSN</b> (max. 4)	n.b.	0 ± 0

**Tabelle 5:** Übersicht über die Auswertung der Röntgenbilder der OA- und der RA-Patientinnen. Dargestellt sind die Mittelwerte ± Standardabweichungen der ermittelten Summen der Scores sowie der errechneten Durchschnittswerte der Indexhände der Patientinnen (OA = Osteoarthritis, RA = Rheumatoide Arthritis, n.b. = nicht bestimmt, in Klammern der jeweilige höchstmögliche Scorewert, JSN = joint space narrowing).

In Tabelle 5 ist deutlich zu sehen, dass die Patientinnen der RA-Kohorte im Frühstadium ihrer Erkrankung für die Studie rekrutiert wurden, da zum Zeitpunkt der Studienteilnahme bei allen RA-Patientinnen noch keine nativ-röntgenologischen Veränderungen der Gelenke und Knochen vorlagen und somit auch die radiologischen Scores alle einen Wert von 0 Punkten aufwiesen.

Im weiteren Vergleich der beiden nach dem klinischen Erscheinungsbild zugeteilten OA-Gruppen (mehr Heberden- oder mehr Bouchard-betonte Fingerpolyarthrose) fiel auf, dass es nur einen geringen Unterschied zwischen den beiden Gruppen in Bezug auf die Anzahl der radiologisch betroffenen Gelenke, definiert als ein Kellgren-Lawrence-Score  $\geq 2$  gibt (Tabelle 6). Dabei zeigte die Gruppe mit den Patientinnen mit einer mehr Bouchard-betonten Fingerpolyarthrose sogar mehr betroffene Gelenke im Bereich der DIP-Gelenke als im Bereich der PIP-Gelenke (Tabelle 6).

	Heberden-betonte Fingerpolyarthrose (n=12)	Bouchard-betonte Fingerpolyarthrose (n=12)	Summe (n = 24)
Anzahl der betroffenen DIP-Gelenke	41	39	80
Anzahl der betroffenen PIP-Gelenke	24	36	60
Summe (n = 24)	65	75	

**Tabelle 6:** Übersicht über die radiologisch betroffenen Fingergelenke. Darstellt sind zwei OA-Subgruppen, die klinisch mehr Heberden-betonte und die klinisch mehr Bouchard-betonte Fingerpolyarthrose gegenüber der Anzahl der radiologisch betroffenen Gelenke, definiert als ein Kellgren-Lawrence-Score  $\geq 2$ .

Für alle weiteren Berechnungen und Vergleiche wurde kein Unterschied mehr zwischen einer klinisch mehr Heberden- oder mehr Bouchard-betonten Fingerpolyarthrose gemacht, sondern die beiden Gruppen wurden als eine gemeinsame OA-Kohorte angesehen und als solche ausgewertet.

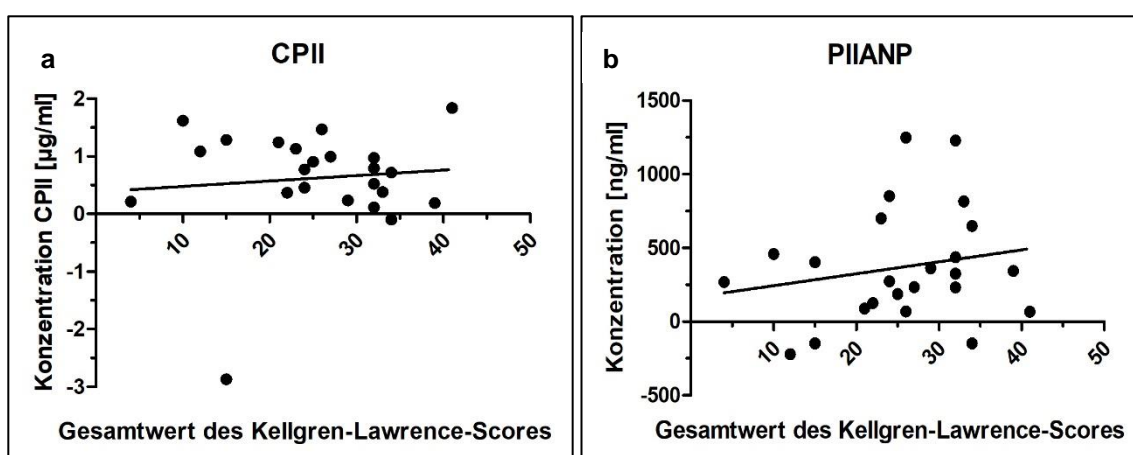
#### 4.4.2 Korrelationen zwischen den Röntgenscores und den Biomarkern

Die Korrelationsanalyse der Biomarker-Peaks nach Belastung mit den ermittelten Röntgenscores der Hand wurde mittels Rangkorrelation nach Spearman durchgeführt. In die Berechnungen wurden die Gesamtscores, die Durchschnittscores und der höchste Wert im Kellgren-Lawrence-Score der Indexhände der Patientinnen

einbezogen. Auch wurde bei der Auswertung des Kallman-Scores die Einzelwerte für die Gelenkspaltverschmälerung (Joint Space Narrowing = JSN) und die Einzelwerte für die Ausprägung der Osteophyten hinzugezogen, einschließlich der Maximalwerte und der Durchschnittswerte der untersuchten Parameter. Des Weiteren wurde evaluiert, ob es Korrelationen zwischen der Anzahl der radiologisch betroffenen Gelenke (definiert als ein Kellgren-Lawrence-Score  $\geq 2$ ) und der Biomarker-Level gab. Es wurden nur die Biomarker, die einen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen untersuchten Kohorten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke aufwiesen, in die Korrelationsanalyse mit einbezogen.

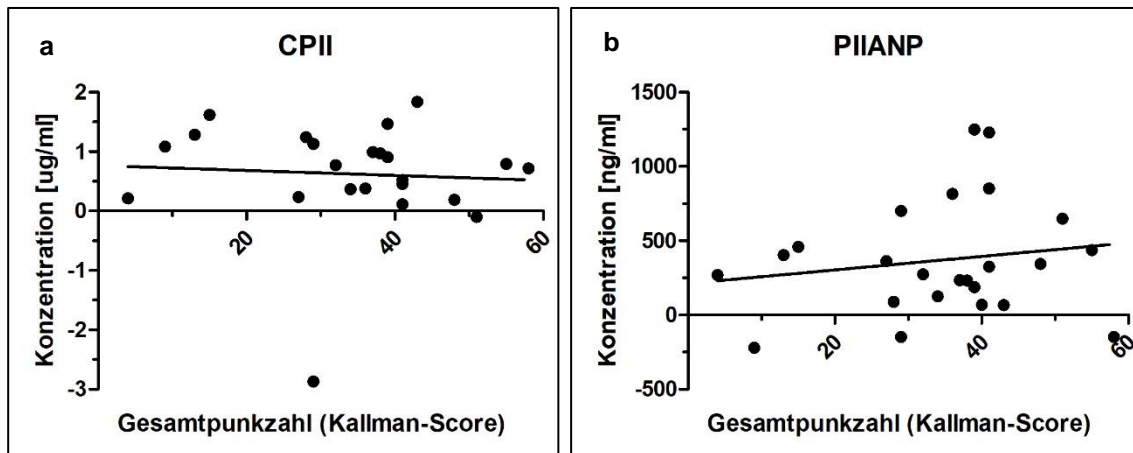
Die Werte des Korrelationskoeffizienten  $r$  variieren zwischen -1 (negative Korrelation), 0 (keine Korrelation) und 1 (positive Korrelation). Die Werte dazwischen bedeuten eine positive oder negative Tendenz für eine gemeinsame oder inverse Korrelation. Das Signifikanzniveau wurde als  $p \leq 0,05$  definiert. Die Ergebnisse der Korrelation nach Spearman zwischen den Röntgenscores und den Biomarkern sind der Tabelle 12.4 des tabellarischen Anhangs zu entnehmen.

Als einzige Biomarker zeigten CPII und PIIANP signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Kohorten. Daher wurden nur diese beiden Biomarker mit den radiologischen Scores korreliert. Die Auswertung ergab keine Korrelationen für CPII und PIIANP mit den Einzel-, Gesamt- oder Durchschnittsröntgenscores. Exemplarisch wird die Korrelation des Gesamtwertes des Kellgren-Lawrence-Scores mit den Biomarkern CPII ( $p = 0,36$ ;  $r = -0,20$ ) und PIIANP ( $p = 0,14$  und  $r = 0,51$ ) in Abbildung 26 dargestellt.



**Abbildung 26:** Korrelation von CPII und PIIANP mit dem Kellgren-Lawrence-Score. Dargestellt ist die Korrelation der Gesamtwertes des Kellgren-Lawrence-Scores mit (a) der CPII-Konzentration ( $p = 0,36$ ;  $r = -0,20$ ) und (b) der PIIANP-Konzentration ( $p = 0,14$ ;  $r = 0,51$ ) nach Belastung der Hand- und Fingergelenke der OA-Patientinnen ( $n = 24$ ).

Es ergab sich ebenso keine Korrelation der beiden Biomarker mit dem Kallman-Score, auch nicht in der Analyse der Einzelparameter wie Gelenkspaltverschmälerung oder Osteophyten. Exemplarisch dargestellt ist die Korrelationsanalyse von CPII ( $p = 0,35$ ;  $r = -0,20$ ) und PIIANP ( $p = 0,13$ ;  $r = 0,55$ ) mit der Gesamtpunktzahl des Kallman-Scores (Abbildung 27).



**Abbildung 27:** Korrelation von CII und PIIANP mit dem Kallman-Score. Dargestellt ist die Korrelation des Kallman-Scores mit (a) der CII-Konzentration ( $p = 0,35$ ;  $r = -0,20$ ) und (b) mit der PIIANP-Konzentration ( $p = 0,13$ ;  $r = 0,55$ ) nach Belastung der Hand- und Fingergelenke der OA-Patientinnen ( $n = 24$ ).

Die Korrelationen der Biomarker der RA-Patientinnen und der Röntgenscores wurde nicht durchgeführt, da alle RA-Patientinnen ein blandes Röntgenbild aufwiesen (s.o.).

## 4.5 Ergebnisse der klinischen Scores

### 4.5.1 Die Ergebnisse der Fragebögen von Tag 1 und Tag 2

Nach dem Studienende, wurden alle Fragebögen zur Erhebung der klinischen Scores des ersten (T1) und zweiten (T2) Studientags, in tabellarischer Form zusammengefasst. Zwischen dem ersten und zweiten Studientag lagen zehn Tage. Die Patientinnen erhielten in dieser Zeit eine orale Therapie mit 3 x 800 mg Ibuprofen pro Tag. Die Ergebnisse der einzelnen Fragebögen der Patientinnen sind dem tabellarischen Anhang zu entnehmen (Tabelle 12.5).

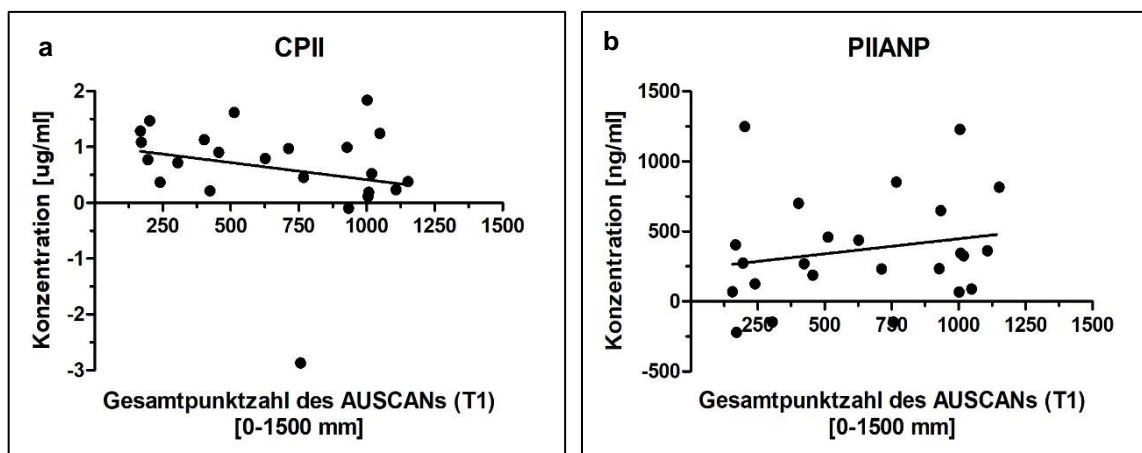
### 4.5.2 Korrelationen zwischen den Fragebogenscores und den Biomarkern

Zur Evaluation der Punktzahlen aus den Fragebögen und einem eventuellen Zusammenhang mit der Maximalkonzentration der Biomarker nach Belastung wurde zur statistischen Auswertung die Rangkorrelation nach Spearman angewendet (nähere

Erläuterungen siehe Kapitel 4.3.2). Es wurden jeweils die Gesamtpunktzahlen der einzelnen klinischen Scores, aber auch die Punktzahlen aus den Subgruppen (Schmerz, Steifigkeit, Alltagstätigkeiten, Ästhetik) in die Berechnungen mit einbezogen. Zur Korrelationsanalyse der Biomarker und der klinischen Scores wurden nur die erhobenen Punktzahlen aus dem ersten Studientag (T1) verwendet, da hier die Blutentnahme zur Biomarkerbestimmung erfolgte (Ergebnisse siehe Tabelle 12.6 des tabellarischen Anhangs). Es wurden nur die Biomarker (CPII und PIIANP), die einen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen untersuchten Kohorten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke aufwiesen, korreliert.

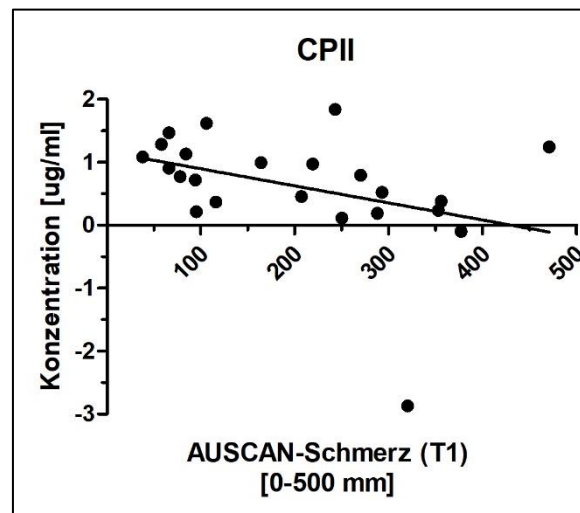
#### 4.5.2.1 Australian/ Canadian Hand Osteoarthritis Index (AUSCAN™) und die Biomarker

Die Korrelationsanalyse der maximalen Konzentration der Biomarker mit den Punktzahlen aus dem AUSCAN™-Fragebogen ergab bis auf eine Ausnahme keine positiven oder negativen Korrelationen (Ergebnisse siehe Tabelle 12.6 des tabellarischen Anhangs, Abbildung 28).



**Abbildung 28:** Korrelation von CPII und PIIANP mit dem AUSCAN-Gesamt-Score. Dargestellt sind exemplarisch die Korrelation des AUSCAN-Gesamt-Scores mit der Konzentrationen von (a) CPII ( $p = 0,10$ ;  $r = 0,35$ ) und (b) PIIANP ( $p = 0,28$ ;  $r = 0,23$ ) nach Belastung der Hand- und Fingergelenke der OA-Patientinnen ( $n = 24$ ). Der AUSCAN-Gesamt-Score gemessen an Tag 1 (T1) in Millimeter ist auf der X-Achse und die dazugehörigen Biomarkerkonzentrationen sind auf der Y-Achse dargestellt.

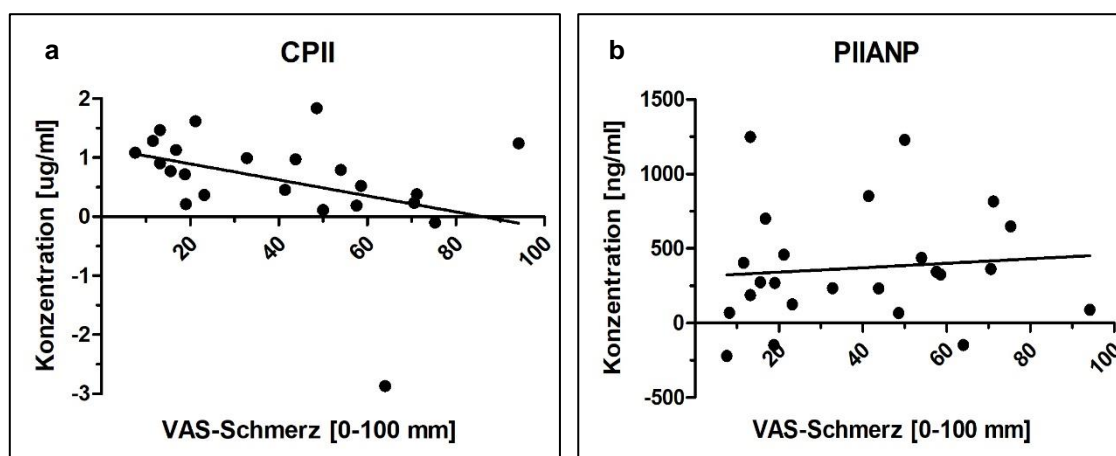
Die Maximalkonzentration des Knorpelformationsmarker CPII nach Belastung korrelierte negativ mit der Punktzahl des AUSCAN™-Schmerz-Scores ( $r = -0,48$ ,  $p = 0,02$ ; Abbildung 29).



**Abbildung 29:** Korrelation von AUSCAN-Schmerz mit CII. Dargestellt ist die Korrelation des AUSCAN-Schmerz-Scores mit der CII-Konzentrationen nach Belastung der Hand- und Fingergelenke der OA-Patientinnen ( $r = -0,48$ ;  $p = 0,02$ ;  $n = 24$ ). Der AUSCAN-Schmerz-Score, gemessen an Tag 1 (T1) in Millimeter, ist auf der X-Achse und die dazugehörigen Biomarkerkonzentrationen sind auf der Y-Achse dargestellt.

#### 4.5.2.2 Die visuellen Analogskalen (VAS), Health Assessment Questionnaire (HAQ) und die Biomarker

Auch in der Korrelationsanalyse der Biomarker-Konzentrationen mit den visuellen Analogskalen und dem Health Assessment Questionnaire ergab sich nur für CII und VAS-Schmerz eine negative Korrelation ( $r = -0,48$ ,  $p = 0,02$ ; Abbildung 30). Zwischen den weiteren Parametern (VAS-Schmerz, VAS-Ästhetik, Morgensteife in Minuten, HAQ) und den Biomarkern konnten keine Zusammenhänge gefunden werden (Ergebnisse siehe Tabelle 12.6 des tabellarischen Anhangs).



**Abbildung 30:** Korrelation von CII und PIIANP mit VAS-Schmerz. Dargestellt ist die Korrelation von (a) CII ( $r = -0,48$ ;  $p = 0,02$ ) und (b) PIIANP ( $r = 0,17$ ;  $p = 0,44$ ) nach Belastung der Hand- und Fingergelenke der OA-Patientinnen ( $n = 24$ ) mit der VAS-Schmerz. Die VAS-Schmerz, gemessen an Tag 1 (T1) in Millimeter, ist auf der X-Achse und die dazugehörigen Biomarkerkonzentrationen sind auf der Y-Achse dargestellt.

#### 4.5.2.3 BMI, CRP sowie Alter der Patientinnen und die Biomarker

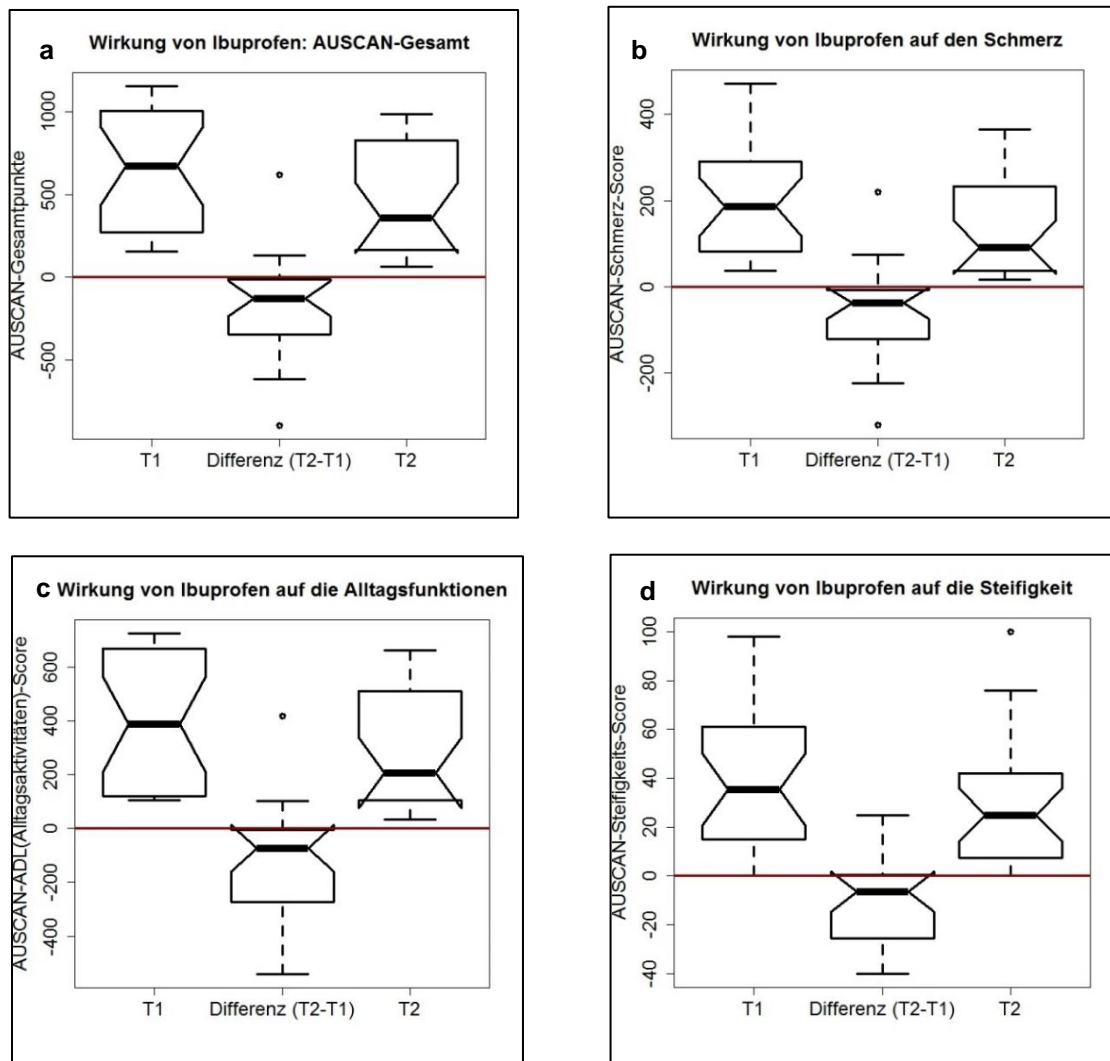
In der Screeninguntersuchung zu Beginn der Studie wurden noch weitere Parameter der einzelnen Patientinnen erhoben. Dazu zählten der Body-Maß-Index (BMI), das CRP (C-reaktives Protein) und das Alter der Patientinnen. Es sollte weitergehend untersucht werden, inwiefern diese Parameter im Zusammenhang mit den Biomarkerspiegeln nach Belastung stehen (Ergebnisse siehe Tabelle 12.6 des tabellarischen Anhangs).

Eine positive Korrelation der PIIANP-Konzentration nach Belastung im Blut (aller Studienteilnehmerinnen) und dem BMI ( $r = 0,43$ ;  $p = 0,021$ ,  $n = 47$ ) wurde festgestellt. Auch zeigt sich für PIIANP eine Korrelation mit dem C-reaktiven-Protein-Wert im Blut der OA-Patientinnen ( $r = 0,39$ ,  $p = 0,05$ ,  $n = 24$ ). Für den Biomarker CPII ergibt sich ebenfalls ein Trend für eine positive Korrelation mit dem BMI ( $r = 0,30$ ,  $p = 0,05$ ,  $n = 43$ ) bei allen Studienteilnehmerinnen.

## 4.6 Die Wirkung von Ibuprofen

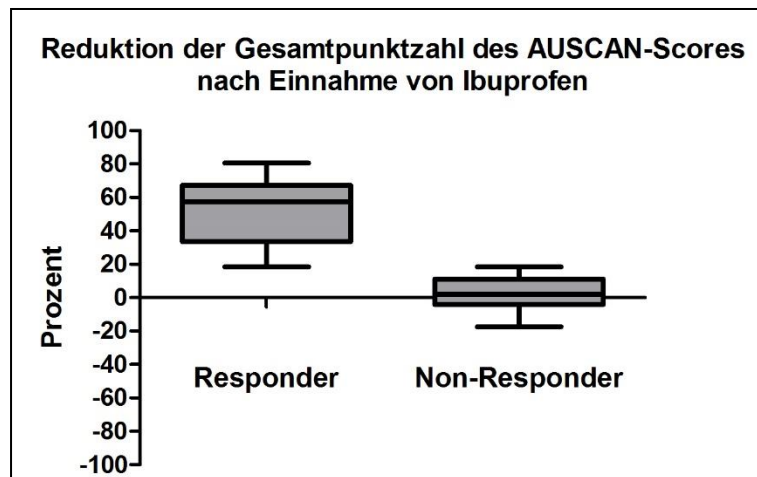
Eine weitere Zielsetzung dieser Studie war es, die Wirkung von Ibuprofen mit Hilfe der klinischen Scores zu evaluieren. Die Patientinnen erhielten für die Dauer von zehn Tagen 3 x 800 mg Ibuprofen oral. Es wurden die Ergebnisse der Fragebögen von T1 (Beginn der Therapie) und T2 (Ende der Ibuprofen Therapie) miteinander verglichen um aufzuzeigen, inwiefern eine analgetische oder symptomlindernde Wirkung feststellbar war. Der Tabelle 12.7 des tabellarischen Anhangs sind die statistischen Ergebnisse aus dem Wilcoxon-Rangsummentest zu entnehmen, wobei dieser mit den Differenzen von T2 zu T1 durchgeführt wurde. Das Signifikanzniveau wurde mit  $p \leq 0,05$  definiert. Die Gesamtergebnisse der einzelnen Fragebögen sind in Kapitel 4.4.1 sowie in Tabelle 12.5 des tabellarischen Anhangs näher erläutert. Es konnte in allen Evaluationsbestandteilen, wie Steifigkeit, Schmerzen und Aktivitäten des täglichen Lebens, eine Reduktion der Punktzahlen und somit der subjektiven Beschwerden der Patientinnen festgestellt werden (Abbildung 31 a - d). Ibuprofen hatte einen geringen Effekt auf die Morgensteifigkeit, die mit Hilfe des AUSCAN™ oder in Minuten gemessen wurde (Abbildung 31 d). Die Ergebnisse für VAS-Ästhetik, VAS-Schmerz, Morgensteifigkeit in Minuten und HAQ sind graphisch nicht dargestellt. Auch hier zeigte sich in allen Kategorien eine signifikante Reduktion der Punktzahlen der jeweiligen Scores (siehe Tabelle 12.7 des tabellarischen Anhangs). Die Einnahme von Ibuprofen hatte erwartungsgemäß nur einen minimalen Einfluss auf das ästhetische Empfinden der Patientinnen (keine Abbildung).





**Abbildung 31:** Die Wirkung von Ibuprofen gemäß AUSCAN-Score. Dargestellt sind die Punktzahlen als Notched-Boxplots der entsprechenden Fragebögen (a) AUSCAN-Gesamt ( $p = 0,002$ ), (b) AUSCAN-Schmerz ( $p = 0,012$ ), (c) AUSCAN-Verrichten von Alltagstätigkeiten (ADL,  $p = 0,005$ ), (d) AUSCAN-Steifigkeit ( $p = 0,011$ ) von Tag 1 (T1) und Tag 2 (T2) sowie die Differenzen von Tag 2 zu Tag 1 (T2-T1) aller OA-Patientinnen ( $n=24$ ). Die rote Linie kennzeichnet die Nulllinie und bedeutet, dass es zu keiner Änderung der Punktzahl unter der Therapie mit Ibuprofen gekommen ist. Die  $p$ -Werte beziehen sich auf die Differenz von Tag 1 zu Tag 2.

Um den klinisch relevanten Effekt einer kurzfristigen Therapie mit Ibuprofen aufzuzeigen, wurden die Patientinnen in zwei Gruppen eingeteilt: Die Responder (Patientinnen mit einer Scorereduktion des Gesamt-AUSCANs um mindestens 20 %) und die Non-Responder. Insgesamt fielen 10 Patientinnen von insgesamt 24 Patientinnen in die Gruppe der Non-Responder (Abbildung 32).



**Abbildung 32:** Wirkung von Ibuprofen Responder versus Non-Responder gemäß dem AUSCAN-Gesamtscore. Dargestellt ist die Reduktion der Gesamtpunktzahl des Auscan-Scores nach Einnahme von Ibuprofen. Responder: Reduktion der Punktzahl von mehr als 20% (n = 14), Non-Responder: Reduktion der Punktzahlen um weniger als 20 % (n = 10).

Wir konnten zeigen, dass es auch unter der kurzfristigen Einnahme von Ibuprofen zu einer deutlichen Schmerzreduktion und Symptomreduktion bei insgesamt 14 Patientinnen, beziehungsweise 58% gekommen ist. Allerdings sprachen auch 10 Patientinnen, beziehungsweise 42% kaum oder überhaupt nicht auf die kurzfristige Therapie mit drei mal 800 mg Ibuprofen an.

## 5 Diskussion

Fingerpolyarthrosen sind eine weit verbreitete degenerative Gelenkerkrankung, von der insbesondere Frauen betroffen sind. Im Rahmen der Fingerpolyarthrose kommt es, wie bei anderen Gelenk-Manifestationen einer OA zur Störung der sensiblen Knorpelhomöostase mit nachfolgender Degradation der extrazellulären Matrix. Dabei werden vermehrt Marker der Knorpeldegradation, aber auch der Kollagensynthese freigesetzt. Diese sind somit in verschiedenen Kompartimenten wie Synovialflüssigkeit, Urin oder Serum potentiell nachweisbar. Die aktuelle Forschung konzentriert sich zunehmend auf die Identifizierung solcher Biomarker, die zur Früherkennung oder zum Monitoring des Krankheitsverlaufes oder des Erfolges einer Pharmakotherapie dienen können. Speziell in Bezug auf die Fingerpolyarthrose konnten bisher keine Marker identifiziert werden. Schwierigkeiten ergeben sich vor allem in der Gewinnung der Marker. Gelenkpunktionen zur Asservierung von Synovialflüssigkeit aus den sehr kleinen Gelenken sind technisch nur schwer durchführbar. Ebenso ist der Erhalt von Knorpelfragmenten der Hand- und Fingergelenke zur Zellkultur nur erschwert möglich, da operative Eingriffe häufig nur am Daumensattelgelenk durchgeführt werden und die Menge des verfügbaren Knorpels hier nur sehr gering ist. Bei der Gewinnung der Biomarker aus dem Serum oder Vollblut ergeben sich Schwierigkeiten vor allem in der Zuordnung der Herkunft der Biomarker. Die messbaren Biomarker im Blut können aus allen Gelenken des Körpers stammen. Des Weiteren liegen die Konzentrationen der bisher bekannten Biomarker häufig an deren Nachweisgrenze.

In der aktuellen Literatur finden sich mehrere *in vitro*- und *in vivo*- Studien, die sich mit der Identifizierung von Biomarkern der OA beschäftigen (Bauer et al., 2006; Kraus 2005; van Spil et al., 2010, Garnero, 2007; Sharif et al., 2006; Mazières et al., 2006). Weit weniger Studien befassen sich mit Biomarkern der Fingerpolyarthrose (Chen et al., 2008; Pantsulaia et al., 2010; Kalichman et al., 2011, Ramonda et al., 2013). Der Ansatz, Biomarker durch eine Gelenk-Mobilisation oder -Belastung messbar zu machen, ist neu. So konnte eine Untersuchung, mit allerdings nur 4 Versuchspersonen zeigen, dass nach Gelenkmobilisation bei Patienten mit einer RA die Konzentrationen von Hyaluronsäure im Blut anstieg (Sarri et al., 1991). Eine weitere Studie mit 10 Versuchspersonen lässt vermuten, dass die Änderung der COMP-Konzentration nach Belastung der Kniegelenke Vorhersagen in Bezug auf die Knorpeldicke bei Kniearthrose ermöglichen kann (Erhard-Hledik et al., 2012). Studien zur Fingerpolyarthrose gibt es in diesem Zusammenhang bisher nicht.

Der Grundgedanke dieser Pilotstudie war es, eine Möglichkeit zu finden, um potentielle Biomarker der Handarthrose im Serum von Patientinnen im Vergleich zu gleichaltrigen gesunden Probandinnen messbar zu machen. Daraus resultierte die Hypothese, dass durch Belastung der betroffenen Hand, beziehungsweise mehrfachen Kraftschluss der Index-Hand, die potentiellen Marker in erhöhten Konzentrationen im venösen Blut des gleichseitigen Unterarms messbar gemacht werden können. Somit sollte gezeigt werden, dass die nachgewiesenen Marker auch tatsächlich aus den betroffenen Hand- und Fingergelenken stammen. Da dieser experimentelle Ansatz bisher noch nicht untersucht worden ist, war es zunächst auch unklar, in welchem Zeitraum nach wiederholtem Kraftschluss der Indexhand die Blutentnahme erfolgen muss, um die Marker zu bestimmen. Daher wurde in dieser Studie ein Beobachtungszeitraum von einer Stunde nach Belastung der Fingergelenke gewählt, um einen optimalen Zeitpunkt zur Blutentnahme finden zu können. Evaluiert wurden in unserer Studie Biomarker, die bereits im Rahmen einer Gonarthrose untersucht wurden (COMP, CPII, PIIANP, CS 846, YKL-40) sowie Biomarker, zu denen es bisher kaum Erkenntnisse in der OA-Forschung gibt (NGAL, sVCAM-1, IL-15). Ein weiterer wichtiger Aspekt dieser Studie war es zu prüfen, inwiefern die Biomarker-Level mit den zurzeit zur Verfügung stehenden klinischen (AUSCAN™, HAQ, VAS) und radiologischen Scores (Kellgren-Lawrence-Score, Kallman-Score) korrelieren. Als ergänzende Untersuchung wurde die kurzfristige Wirkstärke einer oralen Pharmakotherapie mit Ibuprofen bei Fingerpolyarthrose untersucht.

Im Folgenden werden nun zunächst das Studiendesign und anschließend die Ergebnisse der vorliegenden Pilotstudie diskutiert.

## 5.1 Methodik

**Das Studiendesign:** Die vorliegende Studie zeichnet sich durch ein klar definiertes Studiendesign aus. Somit sollte versucht werden, mögliche Einflüsse auf die Ergebnisse der Studie sowie auf die Biomarker-Konzentrationen gering zu halten.

Das in unserer Studie untersuchte Kollektiv bestand ausschließlich aus Frauen. Dabei sollte zum einen nur das Geschlecht mit der höheren Prävalenz der Fingerpolyarthrose untersucht und zum anderen geschlechtsspezifische Einflussfaktoren, wie zum Beispiel der Östrogenspiegel (Spector et al., 1989), auf die Ergebnisse ausgeschlossen werden. Um genaue valide Ergebnisse zu erhalten, bestand das Kontrollkollektiv aus zwei Kohorten. Dabei dienten die prämenopausalen Probandinnen als junge, gesunde „Negativ“-Kontrollen. Die postmenopausalen Probandinnen wurden als gleichaltrige

Kontrollgruppe herangezogen, damit altersabhängige Vergleiche möglich und gegebenenfalls Unterschiede mit dem Patientinnen-Kollektiv erkennbar wurden. Schwierigkeiten ergaben sich in der Rekrutierung der RA-Kohorte, die als sogenannte „Positiv“-Kontrolle dienen sollte. Laut Studienprotokoll schlossen wir nur RA-Patientinnen in unserer Studie ein, die neu an einer RA erkrankt waren und bis zur Studienteilnahme noch keine Therapien erhalten hatten. Es konnten im gesamten Versuchszeitraum nur 5 anstatt der geplanten 12 Patientinnen eingeschlossen werden. Da die Anzahl der rekrutierten Patientinnen nun zu klein war, um statistisch verwertbare Aussagen treffen zu können, wurden die 5 RA-Patientinnen nicht weiter in die Auswertungen mit einbezogen und die Daten dienten somit nur zur Orientierung.

Um andere Faktoren, die bekanntermaßen Auswirkungen auf die Biomarker-Konzentrationen haben und somit potentiell die Studien-Ergebnisse verfälschen würden auszuschließen, waren bestimmte Medikamente verboten (siehe auch Kapitel 3.2.2). Des Weiteren wurden nur Patienten in die Studie eingeschlossen, die einen BMI von 18-30 kg/m<sup>2</sup> aufwiesen, da ein BMI über 30 kg/m<sup>2</sup> ein weiterer Risikofaktor für die Entstehung einer Arthrose weiterer Gelenke ist und damit auch potentiell die Biomarker-Level im Serum beeinflusst hätten (siehe auch Kapitel, 1.4.2; Dahagin et al., 2007, Ding, 2008, Visser et al., 2014).

Insgesamt konnten letztendlich für die vorliegende Pilotstudie 53 Versuchspersonen mit den vorliegenden Ein- und Ausschlusskriterien rekrutiert werden.

**Die Biomarker-Gewinnung und -Analyse:** In der Literatur finden sich bisher keine Versuchsansätze, die unserer Studie ähneln. Des Weiteren gab es keinen Anhalt, inwiefern durch Belastung die Biomarker in erhöhtem Maße freigesetzt werden. Somit ist der hier angewandte Studien-Ansatz neu. Es gibt einige Studien, die über die Biomarker-Liberation nach Bewegung der Gelenke berichten. Allerdings beziehen sich diese Studien auf die großen Gelenke wie Hüft- oder Kniegelenk. So konnte die Arbeitsgruppe um Andersson zeigen, dass die COMP-Spiegel im Blut bei Patienten mit einer Gonarthrose nach 60 Minuten Bewegung deutlich ansteigen und anschließend wieder abfallen (Andersson et al., 2006a). Eine weitere Arbeitsgruppe berichtet, dass die Serumkonzentrationen der Biomarker CS846, CPII, und C1,2C nach ausreichender Bewegung von Pferden mit einer OA deutlich ansteigen (Frisbie et al., 2008). Vereinzelt finden sich Ergebnisse zu Studien in diesem Bereich als Poster auf Kongressen (Erhardt-Hledrik et al., 2012), wobei Studien zur Biomarker-Liberation nach Belastung der Hand- und Fingergelenke fehlen.

Um eine standardisierte Belastung der Hand- und Fingergelenke zu erreichen, wählten wir eine auf 30 mm Hg aufgepumpte Blutdruckmanschette. Diese wurde von den

Patienten über 30 Sekunden 20-mal kräftig zusammengedrückt. Davor und anschließend erfolgte die venöse Blutentnahme am Unterarm der Indexhand. Damit sollte versucht werden, die Biomarker aus den kleinen Fingergelenken gegenüber dem „Hintergrundrauschen“ der Biomarker aus den anderen Gelenken detektieren zu können.

Wir wählten Serum zum Nachweis der Biomarker, da Serum sich sehr gut eignet, um einen aktuellen Stoffwechszustand im menschlichen Körper und somit auch pathologische Stoffwechszvorgänge zu verfolgen. Serum lässt sich leicht und kostengünstig mit einer venösen Blutentnahme und anschließender Zentrifugation gewinnen. Auch ist keine Punktion der sehr kleinen Gelenke oder eine operative Knorpelgewinnung notwendig. Das Risiko eines Schadens durch eine Blutentnahme und Serumgewinnung ist somit für den Patienten sehr klein.

Die Blutentnahme erfolgte morgens zu einer definierten Uhrzeit um den Einfluss einer möglichen zirkadianen Rhythmik der Biomarker-Spiegel, wie bereits von anderen Studien untersucht (Kong et al., 2006; Andersson et al., 2006b; Johansen et al., 2008), ausschließen zu können.

Weiterhin war unklar, in welchem Zeitraum die Biomarker in erhöhter Konzentration im Blut des jeweiligen Unterarms der Indexhände messbar sind. Somit wählten wir verschiedene Zeitpunkte zur Blutentnahme, um den Biomarker-Peak ausfindig machen zu können. Die ersten Ergebnisse der ELISAs zeigten, dass alle Marker im venösen Blut des jeweiligen Arms vor und nach Belastung messbar waren. Die Biomarker CPII, C1,2C, COMP, sVCAM-1, IL-15, NGAL und PIIANP zeigten alle einen statistisch nachweisbaren Anstieg der Konzentrationen nach Belastung im venösen Blut. Für die Marker CS 846 und YKL-40 konnte kein Anstieg oder Abfall der Konzentrationen im Blut in den Vorversuchen nachgewiesen werden. Daher wurden diese beiden Biomarker in den weiteren Versuchen nicht weiter untersucht. Im Verlauf der Studie zeigte sich, dass der Peak der Biomarker-Konzentrationen innerhalb von 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke lag. Daher wurden in den folgenden Analysen die Zeitpunkte 30 und 60 Minuten der jeweiligen Blutentnahmen nicht weiter in die statistische Berechnung einbezogen.

Es konnte kein gemeinsamer Zeitpunkt für das Anfluten aller hier untersuchten Biomarker gefunden werden. Als Ursache könnte zum einen die unterschiedlichen Moleküleigenschaften der einzelnen Biomarker und somit die unterschiedliche „Clearance“ aus den Gelenken sein. Es gibt keine Studien in der aktuellen Literatur die

zeigen, wie lange der Abtransport dieser Biomarker über die Lymphbahnen und das periphere Blut dauert und inwiefern der Abtransport bei allen Biomarkern gleich schnell verläuft. Zum Anderen kam es im Rahmen der Gewinnung der Blutproben bei einigen Patientinnen oder Probandinnen zu einer Verzögerung von bis zu 30 Sekunden, da die verwendete Venenverweilkanüle verstopfte und somit eine erneute Punktion der Vene erfolgen musste. Um trotzdem Ergebnisse für die Biomarker-Bestimmung zu erhalten, wurden in den folgenden statistischen Berechnungen die Differenz zwischen der maximalen Biomarker-Konzentration innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und der Ausgangskonzentration vor Belastung verwendet. So konnte gewährleistet werden, dass der Peak auf jeden Fall erfasst werden konnte, auch wenn es keinen gemeinsamen Zeitpunkt für das Anfluten der Biomarker im Blut in unserer Studie gab.

Die Blutproben wurden mit kommerziell erhältlichen ELISA-Kits auf die möglichen Biomarker untersucht. Dabei weisen die verwendeten Kits eine gute Validität und Sensitivität auf und wurden streng nach den Vorgaben der jeweiligen Hersteller angewendet. Die Analyse der IL-15-Konzentration war in unserer Studie etwas erschwert, da die gemessenen Konzentrationen zum Teil nahe der Nachweisgrenze des Assays in Höhe von 2 pg/ml oder darunter lagen. Dies lässt vermuten, dass durch die Gelenkmobilisation nur geringe Konzentrationen an IL-15 in das periphere Blut abgegeben werden und somit kaum messbar sind.

**Erosive und nicht erosive OA:** In der Literatur wird im Rahmen der Biomarker-Forschung die Hand-OA häufig noch in erosive Osteoarthritis (EOA) sowie in nicht erosive Osteoarthritis (Non-EOA) unterteilt (Filková et al., 2009; Silvestri et al., 2004; Punzi et al., 2005; Rovetta et al., 2003). Dabei wird die EOA als eine schnell progressive und hochakute Form der Hand-OA mit Zeichen der Gelenkinflammation und deutlich radiologisch nachweisbarer Gelenkzerstörung (Erosionen in mehr als 2 Gelenken) charakterisiert (Punzi et al., 2004, Anandarajah, 2010). Hauptsächlich postmenopausale Frauen sind betroffen (Greenspan et al., 2003). Der genaue Stellenwert einer EOA im Rahmen der OA ist noch nicht geklärt. Viele Autoren deklarieren die EOA als eine Sonderform der OA. Im Gegensatz dazu sehen manche Autoren die EOA als eine aktive Phase im Rahmen der Pathogenese der Hand-OA. Viele Biomarker-Studien unterscheiden somit die OA in die oben genannten Subgruppen. So konnte eine Studie zeigen, dass Patienten mit einer EOA signifikant höhere CRP Spiegel im Blut aufwiesen als Patienten mit einer Non-EOA ( $p = 0,001$ ; Punzi et al., 2005). Dies unterstützt die Vermutung, dass eine EOA mit einer vermehrten Inflammation im Bereich der Gelenke

einhergeht als eine Non-EOA. Filková et al. konnten nachweisen, dass erhöhte Adiponectin-Spiegel, welches von Fettzellen gebildet wird, signifikant häufiger bei EOA als bei Non-EOA auftraten (Filková et al., 2009). Allerdings konnte die gleiche Arbeitsgruppe keine Korrelation der Adiponectin-Spiegel mit dem BMI aufzeigen (Filková et al., 2009). Eine weitere Arbeitsgruppe konnte keine Unterschiede in Bezug auf die Biomarker-Level von C1,2C und CS 846 zwischen der EOA und Non-EOA-Gruppe aufzeigen (Silvestri et al., 2004). Die Arbeitsgruppe um Rovetta et al., konnte signifikant erhöhte CTX-I-Spiegel bei der EOA-Gruppe im Vergleich zur Non-EOA-Gruppe nachweisen (Rovetta et al., 2003).

Da es sich bei unserer Studie um eine explorative Studie handelt und die Ergebnisse initial nicht absehbar waren, die statistischen Fallzahlberechnungen und das Studiendesign nicht auf eine solche Subgruppenanalyse ausgelegt war, wurde im Rahmen unserer Studie auf eine Subgruppenanalyse in Bezug auf EOA vs. Non-EOA verzichtet. Es wiesen 11 von 24 OA-Patientinnen in mindestens einem Gelenk der Hand- oder Fingergelenke eine EOA auf.

**Weitere Laboruntersuchungen:** Um mögliche Einflüsse durch die Lagerung, durch heterophile Antikörper oder mehrfaches Auftauen einer gleichen Blutprobe zu bestimmen, wurden weitere Vorversuche durchgeführt (siehe Kapitel 3.2.5 – Kapitel 3.2.7).

Einige der hier untersuchten Blutproben wurden zum Teil über 11 Monate bei -86 °C eingefroren und gelagert. Daher wurde mit dem Lagerungsversuch (siehe Kapitel 3.2.5) der Einfluss der Lagerungsdauer auf die Biomarker-Konzentrationen untersucht. Bei den Biomarkern COMP, sVCAM-1 und PIIANP konnte eine signifikante Änderung der Konzentration nach 11 Monaten Lagerung aufgezeigt werden (COMP -20,2%, sVCAM-1 +11,7%, PIIANP +47,9%; siehe auch Kapitel 4.2.1). Somit könnten die Konzentrationen dieser Biomarker durch die Lagerungsdauer beeinflusst worden sein. Da allerdings die Kontrollen jeweils zeitgleich untersucht wurden, ist eine Beeinflussung der Ergebnisse sehr unwahrscheinlich.

Bei einigen Patienten konnte aus technischen Gründen manchmal nicht genug Serum pro definiertem Zeitpunkt für die Durchführung aller ELISAs gewonnen werden. Dementsprechend mussten einige wenige Serum-Aliquots, vor allem der RA-Patienten mehrfach aufgetaut und für die Biomarker-Analysen benutzt werden. Der Einfluss des wiederholten Auftauens und Einfrierens der Proben wurde deshalb anschließend ebenfalls untersucht. Dabei konnte für die Biomarker NGAL und IL-15 eine Änderung



der Konzentration nach zweimaligen Auftauen nachgewiesen werden (NGAL +17,2% und 41,8%). Einen großen Einfluss auf die Ergebnisse der Biomarker-Konzentrationen nach Belastung hat allerdings in unserer Studie nicht stattgefunden, da nur 5 Proben zur Testung von heterophilen Antikörperbestimmungen zweimalig aufgetaut werden mussten: Zwei Proben der RA-Patientinnen (RA1, RA2) und 3 Proben der OA-Patientinnen (B5, B8, H5). Des Weiteren wurden weitere drei Proben für die Bestimmung von NGAL in den Hauptversuchen zweimalig aufgetaut. Hierbei handelte es sich um zwei Blutproben der RA-Patientinnen und um eine Probe einer postmenopausalen Kontrolle. Zur Bestimmung der IL-15-Konzentrationen in den Hauptversuchen wurden keine Proben mehrfach aufgetaut, daher ist hier eine Beeinflussung definitiv ausgeschlossen.

Zusätzlich wollten wir einen möglichen Einfluss von heterophilen Antikörpern auf die Biomarker-Level, der mittels Sandwich-ELISA-Technik untersuchten Marker (IL-15, sVCAM-1 und NGAL) erfassen. In der Literatur findet man immer häufiger Berichte über falsch-positive oder falsch-negative Ergebnisse in Immunoassays. Diese falschen Ergebnisse werden zum Teil durch heterophile Antikörper verursacht. Die Angaben über die Prävalenz der heterophilen Antikörper sind sehr verschieden. Die Werte variieren von bis zu 40% in der Bevölkerung (Boscato et Stuart, 1986), aber auch Werte im Bereich von 3,4% (Ward et al., 1997) wurde beschrieben. Beispiele für Immunoassays, bei denen es zu nachweisbaren Interferenzen gekommen ist, sind humanes Choriongonadotropin (hCG, z.B.: Rotmensch et al., 2000), Follikel-stimulierendes Hormon (FSH, Berglund et al., 1989), Thyreoidea-stimulierendes Hormon (TSH, z.B.: Barlett et al., 1986), Cancer Antigen 125 (CA 125, Boerman et al., 1990), Kreatin-Kinase Muskel/Gehirn, (CK-MB, Sosolik et al., 1997). Vor allem ELISAs, die nach dem Sandwich-Prinzip ablaufen, sind von diesen Interaktionen betroffen (Boscato et Stuart, 1986; Henning et al., 2000; Hunter et Budd, 1980). Die heterophilen Antikörper können zum Beispiel zur Brückenbildung zwischen dem Capture-Antibody und dem Detection-Antibody führen, ohne die Gegenwart des gesuchten Analyten (Nahm et Hoffman, 1990) und somit ein falsch-positives Assay-Ergebnis vortäuschen. Alternativ können sie die Capture- oder Detection-Antibodies blockieren und somit ein falsch negatives Assay-Resultat ergeben (Kricka, 1999). Es gibt verschiedene Moleküle im Blut, die zu solchen Interferenzen führen können, so zum Beispiel Serum-Proteine wie Rheuma-Faktoren oder Bindungsproteine (Krahn et al., 1999; Berth et al., 2006), insbesondere Anti-Tier-Antikörper (Kricka, 1999) und viele weitere (Selby, 1999). Daher wurden in der vorliegenden Studie die Serumproben, die mittels Sandwich-ELISA-Technik analysiert wurden (NGAL, IL-15, sVCAM-1) in einem zusätzlichen Versuch mit einem speziellen

Reagenz (HBT®) behandelt, welches zur Inaktivierung eventuell vorhandener heterophiler Antikörper führt.

Dabei konnte eine mögliche Beeinflussung der Proben durch heterophile Antikörper für NGAL und sVCAM-1 ausgeschlossen werden. Bei IL-15 könnten die Ergebnisse durch potentiell vorhandene heterophile Antikörper beeinflusst worden sein. Allerdings lagen die Ergebnisse von IL-15 insgesamt sehr nahe an der Nachweisgrenze von 2 pg/ml, sodass nicht sicher ein Einfluss ausgeschlossen oder bewiesen werden kann. Wie bereits oben erwähnt, wurden 5 Proben zur Testung von heterophilen Antikörperbestimmungen zweimalig aufgetaut. Im Rückblick kann nicht erklärt werden, ob die Ergebnisse dieses Versuches bei dem Biomarker IL-15 durch das Vorhandensein von heterophilen Antikörpern verfälscht oder ob umgekehrt die Ergebnisse des Versuchs zum Ausschluss einer heterophilen Antikörperinterferenz durch die Konzentrationsänderung durch mehrfaches Auftauen und Einfrieren beeinflusst wurden. In zukünftigen Studien müsste die Beeinflussung von IL-15 in Blutproben durch die heterophilen Antikörper weiter untersucht werden.

**Die Röntgenbilder und die radiologischen Scores:** In der vorliegenden Studie wurden aus ethisch-rechtlichen Gründen nur indikationsbedingte, nativradiologische Röntgenaufnahmen der Indexhände der Patientinnen in 2 Ebenen angefertigt. Röntgenbilder der Kontrollen oder von anderen Gelenken, konnten daher nicht durchgeführt werden. Somit konnten degenerative Veränderungen der Indexhände der Kontrollgruppen nicht ausgeschlossen werden. Die Diagnoseerhebung basierte in unserer Studie auf den American College of Rheumatology-Kriterien der Hand-OA, die sich auf die klinische Symptomatik der Patienten stützen. Die Röntgenbilder dienten somit nur als additives Verfahren zur genauen Beurteilung des Ausmaßes der OA der Hand- und Fingergelenke bei den OA-Patientinnen. Die Probandinnen der Kontrollgruppen verneinten im Rahmen der Anamneseerhebung und zeigten auch in der körperlichen Untersuchung durch unseren Prüfarzt Dr. med. Käßer keinerlei Symptome für eine OA.

Die Durchführung von Röntgenbildern ist schnell, kosteneffizient, relativ strahlungsarm und ist fast überall verfügbar. Die Röntgendiagnostik ist noch immer der Goldstandard zur Diagnosestellung degenerativer Gelenkerkrankungen. Auch können Röntgenbilder gut zu unterschiedlichen Zeitpunkten mit eventuellen Voraufnahmen verglichen werden, um die Krankheitsprogression bzw. den Krankheitsverlauf besser aufzeigen zu können. Auf weitere bildgebende Verfahren, wie Magnetresonanztomographie, Ultraschall oder Computertomographie wurde verzichtet.

In der aktuellen Literatur finden sich einige Scores zur Beurteilung der OA der Hand- und Fingergelenke (Kellgren und Lawrence, 1957; Kallman et al. 1989; Altman et al., 1990 und 2007; Verbruggen und Veys, 1995 und 1996, Burnett et al., 1994). Zur Evaluation der nativradiologischen Veränderungen der Indexhände der OA-Patientinnen verwendeten wir den Score nach Kellgren und Lawrence (Kellgren und Lawrence, 1957; modifiziert nach Dahaghin et al., 2005) und den Score nach Kallman (Kallman et al., 1989), um das Ausmaß der OA in den jeweiligen Gelenken zu evaluieren.

Der Score nach Kellgren und Lawrence (Kellgren und Lawrence, 1957; modifiziert nach Dahaghin et al., 2005) findet seit vielen Jahren mit ca. 80 % eine breite Anwendung in klinischen Studien (Marshall et al., 2008). In diesen Score fließen wichtige, zum Teil indirekte Kennzeichen einer OA in einen Gesamtscore ein: Gelenkspaltverschmälerung als Ausdruck der verminderten Knorpelmasse, Osteophyten als Kennzeichen einer Reaktion aufgrund einer veränderten Druck- und Stoßbelastung innerhalb des Gelenkes, sowie die Sklerosierung und Bildung von Zysten des subchondralen Knochens. Jedoch liegt bei Kellgren und Lawrence der Fokus auf der Ausprägung der Osteophyten (Spector et al., 1993) und weniger auf Sklerosierung und Gelenkspaltverschmälerung. Dies hat zur Folge, dass Patienten mit einer Hand-OA ohne das Vorhandensein von Osteophyten, aber mit einer Gelenkspaltverschmälerung nach dem Kellgren-Lawrence-Score, nicht als OA-Patienten eingestuft werden können (Kallman et al., 1989; Kijowski et al., 2006). Die einzelnen radiologischen OA-Kennzeichen werden hierbei nicht separat beurteilt, sondern es wird ein globaler Score pro Gelenk gebildet. Vorteilhaft ist, dass die Auswertung der Röntgenbilder mit Hilfe des Scores nach Kellgren und Lawrence nur relativ wenig Zeit in Anspruch nimmt (Marshall et al., 2008; Maheu et al., 2007).

Der Score nach Kallman (Kallman et al., 1989) ist etwas präziser und die einzelnen radiologischen Kennzeichen einer OA werden jeweils separat voneinander evaluiert: Osteophyten, Gelenkspaltverschmälerung, Zysten im subchondralen Knochen, Sklerosierung des subchondralen Knochens, Zerstörung des zentralen Gelenks und seitliche Gelenkdeformierung. Somit liefert der Score nach Kallman eine präzise Beschreibung der jeweiligen OA-Veränderungen. Auch zeigt die Methode nach Kallman eine gute Reproduzierbarkeit (Hart et al., 2000). Jedoch benötigt man aufgrund der präzisen Beschreibungen des Scores deutlicher mehr Zeit zur Beurteilung der jeweiligen Gelenke (Maheu et al., 2007).

Beide Methoden zeigen ein hohes Maß an Zuverlässigkeit (Maheu et al., 2007, Bijsterbosch et al., 2011). Demnach war mit Hilfe dieser beiden Methoden eine genaue Beurteilung der jeweiligen Gelenke der Hand- und Fingergelenke möglich.

Die Röntgenbilder der RA-Patientinnen wurden mit Hilfe der Scores nach Sharp modifiziert nach van der Heijde (van der Heijde, 1989 und 1996) und nach Larsen

(Larsen et al., 1997) ausgewertet. Normalerweise beziehen diese Scores auch Röntgenbilder der Füße mit ein. Dies wurde jedoch ebenfalls aus ethisch-rechtlichen Gründen nicht durchgeführt. Anhand der Auswertung der Röntgenbilder der Indexhände der RA-Patientinnen war gut zu erkennen, dass die Einschlusskriterien genau eingehalten wurden. Es konnten nur 5 RA-Patientinnen im Frühstadium der RA rekrutiert werden. Nativradiologische Veränderungen der Indexhände waren anhand der verwendeten Scores (Larson-Score und der nach van der Heijde modifizierte Sharp-Score) noch nicht nachweisbar. Da die RA-Patientinnen aufgrund der schlechten Rekrutierung nicht weiter in dieser Studie untersucht wurden, ergaben sich hier keine Einflüsse auf die Studienergebnisse.

Nach Auswertung der nativradiologischen Röntgenaufnahmen der Indexhände der OA-Patientinnen fiel auf, dass es nach radiologischen Kriterien kaum Unterschiede in Bezug auf die klinische Einteilung in mehr Heberden- oder mehr Bouchard-betonte Fingerpolyarthrosen gab. Daher wurden beide Gruppen fortan als eine gemeinsame OA-Gruppe ausgewertet.

**Die klinischen Scores:** Zur Objektivierung der Beschwerden der Patientinnen und Probandinnen wurden der Australian/Canadian Hand Osteoarthritis Index (AUSCAN™), der Health Assessment Questionnaire (HAQ), die visuelle Analogskala für Schmerz (VAS-Schmerz) die visuelle Analogskala für Ästhetik (VAS-Ästhetik) und die Morgensteifigkeit in Minuten angewendet. Die Versuchspersonen sollten eigenständig die Fragebögen ausfüllen, um eine Beeinflussung z. B. durch den Prüfarzt zu vermeiden. Die hier verwendeten klinischen Scores finden häufig eine Anwendung in Studien sowie in der klinischen Patientenversorgung. Sie waren alle leicht durchführbar, weisen eine gute Validität und Sensitivität auf (Bellamy et al., 2002b). Des Weiteren war es mit Hilfe der Tests möglich, auch kurzfristige Änderungen der Beschwerden zu erfassen. Die visuelle Analogskala sowie der HAQ sind kostenfrei und für jeden gut zugänglich. Im Gegensatz dazu muss der AUSCAN™ direkt bei Prof. Bellamy kostenpflichtig erworben werden.

## 5.2 Diskussion der Studienergebnisse

Unsere Studie konnte erstmalig zuvor nicht nachweisbare Biomarker der Fingerpolyarthrose erst durch eine rein mechanische Belastung der Hand- und Fingergelenke im peripheren venösen Blut in erhöhten Konzentrationen quantifizieren. Viele Biomarker-Studien im Bereich der OA-Forschung konzentrieren sich auf Arthrosen

der großen Gelenke. Die Biomarker sind natürlich aufgrund der größeren Gelenkfläche in den großen Gelenken leichter nachweisbar. Auch Knorpelstudien im Bereich der Hüft- und Kniegelenke sind aufgrund der leichteren Gewinnung der Proben besser durchführbar als im Bereich der deutlich kleineren Hand- und Fingergelenke. Viele Ergebnisse werden daher von den großen auf die kleinen Gelenke übertragen. Unser Ansatz, Biomarker-Level nach Belastung der von OA betroffenen Hand- und Fingergelenken bei Patientinnen im Unterschied zu gesunden Kontrollgruppen und nach mechanischer Belastung messbar zu machen, ist neu. Wir konnten zeigen, dass diese rein mechanisch bedingte Förderung des Abtransports der Biomarker aus den Gelenken der Finger und Hand über die Lymphgefäße in das venöse Blut somit auch die Identifizierung zuvor nicht nachweisbarer Serummarker ermöglicht.

Wir konnten für fast alle Biomarker, bis auf CS 846, YKL-40 und C1,2C einen Anstieg der Konzentrationen nach Belastung der Hand- und Fingergelenke im venösen Blut nachweisen. Für die Biomarker PIIANP und CPII, beides Knorpelsynthese-Parameter, konnten signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen evaluierten Kohorten aufgezeigt werden (s.u.).

Ein Vergleich der in anderen Studien ermittelten Biomarker-Konzentrationen mit den von uns hier bestimmten Konzentrationen war aufgrund des vorliegenden Studiendesigns nicht möglich, da in unserer Studie alle weiteren Berechnungen mit den Differenzen der Konzentrationen nach und vor Belastung im Serum durchgeführt wurden und nicht mit den absoluten Biomarker-Konzentrationen.

Im Folgenden wird auf die Ergebnisse der untersuchten Parameter separat eingegangen. Die dazugehörigen Studien sind zur besseren Übersicht in Tabellen (Tabelle 7 und Tabelle 8) zusammengefasst.

**Ergebnisse der Biomarker-Analysen mittels ELISA:** Wir konnten für die Biomarker COMP, PIIANP, CPII, IL-15, sVCAM-1 sowie NGAL in allen Kohorten einen signifikanten Anstieg der Konzentrationen nach Belastung der Hand- und Fingergelenke der Indexhand nachweisen. Darüber hinaus fiel der Konzentrationsanstieg nach Belastung im Blut von PIIANP, einem Knorpelsyntheseparameter, deutlich höher in der OA-Gruppe aus als in den beiden untersuchten Kontrollgruppen. Für CPII, ebenfalls ein Knorpelsyntheseparameter, fiel der Anstieg in der Post- und in der OA-Gruppe deutlich höher aus als in der Prä-Kohorte.

Dies deckt sich mit ähnlichen Ergebnissen von Studien aus der aktuellen Literatur (COMP: Andersson et al., 2006 a; Mündermann et al.: 2005, Neidhart et al.; 2000; PIIANP: Sharif et al., 2007; Garnero et al., 2002; CPII: Frisbie et al., 2008, siehe Tabelle 7). Zu beachten ist, dass der von uns initiierte Studienaufbau in keiner der oben aufgeführten Studien verwendet wurde. So untersuchten Andersson et al. die COMP-Spiegel nur bei OA-Patienten, eine gesunde Kontrollgruppe zum Vergleich fehlte (Andersson et al., 2006a). Die Arbeitsgruppe um Mündermann et al. hingegen untersucht die COMP-Konzentration nur bei gesunden Probanden (Mündermann et al., 2005). Sharif et al. und Garnero et al. evaluierten hingegen nur Patienten mit einer Gonarthrose (Garnero et al., 2002 und Sharif et al., 2007). Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen stehen die Studienergebnisse von Rousseau et al., die deutlich erniedrigte PIIANP-Spiegel bei Patienten mit einer fortgeschrittenen Gonarthrose aufzeigen konnten (Rousseau et al., 2004). Chen et al. fanden erhöhte COMP-Spiegel bei Patienten mit einer symptomatischen Fingerpolyarthrose im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe (Chen et al., 2008). Allerdings waren die COMP-Spiegel bei Patienten mit einer anderen OA-Manifestation ebenfalls im Serum erhöht, sodass nicht abschließend geklärt werden kann, ob andere Gelenke ursächlich oder mitverantwortlich für die erhöhten COMP-Spiegel in dieser Studie waren. Die gleiche Arbeitsgruppe konnte im Gegensatz zu uns deutlich erniedrigte PIIANP-Spiegel bei Patienten mit einer Fingerpolyarthrose im Vergleich zu gesunden Kontrollen aufzeigen (Chen et al., 2008). In dieser Studie wurden Biomarker-Spiegel mit nur einer Blutentnahme und ohne vorherige Belastung der Hand- und Fingergelenke ermittelt, es fand also keine belastungsinduzierte Messung der Biomarker-Spiegel statt. Es finden sich keinerlei Studien, die die Biomarker IL-15, sVCAM-1 und NGAL im Rahmen der Fingerpolyarthrose untersuchten.

Einige Studien liegen vor, die die Konzentrationsverläufe von Biomarkern nach Belastung anderer Gelenke ermittelten (Frisbie et al. 2008, Andersson et al., 2006; Mündermann et al. 2005 und Neidhart et al., 2000). So fanden Frisbie et al. einen Anstieg der CPII-Konzentration im Serum sowie in der Synovialflüssigkeit von Carpalgelenken bei Pferden nach einem mehrtägigen Ausdauertraining (Frisbie et al. 2008). Andere Studien (Andersson et al., 2006; Mündermann et al. 2005 und Neidhart et al., 2000) konnten die maximale Konzentration von COMP frühestens 30 Minuten nach Belastung der großen Gelenke ermitteln. Das von uns verwendete präzise Studiendesign mit genau definierten Blutentnahmezeitpunkten (direkt nach Belastung und nach 2, 5, 10, 15, 30, 45 und 60 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke) trug dazu bei, dass eine engmaschige Biomarker-Bestimmung direkt nach Belastung der Hand- und Fingergelenke ermöglicht wurde. So konnten wir zeigen, dass die Biomarker-Peaks

früher als in den oben aufgeführten Studien (Andersson et al., 2006a; Mündermann et al., 2005; Neidhart et al., 2000), also innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung, auftreten. Somit erfasste unsere Studie den Biomarker-Peak deutlich genauer. Auch wurde in den oben genannten Studien der Blutentnahmeort nicht genau definiert. Daher wäre es denkbar, dass die Biomarker aus den großen Gelenken zunächst durch den Blutkreislauf transportiert werden müssen, um im gesamten venösen Blut des Körpers nachweisbar zu werden. Im Rahmen unserer Studie erfolgte die Biomarkermessung direkt im venösen Abstromgebiet der jeweiligen Indexhand. Studien, die die Biomarker-Spiegel von PIIANP, IL-15, sVCAM-1 und NGAL über einen definierten Zeitraum nach Belastung untersuchen, liegen aktuell nicht vor.

Der Biomarker C1,2C zeigte in keiner Kohorte einen Konzentrationsanstieg im Serum nach Belastung. Möglicherweise benötigt die Clearance von C1,2C deutlich länger als bei den anderen, hier untersuchten Biomarkern. Auch wäre denkbar, dass der Biomarker C1,2C in zu geringen Konzentrationen aus den Hand- und Fingergelenke ins periphere Blut freigesetzt wurde und somit mit unserem Versuchsaufbau somit nicht messbar war.

Auch die Biomarker YKL-40 und CS846 zeigten keinen Anstieg der Konzentrationen nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und wurden bereits in den Vorversuchen ausgeschlossen. Allerdings stellte die Arbeitsgruppe um Frisbie et al. einen Anstieg der Konzentration von CS846 und C1,2C im Serum sowie in der Synovialflüssigkeit der Carpalgelenke bei Pferden nach 21 Tagen Ausdauertraining fest. Dieser Anstieg fiel in der OA-Gruppe deutlich höher aus als in der gesunden Kontrollgruppe (Frisbie et al., 2008). Möglicherweise waren in unserer Studie die Anzahl der untersuchten Proben innerhalb der Vorversuche zu gering, um zu einem ähnlichen Ergebnis zu kommen. Denkbar wären auch Unterschiede zwischen den einzelnen Spezies oder Gelenken.

Die erhöhten Biomarker-Spiegel nach Belastung der Hand- und Fingergelenke lassen sich mutmaßlich durch verschiedene Faktoren erklären. Zum einen scheint die aktive, forcierte Gelenkbewegung im Rahmen unseres Versuchsaufbaus und die damit verstärkt wirkenden Druck- und Scherkräfte im Knorpel die „Clearance“ der Biomarker zu erhöhen. Die Biomarker werden somit aktiv aus dem Gelenk „ausgemolken“. Des Weiteren wird durch die aktive Bewegung die Durchblutung der Hand- und Fingergelenke angeregt. Somit kommt es zu einem vermehrten Lymphabfluss aus den jeweiligen Gelenken. Dies ermöglicht es, die Marker in erhöhten Konzentrationen im peripheren Blut der Indexhände messbar zu machen. Daher scheint die bewusste Gelenkmobilisation zu einer erhöhten „Clearance“ der Synovia zu führen, wobei die

Biomarker vornehmlich über die Lymphgefäße zu den venösen Blutgefäßen abtransportiert werden.

Ursächlich für den deutlich größeren PIIANP- und CPII-Konzentrationsanstieg der OA-Gruppe im Vergleich zu den gesunden Kontrollen könnte das Entkoppeln von Knorpel-Synthese von der Knorpel-Degradation im Rahmen der OA-Pathogenese sein. So kann ein erhöhter PIIANP- oder CPII-Spiegel bei OA-Patientinnen auf die kompensatorische Up-Regulation von Knorpel-Reparaturmechanismen im Rahmen der OA deuten.

Infolgedessen würde der PIIANP-Spiegel bei den gesunden Probanden nur in geringerem Maße nach Belastung der Hand- und Fingergelenke ansteigen, da die Knorpelhomöostase noch intakt ist. Bei CPII konnten wir in der vorliegenden Studie allerdings keinen Unterschied zwischen der Post-Kontrollgruppe und den OA-Patientinnen finden.

Wir konnten durch die vorliegende Studie beweisen, dass durch eine forcierte Gelenkbewegung Biomarker der Hand- und Fingerpolyarthrose im peripheren Blut messbar gemacht werden können. Rückschlüsse auf den Gesamt-Knorpelstoffwechsel können jedoch mit unserem Studienaufbau nicht gezogen werden. Die Kombination der Biomarker CPII und PIIANP kann eine vielversprechende Kombination bieten. So könnten diese beiden Marker in weiteren Studien als Frühdiagnose-Marker der Fingerpolyarthrose dienen oder vielleicht sogar zur Unterscheidung zwischen gesunden und erkrankten OA-Patientinnen und -Patienten beitragen.

**Biomarker und radiologische Scores:** Wir konnten keine Zusammenhänge der Biomarker-Konzentration von PIIANP und CPII nach Belastung der Hand- und Fingergelenke mit den hier untersuchten radiologischen Scores aufzeigen. Ähnliche Ergebnisse fand auch die Arbeitsgruppe um Kim et al. und Pulsatelli et al. (Kim et al., 2014, Pulsatelli et al., 2013; siehe Tabelle 8). Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen von verschiedenen Arbeitsgruppen (Vilim et al., 2002; Hunter et al., 2007 und Kraus et al., 2010; Jansen et al., 2009; Rousseau et al., 2004; Cibere et al., 2009; Kalichman et al., 2011; Bakker et al., 2011; siehe Tabelle 8), die positive oder negative Korrelationen zwischen verschiedenen Biomarker-Spiegeln und der Krankheitsprogression bei Gonarthrose (Vilim et al., 2002), dem Verlust von Knorpel im Kniegelenk (Hunter et al., 2007), dem Ausbilden von Osteophyten (Kraus et al., 2010) oder der Gelenkspaltverschmälerung bei Hand-OA oder bei Knie, Schulter und Ellenbogengelenken bei Patienten mit einer hämophilen Arthropathie (Kraus et al., 2010 und Jansen et al., 2009) nachweisen konnten (siehe Tabelle 8). So fanden Rousseau et al. deutlich verminderte PIIANP-Konzentrationen bei OA-Patienten (Rousseau et al., 2004). Auch zeigten sich hohe C1,2C-Spiegel mit steigenden, radiologisch nachweis-



<b>Biomarker</b>	<b>Kollektiv</b>	<b>Untersuchte Parameter</b>	<b>Referenz</b>	<b>Ergebnisse</b>
<b>COMP</b> (Serum)	Gonarthrose-Patienten	COMP nach Belastung im Serum	Andersson et al., 2006a	COMP ↑
<b>COMP</b> (Serum)	Gesunde Probanden	COMP nach 30 Minuten-Lauf	Mündermann et al., 2005	COMP ↑
<b>COMP</b> (Serum)	Marathonläufer	COMP nach 30 km Lauf und in den nächsten 2 Tagen	Neidhart et al., 2000	COMP ↑ (fällt nach 24 Stunden )
<b>COMP, PIIANP</b> (Serum)	Eine sehr große Familie in den USA	Biomarker bei Hand-OA-Patienten und Kontrollen	Chen et al., 2008	PIIANP (Hand-OA): ↓ COMP (Hand-OA): ↑
<b>PIIANP</b> (Serum)	Gonarthrose-Patienten	PIIANP vor und nach 2, 3 und 5 Jahren mit den jeweiligen Röntgenbildern	Sharif et al., 2007	PIIANP korreliert mit der radiologischen OA-Progression
<b>PIIANP</b> (Serum)	Gonarthrose-Patienten	PIIANP vor und nach 1 Jahr, VAS-Schmerz und mit den Röntgenbildern	Garnero et al., 2002	PIIANP korreliert mit der radiologischen OA-Progression
<b>PIIANP</b> (Serum)	Gonarthrose-Patienten, RA-Patienten und gesunde Kontrollen	PIIANP Spiegel im Vergleich der Gruppen	Rousseau et al., 2004	PIIANP (OA, RA) ↓
<b>CPII, C1,2C, CS846</b> (Serum, SF)	Pferde mit und ohne OA (Carpalgelenke)	Biomarker nach mehrtägigem Ausdauertraining	Frisbie et al., 2008	CPII, C1,2C, CS846 ↑ (Anstieg bei OA- Gelenken größer)

**Tabelle 7:** Übersicht über die zitierten Biomarker-Studien zum Vergleich mit unseren Biomarker-Ergebnissen.

baren arthritischen Veränderungen (Odds ratio 2,07; Cibere et al., 2009). Die Arbeitsgruppe um Bakker fanden eine positive Korrelation von erhöhten C1,2C-Spiegeln mit der Krankheitsprogression bei RA ( $p = 0,004$ ; Bakker et al., 2011). Das Risiko von radiologisch nachweisbaren arthritischen Veränderungen sank mit hohen Serum-CPII-Spiegeln (Odds ratio 0,53, Cibere et al., 2009). Die Arbeitsgruppe um Kalichman et al. konnte eine positive Korrelation der sVCAM-1-Konzentrationen mit der Anzahl der von OA betroffenen Hand- und Fingergelenken aufzeigen (Kalichman et al., 2011).

Eine Beurteilung der Krankheitsprogression ist mithilfe unseres Studiendesigns nicht möglich, da diese nicht von uns untersucht wurde. Die vorliegende Studie evaluierte den „Ist-Zustand“. Es wurden keine Verlaufs-Röntgenaufnahmen der Indexhände angefertigt. Des Weiteren wurden in unserer Studie die kleinen Hand- und Fingergelenke untersucht. Denkbar wäre, dass die hier freigesetzten Biomarker in zu geringen Konzentrationen im Serum vorhanden waren, um in ausreichendem Maße für eine Korrelation mit den hier untersuchten radiologischen Scores dienen zu können. Weitere Vergleiche unserer Ergebnisse mit der aktuellen Literatur sind nur erschwert möglich, da wir die Differenz der Maximalkonzentrationen innerhalb der ersten 15 Minuten im Vergleich zu den Ausgangskonzentrationen vor Belastung untersuchten und nicht die Absolutwerte der Biomarker-Konzentrationen. Somit haben die kurzfristigen Biomarker-Konzentrationsänderungen im Rahmen einer Bewegung keinen messbaren Einfluss auf die nativradiologischen Scores oder umgekehrt.

In unserer Studie ergab sich für den Biomarker NGAL und IL-15 keine Korrelation mit den radiologischen Scores (Kellgren-Lawrence-Score und Kallman-Score). In der aktuellen Literatur finden sich keine Studien, die den Zusammenhang von NGAL oder IL-15 bei Patienten mit einer Hand-OA und den hier untersuchten radiologischen Scores evaluierten. Die Arbeitsgruppe um Sun et al. konnte allerdings im Rahmen der Gonarthrose ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen den Serumkonzentrationen von IL-15 und dem Kellgren-Lawrence-Score (Sun et al., 2013) nachweisen.

Es gibt einige Studien, die ebenfalls den Zusammenhang zwischen inflammatorischen Zytokinen, sowie anderen Biomarkern mit radiologischen Scores untersuchten. So evaluierte Pansulaia et al. (2010) den Zusammenhang zwischen den inflammatorischen Zytokinen (Interleukin-6, TNF- $\alpha$  und Interleukin-17) und anderen Markern (RANKL= receptor activator for nuclear faktor  $\kappa$  B ligand, M-CSF= macrophage colony-stimulation factor, OPG= osteoprotegerin und MCP-1= monocyte chemotactic protein-1) mit dem Kellgren-Lawrence-Score. Sie konnten zeigen, dass die Blutspiegel für MCP-1 und OPG signifikant auf den mittels Kellgren-Lawrence-Score gemessenen Schweregrad der

Hand-OA schließen ließen (Pantsulaia et al., 2010). Dahaghin et al. fanden, dass Hand-OA-Patienten mit hohen CTX-II Werten im Blut ein deutlich höheres Risiko hatten eine Hüft- oder Gonarthrose zu entwickeln (Odds Ratio 4.2) als Patienten mit niedrigeren CTX-II Werten (Dahaghin et al., 2005). Vlad et al. konnten keine Zusammenhänge mit anderen Biomarkern (z.B. Interleukin-6, CRP, Fibrinogen, ICAM-1= intercellular adhesion molecule 1, Osteoprotegerin, P-selectin, TNF- $\alpha$  und weitere) und dem Kellgren-Lawrence-Score finden (Vlad et al., 2011).

**Biomarker und klinische Scores:** Wir konnten keinen Zusammenhang der klinischen Scores mit dem Biomarkern PIIANP nach Belastung im Blut aufzeigen. Auch konnten keine Studie gefunden werden, die einen Zusammenhang dieses Markers und den klinischen Scores nachweisen konnte. Die klinischen Scores objektivieren das aktuelle Krankheitsbild der jeweiligen Patientinnen. Somit spiegeln die Biomarker erwartungsgemäß nicht das Schmerz- und ästhetische Empfinden oder die Funktionseinschränkungen wieder.

Die Arbeitsgruppe um Sun et al. konnte allerdings zeigen, dass die IL-15-Konzentrationen positiv mit dem Western Ontario McMaster University Osteoarthritis Index- (WOMAC-) Schmerz-Score bei Patienten mit einer Gonarthrose korrelierten (Sun et al., 2013). Es wird vermutet, dass IL-15 im Rahmen der OA-Pathogenese die Produktion von TNF- $\alpha$  und weiteren inflammatorischen Proteinen stimuliert (Baslund et al., 2005; McInnes et al., 1996, Ling et al., 2009, Perera et al., 2012). Somit könnte indirekt ein erhöhter IL-15-Spiegel im Blut mit erhöhter Knorpeldegradation und somit vermehrten Schmerzen einhergehen (Sun et al., 2009, Orita et al., 2011). Diese Ergebnisse konnten wir in unserer Studie nicht finden.

Die Korrelationsanalyse der maximalen Konzentration des Biomarkers CPII mit den Punktzahlen aus dem AUSCAN™-Fragebogen ergab bis auf zwei Ausnahmen keine Korrelationen (Ergebnisse siehe Tabelle 12.5 des tabellarischen Anhangs). Die Maximalkonzentration des Knorpelformationsmarkers CPII nach Belastung korrelierte negativ mit der Punktzahl des AUSCAN™-Schmerz-Scores ( $r = -0,48$ ) und der VAS-Schmerz ( $r = -0,48$ ). CPII könnte indirekt als Ausdruck für eine erhöhte Knorpelsynthese bzw. eine erhöhte regenerative Kapazität des Knorpels stehen. Dies wäre allerdings eine rein spekulative Hypothese. Diese hier gefundenen Korrelationen scheinen biochemisch eher unwahrscheinlich, da kein Zusammenhang zwischen den CPII-relevanten biochemischen Prozessen in einzelnen Gelenk und dem Schmerzempfinden oder den Funktionseinschränkungen zu erwarten wäre.

Biomarker	OA	Untersuchte Parameter	Referenz	Ergebnisse
<b>COMP</b> (Serum)	Gonarthrose	K-L-Score	Kim et al., 2014	Keine Korrelation
<b>COMP</b> (Serum)	Gonarthrose	OA-Progression, K-L-Score	Vilim et al., 2002	Positive Korrelation
<b>COMP</b> (Serum)	Hand-OA	JSN, Ausbildung von Osteophyten, K-L-Score	Kraus et al., 2010	JSN: keine Korrelation Osteophyten: positive Korrelation
<b>COMP</b> (Serum)	Gonarthrose	Knorpelverlust gemessen mittels MRT	Hunter et al., 2007	Positive Korrelation
<b>COMP</b> (Serum)	Schulter-, Ellenbogen- und Kniegelenk, hämophile Arthropathie	JSN, Ausbildung von Osteophyten, Pettersson-Score	Jansen et al., 2009	positive Korrelation
<b>C1,2C</b> (Urin)	Gonarthrose	Progression, K-L-Score	Cibre et al., 2009	C1,2C ↑
<b>C1,2C</b> (Serum)	RA (Hände und Füße)	RA-Progression	Bakker et al., 2011	positive Korrelation
<b>PIIANP</b> (Serum)	Gonarthrose	RA, OA und gesunde Kontrollen	Rousseau et al., 2004	PIIANP (OA, RA) ↓
<b>CPII</b> (Serum)	Gonarthrose	Progression, K-L-Score	Cibre et al., 2009	CPII ↑ bei Progressionsrisiko ↓
<b>sVCAM-1</b> (Serum)	Hand-OA, EOA	K-L-Score, Kallman-Score	Pulsatelli et al., 2013	sVCAM-1 (EOA, OA) ↑ keine Korrelation mit radiologischen Scores
<b>sVCAM-1</b> (Serum)	Hand-OA	Anzahl der betroffenen Gelenke im K-L-Score	Kalichman et al., 2011	sVCAM-1 ↑ bei OA-Gelenke ↑
<b>IL-15</b> (Serum)	Gonarthrose	K-L-Score	Sun et al., 2013	Keine Korrelation

**Tabelle 8:** Übersicht über die verschiedenen Biomarker-Studien, die die hier verwendeten radiologischen Scores untersuchten.

**Die Biomarker und allgemeine Parameter:** Wir konnten keinen Zusammenhang des Body-Maß-Index (BMI), des CRPs (C-reaktives Protein) und des Alters der Patientinnen/ Probandinnen mit den COMP-, C1,2C-, IL-15-, sVCAM-1- sowie NGAL-Konzentrationen aufzeigen. Eine Korrelation von CPII mit dem Alter konnten wir ebenfalls nicht nachweisen. Andere Arbeitsgruppen fanden jedoch für COMP eine positive Korrelation mit dem BMI und dem Alter (Jordan et al., 2003) oder nur mit dem Alter (Bos et al., 2013). Schett et al. konnten auch für sVCAM-1 eine positive Korrelation mit dem Alter aufzeigen (Schett et al., 2009). Eine mögliche Ursache für die Diskrepanz der Ergebnisse könnte zum einen die geringe Studienteilnehmerzahl sein, zum anderen untersuchten die oben genannten Studien die tatsächlichen Biomarker-Spiegel im Serum. In unserer Studie dagegen wurden die Korrelationen (BMI, Alter und BMI) mit den durchschnittlichen Maximalkonzentrationen nach Belastung der Hand- und Fingergelenke ermittelt und nicht mit den absoluten Biomarker-Spiegeln. IL-15, sVCAM-1 und NGAL werden in inflammatorischen Prozessen freigesetzt, deshalb scheint eine altersabhängige Biomarker-Liberation dieser Marker eher unwahrscheinlich. Die genaue Bedeutung dieser Biomarker in der OA-Pathogenese ist aktuell weiterhin unklar.

Die Konzentrationen von PIIANP und CPII zeigten eine positive Korrelation nach Belastung im Blut und dem BMI ( $r = 0,43$ ;  $r = 0,30$ ). Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Kumm et al. und Kaboyashi et al. Kumm et al. bewiesen eine Korrelation von PIIANP und dem BMI bei Frauen ( $r = 0,362$ ; Kumm et al. 2009) und Kaboyashi et al. zeigten eine positive Korrelation von CPII in der Synovialflüssigkeit mit dem BMI (Kaboyashi et al., 1997). Inwieweit Übergewicht eine Rolle im Rahmen der Pathogenese der Hand- und Fingerpolyarthrose spielt, ist zurzeit allerdings noch nicht abschließend geklärt. Aktuelle Studien berichten, dass erhöhte Adipokine-Spiegel (z.B. Leptin und Adiponin) zu einer Progression der Gonarthrose führen kann (Martel-Pelletier et al., 2016; Zhang et al., 2015; Fowler-Brown et al., 2015). Im Bereich der Fingerpolyarthrose sind die aktuellen Ergebnisse der in der Literatur vorhandenen Studien unterschiedlich. So zeigten Yusuf et al., dass erhöhte Adiponectin-Level einen protektiven Einfluss auf das Voranschreiten der radiologisch-nachweisbaren Hand-OA hat (Yusuf et al., 2011). Filková et al. konnten zeigen, dass die Adiponectin-Level bei Patientinnen mit einer EOA im Vergleich zu Patientinnen mit einer Non-EOA deutlich erhöht sind (Filková et al., 2009).

Im Gegensatz zu Kumm et al. konnten wir keinen Zusammenhang des PIIANP-Spiegels mit dem Alter der Patientinnen aufzeigen (Kumm et al. 2009). So konnten wir erhöhte PIIANP-Spiegel nur bei den OA-Patientinnen nach Belastung im Blut messen und nicht bei der gleichaltrigen Kontrollgruppe. Des Weiteren ergab sich für PIIANP eine negative

Korrelation mit dem CRP-Wert im Blut ( $r = 0,39$ ). PIIANP dient als Marker der Knorpelsynthese und das CRP ist ein unspezifischer Marker eines inflammatorischen Prozesses. Da es im Rahmen der OA-Pathogenese zu einem Entkoppeln des Knorpelabbaus und der Knorpelregeneration kommt, kann PIIANP bei OA-Patienten in deutlich erhöhten Konzentrationen messbar sein. Die negative Korrelation mit dem CRP könnte daher unterstreichen, dass die Hand-OA vornehmlich eine degenerative Gelenkerkrankung ist.

**Die kurzfristige Therapie mit Ibuprofen:** Ibuprofen findet eine breite klinische Anwendung in der Therapie der OA. Allerdings finden sich nur sehr wenige Studien zur Wirkung von Ibuprofen bei Hand- und Fingerpolyarthrosen (Zhang et al., 2007 und 2008, Hochberg et al., 2012). Da unser Studiendesign sich gut eignet, um kurzfristig die Wirkung von oralem Ibuprofen auf die Beschwerden der Patientinnen zu untersuchen, wurde Ibuprofen zusätzlich untersucht. Die Patientinnen erhielten eine orale Therapie mit 2400 mg Ibuprofen pro Tag für insgesamt 10 Tage. Die klinischen Scores wurden jeweils davor (T1) und danach (T2) erfasst.

Wir konnten mit Hilfe der klinischen Scores zeigen, dass, wie zu erwarten, auch eine sehr kurze Therapie mit Ibuprofen 2400 mg pro Tag zu einer deutlichen Reduktion der Score-Punkte und somit zu einer erheblichen subjektiven Symptombesserung der Versuchspersonen führte. Dieses Ergebnis konnte mithilfe aller angewandten klinischen Scores (AUSCAN, VAS und HAQ) unterstrichen werden. Ibuprofen stand in unserer Studie als Vertreter der NSAR. Die NSAR, oral sowie lokal, genießen einen hohen Stellenwert in der Therapie der OA (siehe Kapitel 1.4.3.3) und sind somit fest auch in den aktuellen Leitlinien der Hand-OA-Therapie integriert (American College of Rheumatology, ACR: Hochberg et al., 2012; European League Against Rheumatism, EULAR: Zhang et al., 2007, Osteoarthritis Research Society International, OARSI: McAlindon et al., 2014). Interessant ist, dass der Effekt von Ibuprofen auf die klinischen Scores trotzdem nur bei 58,3 % der von uns untersuchten Patientinnen auftritt. Somit spricht trotz allem fast die Hälfte der Patientinnen nicht oder nur unzureichend auf diese Therapie an. Dies verdeutlicht noch einmal, wie wichtig ein multimodales Therapiekonzept der Hand-OA, basierend auf lokalen nicht-pharmakologischen, pharmakologischen sowie als Ultima Ratio einer chirurgischen Therapie, ist.

### 5.3 Schlussfolgerungen

Insgesamt konnten wir mit unserer Pilotstudie zum ersten Mal nachweisen, dass die Biomarker COMP, CII, PIIANP, sVCAM-1, IL-15 und NGAL aus den kleinen Gelenken der Hand und Finger durch Belastung freigesetzt werden können und somit in erhöhten Konzentrationen im peripheren Blut messbar sind. Des Weiteren konnten wir die ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke als Zeitspanne definieren, in der die höchste Biomarker-Konzentration nach Belastung im Serum zu erwarten ist.

Wir untersuchten insgesamt 9 verschiedene Marker. Die genaue Rolle eines jeden Markers im Rahmen der Arthrose, insbesondere der hier untersuchten Fingerpolyarthrose, ist bisher nur unvollständig geklärt. Somit können die von uns ermittelten Ergebnisse einen weiteren Beitrag zum Verständnis der Pathomechanismen der Fingerpolyarthrose liefern. Unsere Ergebnisse sind die Basis für weitere, dringend notwendige prospektive Studien, um die genaue Wertigkeit eines jeden Biomarkers und dessen Rolle im Rahmen der OA, vor allem der Fingerpolyarthrose, ermitteln zu können.

Die Biomarker PIIANP und CII können durch ihren erhöhten Anstieg bei OA-Patientinnen bzw. den gleichaltrigen Kontrollen möglicherweise in der Zukunft allein oder in Kombination gegebenenfalls auch mit anderen Biomarkern zur frühen Diagnose von Patienten mit Hand- und Fingerpolyarthrose mittels einer Serumuntersuchung beitragen. Allerdings besteht auch hier ein erheblicher weiterer Forschungsbedarf.

Ob nun die Bewegung eine erhöhte „Clearance“ dieser Marker aus der Synovia ins periphere Blut bewirkt, oder ob die Bewegung einen Impuls zur vermehrten Biomarker-Freisetzung gibt, ist derzeit unklar. Die genauen Pathomechanismen, die die Biomarker-Liberation von den Gelenken ins periphere Blut verursachen, sind bis heute nicht komplett verstanden. Auch ergeben sich durch die vorliegende Studie viele weitere interessante Untersuchungsansätze. Zukünftige Studien müssen zeigen, inwiefern die hier gewonnenen Ergebnisse eine Aussage zur Frühdiagnose oder zur Verlaufskontrolle von therapeutischen Maßnahmen z. B. einer Pharmakotherapie liefern können.

Unsere Pilotstudie dient somit als Grundlage oder Wegbereiter für weitere klinische Untersuchungen zur Identifizierung und Validierung neuer Biomarker der Hand- und Fingerpolyarthrose. Zukünftige konfirmatorische Studien mit größeren Fallzahlen sind notwendig, um die hier gewonnenen Ergebnissen weiter zu bestätigen. Unsere Ergebnisse können möglicherweise in Zukunft ein großes diagnostisches und

therapeutisches Benefit für die vielen Patientinnen mit Arthrosen der Hand- und Fingergelenke bieten.



## 6 Zusammenfassung

Fingerpolyarthrosen sind insbesondere bei Frauen weit verbreitet. Die Patientinnen leiden unter Schmerzen, Gelenkschwellungen und einer Morgensteifigkeit. Derzeit gibt es nur wenige Berichte über mögliche Biomarker, die zur Früherkennung oder zum Monitoring des Krankheitsverlaufes oder des Therapieerfolges dienen können. Bei den bekannten Biomarkern liegen die Konzentrationen häufig an der Nachweisgrenze. Das erste Ziel der hier vorliegenden explorativen Studie war es, potentielle Biomarker der Handarthrose durch Belastung der betroffenen Hand in erhöhten Konzentrationen im venösen Blut nachzuweisen. Zweitens sollte ein optimaler Zeitpunkt zur Blutentnahme nach Belastung der Fingergelenke gefunden werden, um die erhöhten Biomarker-Konzentrationen messen zu können. Drittens sollten Korrelationen zwischen Biomarkern und klinischen oder radiologischen Scores evaluiert werden. Als letztes sollte der Erfolg einer kurzfristigen Therapie mit Ibuprofen über den Zeitraum von 7 Tagen anhand der klinischen Scores nachgewiesen werden.

Insgesamt wurden 2 Kohorten gebildet: Die erste Kohorte, auch „OA-Gruppe“ genannt, bestand aus 24 postmenopausalen Patientinnen mit einer mehr Heberden- oder Bouchard-betonten Fingerarthrose. Die Diagnose erfolgte gemäß den ACR-Kriterien. Die Patientinnen waren  $61,5 \pm 6,4$  Jahre alt, postmenopausal und es lag ein Body-Maß-Index von  $26,3 \pm 3,3$  kg/m<sup>2</sup> vor. Zu den Ausschlusskriterien zählten andere entzündliche, rheumatische oder degenerative Gelenkerkrankungen, Stoffwechsel-, Nieren- oder Lebererkrankungen. Auch die Einnahme bestimmter Medikamente (z. B. Bisphosphonate, Kortikosteroide, NSAR) war verboten. Die zweite Kohorte diente als Kontrollgruppe und bestand aus 24 Probandinnen ohne symptomatische Arthrosen, davon 12 prämenopausale ( $23,4 \pm 1,2$  Jahre, BMI von  $21,5 \pm 2,0$  kg/m<sup>2</sup> = „Prä-Gruppe“) und 12 postmenopausale ( $59,9 \pm 7,0$  Jahre = „Post-Gruppe“) Frauen mit einem BMI von  $23,0 \pm 3,3$  kg/m<sup>2</sup>.

Zu Beginn der Studie wurden die Fragebögen (Australian/Canadian Hand Osteoarthritis Index (AUSCAN), Health Assessment Questionnaire HAQ, visuelle-Analog-Skala für Schmerz und Ästhetik (VAS-Schmerz, VAS-Ästhetik) von den Patientinnen und Probandinnen ausgefüllt. Anschließend erfolgte am Unterarm der Indexhand die venöse Blutentnahme vor und 1, 2, 5, 10, 15, 30, 45, und 60 Minuten nach Belastung in Folge von definiertem wiederholtem Kraftschluss der Hand. Die Röntgenbilder wurden gemäß dem Kellgren-Lawrence-Score und dem Kallman-Score evaluiert. Die Analyse der Biomarker aus dem Serum wurde mittels kommerziell erhältlicher Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assays (ELISA)-Kits durchgeführt. Folgende Biomarker wurden

untersucht: 1. Marker der Knorpelsynthese wie C-terminales Propeptid von Prokollagen Typ II (CPII) und N-terminales Propeptid von Typ II Prokollagen (PIIANP), 2. Marker der Knorpelresorption wie Kollagen Typ II  $\frac{3}{4}$  Spaltprodukt (C1,2C) und Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP), sowie 3. inflammatorische Marker wie Neutrophil-Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL), Interleukin-15 (IL-15) und soluble- Vascular-Cell-Adhesion-Molecle-1 (sVCAM-1). Folgende Fragen wurden statistisch wie folgt ausgewertet: A) Gibt es eine signifikante Konzentrationsänderung der Biomarker nach Belastung? Wilcoxon-Rangsummentest; B) Ist die Änderung der Konzentration an Biomarker zwischen den einzelnen Kohorten signifikant unterschiedlich? Kruskal/Wallis-Test (H-Test) mit anschließendem Dunn's post-hoc-test; C) Besteht eine Korrelation zwischen den klinischen Scores und den Biomarkern? Spearman-Korrelation. Alle Berechnungen wurden aus den Differenzen zwischen der Konzentration vor Belastung und der Maximalkonzentration der Biomarker durchgeführt, die innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung im Blut messbar waren.

Es konnte erstmals im Serum der OA-Patientinnen innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke signifikant ( $p \leq 0,05$ ) erhöhte Konzentrationen an CPII, COMP, IL-15, sVCAM-1, NGAL und PIIANP bestimmt werden. Aufgrund der unterschiedlichen chemischen Zusammensetzung der Biomarker gab es keinen festen Zeitpunkt für das gemeinsame Anfluten aller Marker im Blut. Auch konnten zum ersten Mal deutliche Unterschiede zwischen der OA-Kohorte und der prä- bzw. postmenopausalen Kontrollgruppe im Serum nach Belastung der Gelenke für PIIANP ( $p = 0,003$ ) und CPII ( $p=0,009$ ) ermittelt werden. Der CPII-Anstieg fiel allerdings nur im Vergleich OA-Gruppe gegenüber der prämenopausaler Frauen (gelenkgesunde Kontrollen) höher aus und nicht im Vergleich mit der postmenopausaler Frauen ( $p \geq 0,05$ ). Es konnte keine Korrelation zwischen der Biomarker-Konzentration und den klinischen bzw. radiologischen Scores festgestellt werden.

Mit der vorliegenden Studie konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass geringe Biomarker-Konzentrationen im Serum bei Patientinnen mit einer Fingerpolyarthrose durch Belastung messbar werden. Diese Studie dient als Grundlage für weitere klinische Untersuchungen zur Identifizierung und Validierung neuer Biomarker. Die Ergebnisse unserer Studie besitzen insofern eine in die Zukunft reichende klinische und praktische Relevanz, da sie aufgrund des präzisen Studiendesigns die Basis für weiterführende klinische Studien bilden, mit deren Hilfe der Einsatz von Serummarker zur Frühdiagnose, Staging und Kontrolle des Therapieerfolges untersucht werden kann. Die Identifizierung und Validierung derartiger Serummarker könnte somit ein großes diagnostisches und therapeutisches Benefit für die vielen Patientinnen mit Fingerpolyarthrosen bedeuten.

## 7 Summary

Osteoarthritis (OA) of the hands is one of the most common joint diseases especially of women. The patients suffer from pain, swelling of the joints and morning stiffness. There are however only few reports on potential biomarkers, which can be used for early diagnosis, for monitoring the disease progression or the therapeutic success. In the known biomarkers, concentrations are frequently at the detection limit. The aim of the present exploratory study was firstly to establish potential biomarkers of hand osteoarthritis in elevated concentrations in venous blood by exercising the affected hand. Secondly, after exercising the finger joints the optimum moment for blood sampling was to be found in order to measure the increased concentrations of the biomarkers. Thirdly correlations were to be shown between biomarker levels and clinical or radiological scores. Finally the success of a short-term "Ibuprofen-therapy" over a period of 7 days was to be demonstrated on the basis of clinical scores.

Two cohorts were investigated: the first cohort called "OA-Group" consisted of 24 postmenopausal female patients with a more Heberden or Bouchard accentuated osteoarthritis of the hand. The diagnosis was made according to ACR criteria. The patients were  $61.5 \pm 6.4$  years old, postmenopausal and having a body mass index of  $26.3 \pm 3.3$  kg/m<sup>2</sup>. The exclusion criteria were other inflammatory, rheumatic, degenerative joint affecting diseases, or the metabolism affecting diseases, renal or liver diseases as well as the use of certain medical drugs (e.g. bisphosphonates, corticosteroids, NSAR) The second cohort served as healthy controls and contained 24 female subjects without symptomatic osteoarthritis of the hand of whom 12 were premenopausal ( $23.4 \pm 1.2$  years, BMI of  $21.5 \pm 2.0$  kg/m<sup>2</sup> = "pre-group") and 12 postmenopausal ( $59.9 \pm 7.0$  years = "post group ") women showing a BMI of  $23.0 \pm 3.3$  kg/m<sup>2</sup>.

At the beginning of the study, the questionnaires (Australian / Canadian Osteoarthritis Hand Index (AUSCAN), Health Assessment Questionnaire HAQ, visual analogue scale for pain and aesthetics (VAS pain, VAS aesthetics) were filled out by the patients and subjects. This was followed by collecting the venous blood samples from the forearm of the index hand before and 1, 2, 5, 10, 15, 30, 45, and 60 minutes after exercise, defined as a repeated powerful circuit of the index hand. X-ray images were evaluated according to the Kellgren-Lawrence score and Kallman score. The analysis of the biomarker levels from the serum was performed by commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)-kits. The following biomarkers were studied: 1. marker of cartilage synthesis such as C-terminal propeptide of procollagen type II (CPII) and N-terminal

propeptide of type II procollagen (PIIANP), 2. marker of cartilage resorption like collagen type II  $\frac{3}{4}$  cleavage product (C1,2C) and cartilage oligomeric matrix protein (COMP), 3. inflammatory markers such as neutrophil-gelatinase-associated lipocalin (NGAL), interleukin-15 (IL-15) and soluble-vascular-cell-adhesion-molecule-1 (sVCAM-1). The following questions were evaluated by using the following statistical tests: A) Is there a significant change in concentration of the biomarker levels after exercise? Wilcoxon rank sum test; B) Is the change in the concentration of biomarker levels between the individual cohorts significantly different? Kruskal /Wallis test (H-test) followed by Dunn's post-hoc test; C) Is there a correlation between the clinical score and the biomarker levels? Spearman correlation. All calculations were performed with the differences in the concentration before exercise and the maximum concentration of biomarker levels that were measurable in the blood samples within the first 15 minutes after exercise. Significantly ( $p \leq 0.05$ ) increased levels of CII, COMP, IL-15, sVCAM-1, NGAL and PIIANP could be identified in the serum of OA patients within the first 15 minutes after exercise of the hand and finger joints for the first time. Due to the different chemical composition of the biomarkers there was no fixed time for the common accumulation of all markers in the blood. For the first time we could also determine significant differences between the OA cohort and the pre- or postmenopausal control group in the serum after stress on the joints for PIIANP ( $p = 0.003$ ) and CII ( $p = 0.009$ ). However, the increase of CII levels was only significantly elevated in the OA group compared to the premenopausal women (younger healthy controls) but not significantly elevated compared to postmenopausal women ( $p \geq 0.05$ ). There was no correlation determined between the biomarker levels and the clinical and radiological scores.

The present study enables the calculation of the number of patients needed to perform confirmatory clinical trials. These future studies will characterize the role of our newly identified biomarkers to diagnose hand OA especially at an early, non-symptomatic stage of the disease and to evaluate treatment efficacy.

For the first time the present study has showed that low levels of biomarkers in the serum of patients with OA could be measured by performing exercise with the OA affected finger joints. This study serves as a basis for further clinical investigations for the identification and validation of new biomarkers. The results of our study with its precise study design have clinical and practical relevance for the future, because it forms the basis for further clinical trials, which will help to examine the use of serum markers for early diagnosis, staging and monitoring of therapy success. The identification and validation of such serum markers could therefore prove to be a major diagnostic and therapeutic benefit for many patients with osteoarthritis of the hand.

## 8 Abkürzungsverzeichnis

ACR	American College of Rheumatology
ADAMTS	A Disintegrin And Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs
ADL	Activity of daily living
AFP	$\alpha$ -Fetoprotein
Ak	Antikörper
ASPN	Asporin
AUSCAN™	Australian/Canadian Hand Osteoarthritis Index™
Bel	Belastung
BIPED- Kriterien	Burden of Disease, Investigative, Prognostic, Efficacy of Intervention, Diagnostic- Kriterien
$\beta$ hCG	$\beta$ -humanes Choriongonadotropin
BMI	Body Mass Index
CK-MB	Kreatinkinase Myokardtyp
cm	Zentimeter
CMC	Carpometacarpalgelenk
COMP	Cartilage Oligomeric Matrix Protein
COX-2	Selektive Cyclooxygenase Hemmer-2
CPII	C-terminales Propeptid von Typ II Prokollagen
CRP	C-reaktives Protein
CS 846	Aggrecan-Chondroitin-Sulfat-846-Epitop
CTX I	C-terminales Propeptid des Kollagen Typ I
CTX II	C-terminales Telopeptid des Kollagen Typ II
C1,2C	Kollagenmetabolit (Kollagen Typ II $\frac{3}{4}$ Spaltprodukt)
DIP-Gelenk	Distales Interphalangealgelenk
DPD	Desoxypyridinolin-Crosslinks
dl	Deziliter
ELISA	Enzym-linked-immuno-sorbent-assay
EOA	Erosive Osteoarthritis
EULAR	European League Against Rheumatism
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
g	Erdbeschleunigung
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase (Alanin-Aminotransferase)
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (Aspartat Aminotransferase)
h	Stunde
HAQ	Health Assessment Questionnaire

---

HBT®	Heterophilic Blocking Tubes®
hCG	Humanes Choriongonadotropin
HRP	Horseradish Peroxidase
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule 1
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
IL-1, -2, 15	Interleukin-1, -2, -15
IP-Gelenk	Interphalangealgelenk
JSN	Joint Space Narrowing
kDa	Kilodalton
KI	Konfidenzintervall
K-L-Score	Kellgren und Lawrence Score
M.	Morbus
MCP-Gelenk	Metacarpophalangealgelenk
MCP-1	Monocyte chemotactic protein-1
M-CSF	Macrophage colony-stimulating factor
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MMP	Matrixmetalloproteinase
MTP	Tarso-Metatarsalgelenk
n	Anzahl
ng	Nanogramm
NGAL	Neutrophil-gelatinase-associated-lipocalin
Nm	Nanometer
Non-EOA	Nicht erosive Osteoarthritis
NSAID	Nichtsteroidale Antiphlogistika (non-steroidal anti-inflammatory drugs)
NSAR	Nichtsteroidale Antirheumatika
OA	Osteoarthritis/ Arthrose
OARSI	Osteoarthritis Research Society International
OPG	Osteoprotegerin
pg	Pikogramm
PIP-Gelenk	Proximales Interphalangealgelenk
pNPP	Para-Nitrophenylphosphat
Post	postmenopausale Kontrollgruppe
Prä	prämenopausale Kontrollgruppe

PIINP	Typ II Kollagen N-Terminales Propeptid des Prokollagens
PIIANP	Typ II Kollagen N-Terminales Propeptid A des Prokollagens
PIIBNP	Typ II Kollagen N-Terminales Propeptid B des Prokollagens
RA	Rheumatoide Arthritis
RANKL	Receptoractivator for nuclear factor $\kappa$ B ligand
RT	Raumtemperatur
SD	Standardabweichung
sVCAM-1	Soluble-Vascular-Cell-Adhesion-Molecule-1
SYSADOA	Slow-Acting Drugs For Osteoarthritis
TGF- $\beta$	Transforming growth factor beta
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF $\alpha$	Tumornekrosefaktor $\alpha$
TSH	Thyreoidea-stimulierendes Hormon
TS	Trapezioscaphidgelenk
T1	Studientag 1
T2	Studientag 2
$\mu$ g	Mikrogramm
$\mu$ l	Mikroliter
U/l	Units pro Liter
VAS	Visuelle Analogskala
vs	Versus
WOMAC	Western Ontario McMaster University Osteoarthritis Index
YKL-40	Humanes Glykoprotein 39

## 9 Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Anatomie der menschlichen Hand.....	1
<b>Abbildung 2:</b> Aufbau des Gelenkknorpels .....	3
<b>Abbildung 3:</b> Abbildung einer arthrotisch veränderten Hand einer OA-Patientin .....	9
<b>Abbildung 4:</b> Schematische Darstellung eines Kollagenmoleküls (C1,2C) .....	17
<b>Abbildung 5:</b> Schematische Darstellung eines Kollagenmoleküls (PIIANP) .....	18
<b>Abbildung 6:</b> Schematische Darstellung eines Kollagenmoleküls (CPII). .....	19
<b>Abbildung 7:</b> Das Studiendesign .....	30
<b>Abbildung 8:</b> Beispiel für die Bestimmung der VAS-Schmerz. ....	39
<b>Abbildung 9:</b> Einfluss der Lagerungsdauer für COMP, sVCAM-1 und PIIANP .....	44
<b>Abbildung 10:</b> Einfluss der Lagerungsdauer für CPII, IL-15, NGAL und C1,2C.....	45
<b>Abbildung 11:</b> Einfluss von heterophilen Antikörpern auf NGAL und sVCAM-1 .....	46
<b>Abbildung 12:</b> Einfluss von heterophilen Antikörpern auf IL-15.....	46
<b>Abbildung 13:</b> Einfluss des wiederholten Auftauens/ Einfrierens der Proben auf COMP und C1,2C.....	47
<b>Abbildung 14:</b> Einfluss des wiederholten Auftauens und Einfrierens der Proben auf PIIANP, CPII und sVCAM-1 .....	48
<b>Abbildung 15:</b> Einfluss des wiederholten Einfrierens und Auftauens auf IL-15 und NGAL .....	49
<b>Abbildung 16:</b> Exemplarische Darstellung der zeitabhängigen Serumkonzentration von COMP.....	50
<b>Abbildung 17:</b> Exemplarische Darstellung der zeitabhängigen Serumkonzentrationen von CS846 und YKL-40.....	51
<b>Abbildung 18:</b> Exemplarischer Konzentrationsverlauf der Biomarker im Serum zweier zufällig ausgewählten Patientinnen .....	52
<b>Abbildung 19:</b> Serumkonzentrationen von COMP .....	53
<b>Abbildung 20:</b> Serumkonzentrationen von C1,2C .....	54
<b>Abbildung 21:</b> Serumkonzentrationen von PIIANP .....	55
<b>Abbildung 22:</b> Serumkonzentrationen von CPII .....	56
<b>Abbildung 23:</b> Serumkonzentrationen von sVCAM-1 .....	57
<b>Abbildung 24:</b> Serumkonzentrationen von IL-15. ....	58
<b>Abbildung 25:</b> Serumkonzentrationen von NGAL.....	59
<b>Abbildung 26:</b> CPII und PIIANP und Gesamt-Kellgren-Lawrence-Score .....	62
<b>Abbildung 27:</b> CPII und PIIANP und der Gesamtscore nach Kallman.....	63
<b>Abbildung 28:</b> Korrelation von CPII und PIIANP und dem AUSCAN-Gesamt-Score. ....	64
<b>Abbildung 29:</b> AUSCAN-Schmerz und CPII.....	65



**Abbildung 30:** Korrelation von CPII und PIIANP mit VAS-Schmerz..... 65  
**Abbildung 31:** Die Wirkung von Ibuprofen gemäß AUSCAN-Score..... 67  
**Abbildung 32:** Wirkung von Ibuprofen Responder versus Non-Responder. .... 68

## 10 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Einteilung der hier untersuchten Biomarker anhand der BIPED-Kriterien..	15
<b>Tabelle 2:</b> Übersicht über die ELISA-Protokolle für IL-15, sVCAM-1 und NGAL.....	33
<b>Tabelle 3:</b> Übersicht über die ELISA-Protokolle für PIIANP, CPII, C1,2C, COMP, YKL-40 und CS 846. ....	34
<b>Tabelle 4:</b> Übersicht über das Studienkollektiv.....	45
<b>Tabelle 5:</b> Übersicht über die Auswertung der Röntgenbilder der OA- und der RA Patientinnen .....	63
<b>Tabelle 6:</b> Übersicht über die radiologisch betroffenen Fingergelenke.. .....	64
<b>Tabelle 7:</b> Übersicht über die zitierten Biomarker-Studien zum Vergleich mit unseren Biomarker-Ergebnissen.....	83
<b>Tabelle 8:</b> Übersicht über die verschiedenen Biomarker-Studien, die die hier verwendeten radiologischen Scores untersuchten .....	86

## 11 Literaturverzeichnis

Adams ME: Changes in aggrecan populations in experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 1994, 2: 155-164.

Aigner T, Zhu Y, Chansky HH, Matsen FA, Maloney WJ, Sandell LJ.: Reexpression of type IIA procollagen by adult articular chondrocytes in osteoarthritic cartilage. *Arthritis Rheum* 1999, 42: 1443-1450.

Allen KD, Jordan JM, Renner JB, Kraus VB: Relationship of global assessment of change to AUSCAN and pinch and grip strength among individuals with hand osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2006, 14:1281-1287.

Altman R, Alarcón G, Appelrouth D, Bloch D, Borenstein D, Brandt K, Brown C, Cooke TD, Daniel W, Gray R: The american College Of Rheumatology Criteria For The Classification And Reporting of Osteoarthritis Of The Hand. *Arthritis Rheum* 1990, 33(11): 1601-1610.

Altman R, Gold GE: Atals of individual radiographic features in osteoarthritis, revised. *Osteoarthritis Cartilage* 2007, 15 (Suppl A): A1-56.

Anandarajah A: Erosive osteoarthritis. *Discov Med.* 2010, 9(48): 468-77.

Anderson JJ, Felson DT: Factors associated with osteoarthritis of the knee in the first national Health and Nutrition Examination Survey (HANES I). Evidence for an association with overweight, race and physical demands of work. *Am J Epidemiol* 1988, 128: 179-189.

Andersson ML, Petersson IF, Karlsson KE, Jonsson EN, Månsson B, Heinegård D, Saxne T: Diurnal variation in serum levels of cartilage oligomeric matrix protein in patients with knee osteoarthritis or rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2006(b), 65: 1490-1494.

Andersson ML, Thorstensson CA, Roos EM, Petersson IF, Heinegård D, Saxne T: Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) increase temporarily after exercise in patients with knee osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2006(a), 7: 98.

Arnett F, Edworthy S, Bloch D, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, Healey LA, Kaplan SR, Liang MH, Luthra HS: The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988, 31(3): 315-324.

Attur M, Al-Mussawir HE, Patel J, Kitay A, Dave M, Palmer G, Pillinger MH, Abramson SB: Prostaglandin E2 exerts catabolic effects in osteoarthritis cartilage: evidence for signaling via the EP4 receptor. *J Immunol* 2008, 281(7): 5082-5088.

Aumüller G, Aust G, Engele J, Kirsch J, Maio G, Mayerhofer A, Mense S, Reißig D, Salvetter J, Schmidt W, Schmitz F, Schulte E, Spanel-Borowski K, Wennemuth G, Wolff W, Wurzinger LJ, Zilch HG: *Duale Reihe Anatomie*. Thieme Verlag, 3. Auflage 2014 ISBN 9783131360434, Teil A Kapitel 2.2.3, 72-75.

Aurich M, Squieres GR, Reiner A, Mollenhauer JA, Kuettner KE, Poole AR, Cole AA: Differential matrix degradation and turnover in early cartilage lesion of human knee and ankle joints. *Arthritis Rheum* 2005, 52: 112-119.

Avouac J, Gossec L, Dougados M: Efficacy and safety of opioids for osteoarthritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Osteoarthritis Cartilage* 2007, 15: 957-965.

Bakker MF, Verstappen SMM, Welsing PMJ, Jacobs JW, Jahangier ZN, van der Veen MJ, Bijlsma JW, Lafeber FP; Utrecht Arthritis Cohort study group: The relation between cartilage biomarkers (C2C, C1,2C, CS846, and CPII) and the long-term outcome of rheumatoid arthritis patients within the CAMERA trial. *Arthritis Res Ther* 2011, 13(3): R70.

Barlett WA, Browning MC, Jung RT: Artefactual increase in serum thyrotropin concentration caused by heterophilic antibodies with specificity for IgG of the family Bovidea. *Clin Chem H* 1986, 32: 2214-2219.

Baslund B, Tvede B, Danneskiold-Samsoe B, Larsson P, Panayi G, Petersen J, Petersen LJ, Beurskens FJ, Schuurman J, van de Winkel JG, Parren PW, Gracie JA, Jongbloed S, Liew FY, McInnes IB: Targeting interleukin-15 in patients with rheumatoid arthritis: a proof-of-concept study. *Arthritis Rheum* 2005, 52 (2): 2686-2692.

Bauer DC, Hunter DJ, Abramson SB, Attur M, Corr M, Felson D, Heinegård D, Jordan JM, Kepler TB, Lane NE, Saxne T, Tyree B, Kraus VB; Osteoarthritis Biomarkers

Network: Classification of osteoarthritis biomarkers: a proposed approach. *Osteoarthritis Cartilage* 2006, 14: 723-727.

Bellamy N: AUSCAN Hand Osteoarthritis Index ©, User Guide III, AUSCAN VA3.1, German für Germany, 2006.

Bellamy N, Buchbinder R, Hall S, Soucy E, Flynn J, Campbell J: PARIS Sectogram: a method for weighting and aggregating the AUSCAN Osteoarthritis Hand Index. *Arthritis Rheum* 1998, 41(9): 145 (Supplement).

Bellamy N, Campbell J, Haraoui B, Buchbinder R, Hobby K, Roth JH, MacDermid JC: Dimensionality and clinical importance of pain and disability in hand osteoarthritis: development of the Australian/Canadian (AUSCAN) Osteoarthritis Hand Index. *Osteoarthritis Cartilage* 2002(a), 10(11): 855-862.

Bellamy N, Campbell J, Haraoui B, Buchbinder R, Gerez-Simon E, : Comparison of the responsiveness of the physical function subscale of the AUSCAN 3.0 OA Hand Index and the Functional Index for Hand OA (FIHOA). *Ann Rheum Dis* 2002(c), 61(Suppl): 117-118.

Bellamy N, Campbell J, Haraoui B, Gerez-Simon E, Buchbinder R, Hobby K, MacDermid JC.: Clinimetric properties of the AUSCAN Osteoarthritis Hand Index: an evaluation of reliability, validity and responsiveness. In: *Osteoarthritis Cartilage* 2002(b), 10(11): 863-869.

Bellamy N, Campbell J, Haraoui B, Buchbinder R, Hall S, Muirden K, Gerez-Simon E, Kean W, Hobby K, MacDermid J, Roth J: Development of the Australian/Canadian (AUSCAN) Osteoarthritis (OA) Hand Index. *Arthritis and Rheumatism* 1997(b), 40(9): 110 (Supplement).

Bellamy N, Haraoui B, Buchbinder R, Hall S, Muirden K, Hobby K, Roth J, MacDermid J, Soucy E, Gerez-Simon E, Flynn J, Campbell J: Development of a disease-specific health status measure for hand osteoarthritis clinical trials. 2 - Assessment of reliability and validity. *J Rheumatol* 1997(a), 24(7): 1425.

Bellamy N, Haraoui B, Buchbinder R, Hall S, Muirden K, Roth J, Hobby K, MacDermid J, Campbell J: Development of a disease-specific health status measure for hand

osteoarthritis clinical trials. 1 - Assessment of the symptom dimensionality. *Scand J Rheumatol* 1996, Supplement 106: 5.

Benito MJ, Veale DJ, FitzGerald O, van den Berg WB, Bresnihan B: Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2005 64: 1263-1267.

Berglund L, Holmberg NG: Heterophilic antibodies against rabbit serum causing falsely elevated gonadotropin levels. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1989, 68: 377-378.

Bernard TE, Wilder FV, Aluoch M, Leaverton PE: Job-related osteoarthritis of the knee, foot, hand, and cervical spine. *J Occup Environ Med* 2010, 52(1):33-38.

Berth M, Bosmans E, Everaert J, Dierick J, Schiettecatte J, Anckaert E, Delanghe J: Rheumatoid factor interference in the determination of carbohydrate antigen 19-9 (CA19-9). *Clin Chem Lab Med* 2006, 44(9): 1137-1139.

Bijsterbosch J, Haugen IK, Malines C, Maheu E, Rosendaal FR, Watt I, Berenbaum F, Kvien TK, van der Heijde DM, Huizinga TW, Kloppenburg M: Reliability, sensitivity to change and feasibility of three radiographic scoring methods for hand osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2011, 70: 1465-1467.

Bijsterbosch J, Kloppenburg M, Reijniere M, Rosendaal FR, Huizinga TW, Slagboom PE, Meulenbelt I: Association study of candidate genes for the progression of hand osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2013, 21(4): 565-569.

Billinghurst RC, Dahlberg L, Inescu M, Reiner A, Bourne R, Rorabeck C, Mitchell P, Hambor J, Diekmann O, Tschesche H, Chen J, Van Wart H, Poole AR: Enhanced cleavage of type II collagen by collagenases in osteoarthritic articular cartilage. *J Clin Invest* 1997, 99: 1534-1545.

Boerman OC, Segers MF, Poels LG, Kenemans P, Thomas CM: Heterophilic antibodies in human sera causing falsely increased results in the CA 125 immunofluorometric assay. *Clin Chem* 1990, 36: 888-891.

Bos SD, Beekman M, Maier AB, Karsdal MA, Kwok WY, Bay-Jensen AC, Kloppenburg M, Slagboom PE, Meulenbelt I: Metabolic health in families enriched for longevity is associated with low prevalence of hand osteoarthritis and influences OA biomarker profiles. *Ann Rheum Dis* 2013, 72: 1669-1679.

Boscato LM, Stuart MC: Incidence and Specificity of Interference in Two-Site Immunoassays. *Clin Chem* 1986, 32(8): 1491-1495.

Botha-Scheepers S, Riyazi N, Watt I, Rosendaal FR, Slagboom E, Bellamy N, Breedveld FC, Kloppenburg M: Progression of hand osteoarthritis over 2 years: a clinical and radiological follow-up study. *Ann Rheum Dis* 2009, 68: 1260-1263.

Burnett S, Hart DJ, Cooper C, Spector TD. A radiographic atlas of osteoarthritis. London: Springer Verlag, 1994.

Buurke JH, Grady JH, de Vries, Baten CT: Usability of thenar eminence orthoses: report of a comparative study. *Clin Rehabil* 1999, 13:288-289.

Caspi D, Flusser G, Farber I, Ribak J, Leibovitz A, Habot B, Yaron M, Segal R: Clinical, radiologic, demographic and occupational aspects of hand osteoarthritis in the elderly. *Semin Arthritis Rheum* 2001, 30: 321-331.

Chen HC, Shah S, Stabler TV, Li YJ, Kraus VB: Biomarkers associated with clinical phenotypes of hand osteoarthritis in a large multigenerational family: the CARRIAGE family study. *Osteoarthritis Cartilage* 2008, 16(9): 1054-1059.

Cibere J, Zhang H, Garnero P, Poole AR, Lobanok T, Saxne T, Kraus VB, Way A, Thorne A, Wong H, Singer J, Kopec J, Guermazi A, Peterfy C, Nicolaou S, Munk PL, Esdaile JM: Association of biomarkers with pre-radiographically defined and radiographically defined knee osteoarthritis in a population-based study. *Arthritis Rheum* 2009, 60(5): 1372-1380.

Cintin C, Jahansen JS, Christensen IJ, Price PA, Sørensen S, Nielsen HJ: Serum YKL-40 and colorectal cancer. *Br J Cancer* 1999, 79: 1494-1499.

Clark AG, Jordan JM, Vilim V, Renner JB, Dragomir AD, Luta G, Kraus VB.: Serum cartilage oligomeric matrix protein reflects osteoarthritis presence and severity: the Johnston County Osteoarthritis Project. *Arthritis Rheum* 1999, 42: 2356-2364.

Dahaghin S: Prevalence and pattern of radiographic hand osteoarthritis and association with pain and disability (the Rotterdam study). *Ann Rheum Dis* 2005, 64: 682-687.

Dahaghin S, Bierma-Zeinstra SM, Koes BW, Hazes JM, Pols HA: Do metabolic factors add to the effect of overweight on hand osteoarthritis? The Rotterdam Study. *Ann Rheum Dis* 2007, 66: 916-920.

Dahaghin S, Bierma-Zeinstra SM, Reijman M, Pols HA, Hazes JM, Koes BW: Does hand osteoarthritis predict future hip or knee osteoarthritis? *Arthritis Rheum* 2005, 52(11): 3520-3527.

Davis MA, Neuhaus JM, Ettinger WH, Müller WH: Body fat distribution and osteoarthritis. *Am J Epidemiol* 1990, 132: 701-707.

Di Cesare P, Chen FS, Moergelin M, Carlson CS, Leslie MP, Perris R, Fang C: Matrix-matrix interaction of cartilage oligomeric matrix protein and fibronectin. *Matrix Biology* 2002, 21: 61-70.

Di Cesare P, Hauser N, Lehman D, Pasumarti S, Paulsson M: Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) is an abundant component of tendon. *FEBS Lett* 1994, 354: 237-240.

Dickinson SC, Vankemmelbeke MN, Buttle DJ, Rosenberg K, Heinegård D, Hollander AP: Cleavage of cartilage oligomeric matrix protein (thrombospondin-5) by matrix metalloproteinases and a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs. *Matrix Biology* 2003, 22: 276-78.

Ding H, Solovieva S, Vehmas T, Leino-Arjas P: Association between overweight and dip osteoarthritis among middle aged finish female dentists and teachers. *Obs Res Clin Pract* 2008, 35: 677-684.

Droogan AG, McMillan SA, Douglas JP, Hawkins SA: Serum and cerebrospinal fluid levels of soluble adhesion molecules in multiple sclerosis: predominant intrathecal release of vascular cell adhesion molecule-1. *J Neuroimmunol* 1996, 64(2): 185-91.

Erhart-Hledik JC, Mündermann A, Favre J, Smith RL, Andriacchi TP: Mechanically Induced Changes in COMP Concentrations Predict Changes in Cartilage Thickness after 5 Years. *ORS Annual Meeting 2012, San Fransisco, Poster No. 1783.*

Felson DT, Zhang Y, Hannan MT, Naimark A, Weissman B, Aliabadi P, Levy D: Risk factors for incident radiographic knee osteoarthritis in the elderly: the Framingham Study. *Arthritis Rheum* 1997, 40(4): 728-733.



Filková M, Lisková M, Hulejová H, Haluzík M, Gatterová J, Pavelková A, Pavelka K, Gay S, Müller-Ladner U, Senolt L: Increased serum adiponectin levels in female patients with erosive compared with non-erosive osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2009, 68: 295-296.

Fowler-Brown A, Kim DH, Shi L, Marcantonio E, Wee CC, Shmerling RH, Leveille S: The mediating effect of leptin on the relationship between body weight and knee osteoarthritis in older adults. *Arthritis Rheumatol.* 2015 67(1): 169-175.

Fries JF, Spitz P, Kraines G, Holman HR. Measurement of patient outcome in arthritis. *Arthritis Rheum* 1980, 23(2): 137-145.

Frisbie DD, Al-Sobayil F, Billingham RC, Kawcak CE, McIlwraith CW: Changes in synovial fluid and serum biomarkers with exercise and early osteoarthritis in horses. *Osteoarthritis Cartilage* 2008, 16: 1196-1204.

Frizziero A, Maffulli N, Masiero S, Frizziero L: Six-month pain relief and functional recovery after intra-articular injections with hyaluronic acid (mw 500-730 KDa) in trapeziometacarpal osteoarthritis. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2014 Jul 14; 4(2): 256-61. eCollection 2014.

Garnero P, Ayral X, Rousseau JC, Christgau S, Sandell LJ, Dougados M, Delmas PD: Uncoupling of type II collagen synthesis and degradation predicts progression of joint damage in patients with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2002, 46: 2613-2624.

Garnero P: Biochemical Markers of Osteoarthritis. In: *Osteoarthritis - A Companion to rheumatology.* Sharma L, Berenbaum F, HRSG Mosby Elsevier 2007: 113-130.

Greenspan A. Erosive osteoarthritis. *Semin Musculoskelet Radiol* 2003, 7: 155-159.

Grogan SP, Miyaki S, Hiroshi A, D'Lima DD, Lotz MK: Mesenchymal progenitor cell markers in human articular cartilage: normal distribution and changes in osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2009, 11(3): R85.

Grotle M, Hagen KB, Natvig B, Dahl FA, Kvien TK: Obesity and osteoarthritis in Knee, Hip and/or hand: An epidemiological study in the general population with 10 years follow up. *BMC Musculoskeletal Disord.* 2008, 9: 132.

Gupta K, Shukla M, Cowland JB, Malemud CJ, Haqqi TM: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is expressed in osteoarthritis and forms a complex with matrix metalloproteinase 9. *Arthritis Rheum* 2007, 56(10): 3326-3335.

Hackenbroch MH. Periphere Arthrosen. In: *Praxis der konservativen Orthopädie*. Bischoff HP, Heisel J, Locher H, Hrsg. Thieme, 2007, 478-493.

Hämäläinen S, Solovieva S, Vehmas T, Leino-Arjas P, Hirvonen A: Variations in the TNF $\alpha$  gene and their interactions with the IL4R and IL10 genes in relation to hand osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014(b), 15: 311. doi: 10.1186/1471-2474-15-311.

Hämäläinen S, Solovieva S, Vehmas T, Luoma K, Leino-Arjas P, Hirvonen A: Genetic influences on hand osteoarthritis in finish women - a replication study of candidate genes. *PloS One* 2014(a), 9 (5): e97417.

Hakala BE, White C, Recklies AD: Human cartilage gp-39, a major secretory product of articular chondrocytes and synovial cells, is a mammalian member of a chitinase protein family. *J Biol Chem* 1993, 268: 25803-25810.

Halász K, Kassner A, Mörgelin M, Heinegård DJ: COMP acts as a catalyst in collagen fibrillogenesis. *Biol Chem*. 2007, 28 (43): 31166-73.

Hammer PE, Shiri R, Kryger AI, Kirkeskov L, Bonde JP: Associations of work activities requiring pinch or hand grip or exposure to hand-arm vibration with finger and wrist osteoarthritis: a meta-analysis. *Scand J Work Environ Health* 2014, 40(2): 133-145.

Hart D, Spector TD: Definition and epidemiology of osteoarthritis of the hand: a review. *Osteoarthritis Cartilage* 2000, 8, Supplement A, 2-7.

Hart D, Spector TD, Egger P, Coggon D, Cooper C: Defining osteoarthritis of the hand for epidemiological studies. The Chingford Study. *Ann Rheum Dis* 1994, 53: 220-223.

Harvey S, Weisman m, O'Dell J: Chondrex, Scott T, Krusemeier M, Visor J, Swindlehurst C: New marker of joint disease. *Clin Chem* 1998, 44: 509-16.

Haugen IK, Hammer HB: Role of modern imaging techniques in hand osteoarthritis research and clinical practice. *Curr Rheumatol Rep* 2014, 16(2):399.

Hedbom E, Antonsson P, Hjerpe A, Aeschlimann D, Paulsson M, Rosa-Pimentel E, Sommarin Y, Wendel M, Oldberg A, Heinegård D: Cartilage matrix proteins. An acidic oligomeric protein (COMP) detected only in cartilage. *J Biol Chem* 1992, 267: 6132-6136.

Henning C, Rink L, Fagin U, Jabs WJ, Kirchner H: The influence of naturally occurring heterophilic anti-immunoglobulin antibodies on direct measurement of serum proteins using sandwich ELISAs. *J Immunol Methods* 2000, 235: 71-80.

Hochberg MC, Altman RD, April KT, Benkhalti M, Guyatt G, McGowan J, Towheed T, Welch V, Wells G, Tugwell P; American College of Rheumatology: American College of Rheumatology 2012 recommendations for the use of nonpharmacologic and pharmacologic therapies in osteoarthritis of the hand, hip, and knee. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2012, 64(4): 465-74.

Hochberg MC, Lethbridge-Cejku M, Scott WW Jr, Reichle R, Plato CC, Tobin JD: The association on body weight, body fatness and body fat distribution with osteoarthritis of the knee: data from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *J Rheumatol* 1995, 22(3): 488-493.

Hunter W, Budd P: Circulating antibodies to ovine and bovine immunoglobulin in healthy subjects: a hazard for immunoassays. *The Lancet* 1980, 2: 1136-7.

Hunter DJ, Li J, LaValley M, Bauer DC, Nevitt M, DeGroot J, Poole R, Eyre D, Guermazi A, Gale D, Felson DT: Cartilage markers and their association with cartilage loss on magnetic resonance imaging in knee osteoarthritis: the Boston Osteoarthritis Knee Study. *Arthritis Res Ther* 2007, 9(5): R108.

Jansen NW, Roosendaal G, Lundin G, Heijnen L, Mauser-Bunschoten E, Bijlsma JW, Theobald M, Lafeber FP: The combination of the biomarkers urinary C-terminal telopeptide of type II collagen, serum cartilage oligomeric matrix protein, and serum chondroitin sulfate 846 reflects cartilage damage in hemophilic arthropathy. *Arthritis Rheum* 2009, 60(1): 290-298.

Janssen BA, Liqmani TA, Gordon C, Hemingway IH, Bacon PA, Gearing AJ, Emery P: Correlation of blood levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 with disease activity in systemic lupus erythematosus and vasculitis. *Br J Rheumatol* 1994, 33: 1112-1116.

Johansen JS, Christoffersen P, Møller S, Price PA, Henriksen JH, Garbarsch C, Bendtsen F: Serum YKL-40 is increased in patients with liver fibrosis. *J Hepatol* 2000, 32: 911-920.

Johansen JS, Cintin C, Jørgensen M, Kamby C, Price PA: Serum YKL-40: a new potential marker of prognosis and location of metastasis of patients with recurrent breast cancer. *Eur J Cancer* 1995, 31A: 1437-1442.

Johansen JS, Hvolris J, Hansen M, Backer V, Lorenzen I, Price PA: Serum YKL-40 levels in healthy children and adults: comparison with serum and synovial fluid levels of YKL-40 in patients with osteoarthritis or trauma of the knee joint. *Br J Rheumatol* 1996, 35: 553-559.

Johansen JS, Olee T, Price PA, Hashimoto S, Ochs RL, Lotz M: Regulation of YKL-40 production by human articular Chondrocytes. *Arthritis Rheum* 2001, 44: 826-837.

Johansen JS, Stoltenberg M, Hansen M, Florescu A, Hørslev-Petersen K, Lorenzen I, Price PA: Serum YKL-40 concentrations in patients with rheumatoid arthritis: relation to disease activity. *Rheumatology (Oxford)* 1999, 38: 618-626.

Johansen JS, Lottenburger T, Nielsen HJ, Jensen JE, Svendsen MN, Kollerup G, Christensen IJ: Diurnal, weekly, and long-time variation in Serum concentrations of YKL-40 in healthy subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008, 17(10): 2603-2608.

Jordan JM, Luta G, Stabler T, Renner JB, Dragomir AD, Vilim V, Hochberg MC, Helmick CG, Kraus VB: Ethnic and sex differences in serum levels of cartilage oligomeric matrix protein: the Johnston County Osteoarthritis Project. *Arthritis Rheum* 2003, 48: 675-681.

Joshi R: Intraarticular corticosteroid injection for first carpometacarpal osteoarthritis. *J Rheumatol* 2005, 32: 1305-6.

Kalichman L, Cohen Z, Kobylansky E, Livishits G: Patterns of joint distribution in hand osteoarthritis: contribution of age, sex and handedness. *Am J Hum Biol* 2004, 16: 125-134.

Kalichman L, Pantsulaia I, Kobylansky E: Association between vascular cell adhesion molecule 1 and radiographic hand osteoarthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2011, 29(3): 544-546.

Kallman D, Wigley FM, Scott WW Jr, Hochberg MC, Tobin JD: New radiographic grading scales for osteoarthritis of the hand. Reliability for determining prevalence and progression. *Arthritis Rheum* 1989, 32(12): 1584–1591.

Kallman DA, Wigley FM, Scott WW, Hochberg MC, Tobin JD: The longitudinal course of hand osteoarthritis in a male population. *Arthritis Rheum* 1990, 33: 1323-1332.

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

Kellgren JH, Lawrence JS, Bier F: Genetic factors in generalized osteo-arthrosis. *Ann Rheum Dis* 1963, 22: 237-255.

Kijowski R, Blankenbaker D, Stanton P, Fine J, De Smet A: Arthroscopic validation of radiographic grading scales of osteoarthritis of the tibiofemoral joint. *AJR* 2006, 187: 794-799.

Kim HR, Lee JH, Kim KW, Kim BM, Lee SH: The relationship between synovial fluid VEGF and serum leptin with ultrasonographic findings in knee osteoarthritis. *Int J Rheum Dis* 2014 Dec 20. doi: 10.1111/1756-185X.12486 [Epub ahead of print], 2016 Mar; 19(3): 233-40.

Kjeldsen L, Johansen AH, Sengelov H, Borregaard N: Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J Biol Chem* 1993, 268: 10425-10432.

Klimiuk PA, Sierakowski S, Latosiewicz R, Cylwik JP, Cylwik B, Skowronski J, Chwiecko J: Soluble adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1 and E-selection) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with distinct variants of rheumatoid synovitis. *Ann Rheum Dis* 2002, 61: 804-809.

Kobayashi T, Yoshihara Y, Samura A, Yamada H, Shinmei M, Roos H, Lohmander LS: Synovial fluid concentrations of the C-propeptide of type II collagen correlate with body mass index in primary knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1997, 56: 500-3.

Koch AE, Halloran MM, Haskell CJ, Shah MR, Polverini PJ: Angiogenesis mediated by soluble forms of E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1. *Nature* 1995, 376: 517-519.

Kong SY, Stabler TV, Criscione LG, Elliott AL, Jordan JM, Kraus VB: Diurnal variation of serum and urine biomarkers in patients with radiographic knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2006, 54(8): 2496-2504.

Kosinska MK, Ludwig TE, Liebisch G, Zhang R, Siebert HC, Wilhelm J, Kaesser U, Dettmeyer RB, Klein H, Ishaque B, Rickert M, Schmitz G, Schmidt TA, Steinmeyer J: Articular joint lubricants during osteoarthritis and rheumatoid arthritis display altered levels and molecular species. *J PLoS One* 2015, 10 (5): e0125192 doi:10.1371/journal.pone.0125192.

Krahn J, Parry D, Leroux M, Dalton J: High percentage of false positive cardiac troponin I results in patients with rheumatoid factor. *Clin Biochem* 1999, 32: 477-480.

Kraus VB: Biomarkers in Osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2005, 17: 641-646.

Kraus VB, Kepler TB, Stabler T, Renner J, Jordan J: First qualification study of serum biomarkers as indicators of total body burden of osteoarthritis. *J PLoS One* 2010, 5(3): e9739. doi: 10.1371/journal.pone.0009739.

Kricka L: Human-anti-animal antibody interferences in immunological assays. *Clin Chem* 1999, 45(7): 942-956.

Krumm J, Tamm A, Lintrop M: Association between ultrasonographic findings and bone/cartilage biomarkers in patients with early-stage knee osteoarthritis. *Calcif Tissue Int* 2009, 85: 514-522.

Kwork WY, Plevier JWM, Rosendaal FR, Huizinga TWJ, Kloppenburg M: Risk Factors for Progression in Hand Osteoarthritis: A Systematic Review. *Arthritis Care & Research* 2013, 65(4): 552-562.

Larsson E, Erlandsson HH, Larsson A, Mansson B, Saxne T, Klareskog L: Corticosteroid treatment of experimental arthritis retards cartilage destruction as determined by histology and serum COMP. *Rheumatology (Oxford)* 2004, 43:428-434.

Lianxu C, Hongti J, Changlong Y: NF-kappaBp65-specific siRNA inhibits expression of genes of COX-2, NOS-2 and MMP-9 in rat IL-1beta-induced and TNF-alpha-induced chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage* 2006, 14(4): 367-76.

Lin J, Zhang W, Jones A, Doherty M: Efficacy of topical non-steroidal antiinflammatory drugs in the treatment of osteoarthritis: meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2004, 329: 324.

Ling SM, Patel DD, Gaenero P, Zhan M, Vaduganathan M, Muller D, Taub D, Bathon JM, Hochberg M, Abernethy DR, Metter EJ, Ferrucci L: Serum protein signatures detect early radiographic osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2009, 17: 43-48.

Lohmander LS: Proteoglycans of joint cartilage. Structure, function, turnover and role as markers of joint disease. *Baillieres Clin Rheumatol* 1988, 2: 37-62.

Lohmander LS, Ionescu M, Jugessor H, Poole AR: Changes in joint cartilage aggrecan after knee injury and in osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1999, 42: 534-544.

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

Lohmander LS, Yoshihara Y, Roos H, Kobayashi T, Yamada H, Shinmei M: Procollagen II C-propeptide in joint fluid. Changes in concentration with age, time after joint injury and osteoarthritis. *J Rheumatol* 1996, 23: 1765–1769.

Maheu E, Altman R, Bloch DA, Doherty M, Hochberg M, Mannoni A, Punzi L, Spector T, Verbruggen G; Osteoarthritis Research Society International Hand OA Task Force, Carr A, Cicuttini F, Dreiser RL, Haraoui BP, Hart D, Pelletier J, Ramonda R, Rovati L: Design and conduct of clinical trials in patients with osteoarthritis of the hand: recommendations from a task force of the Osteoarthritis Research Society International. *Osteoarthritis Cartilage* 2006, 14: 303-322.

Maheu E, Cadet C, Gueneugues S, Ravaud P, Dougados M: Reproducibility and sensitivity to change of four scoring methods for the radiological assessment of osteoarthritis of the hand. *Ann Rheum Dis* 2007, 66: 464-469.

Manssen B, Carey D, Alini M, Ionescu M, Rosenberg LC, Poole AR, Heinegård D, Saxne T: Cartilage and bone metabolism in rheumatoid arthritis. Differences between rapid and slow progression of disease identified by serum markers of cartilage metabolism. *J Clin Invest* 1995, 95: 1071-1077.

Marshall M, Dziedzic KS, van der Windt DA, Hay EM: A systematic search and narrative review of radiographic definitions of hand osteoarthritis in population-based studies. *Osteoarthritis Cartilage* 2008, 16: 219-226.

Martel-Pelletier J, Raynauld JP, Dorais M, Abram F, Pelletier JP: The levels of the adipokines adiponin and leptin are associated with knee osteoarthritis progression as assessed by MRI and incidence of total knee replacement in symptomatic osteoarthritis patients: a post hoc analysis. *Rheumatology (Oxford)* 2016, 55(4): 680-688.

Martin JA Buckwalter JA: Aging, articular cartilage chondrocyte senescence and osteoarthritis. *Biogerontology* 2002, 3: 257-264.

Mazières M, Garnero P, Guéguen A, Abbal M, Berdah L, Lequesne M, Nguyen M, Salles JP, Vignon E, Dougados M: Molecular markers of cartilage breakdown and synovitis at baseline as predictors of structural progression of hip osteoarthritis. The ECHODIAH Cohort. *Ann Rheum Dis* 2006, 65: 354-359.

McAlindon TE, Bannuru RR, Sullivan MC, Arden NK, Berenbaum F, Bierma-Zeinstra SM, Hawker GA, Henrotin Y, Hunter DJ, Kawaguchi H, Kwoh K, Lohmander S, Rannou F, Roos EM, Underwood M1: OARSI guidelines for the non-surgical management of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2014, 22(3): 363-88. doi: 10.1016/j.joca.2014.01.003. Epub 2014 Jan 24.

McInnes IB, Al-Mughales J, Field M, Leung BP, Huang FP, Dixon R, Sturrock RD, Wilkinson PC, Liew FY: The role of interleukin-15 in T-cell migration and activation in rheumatoid arthritis. *Nature Medicine* 199, 2(2): 175-182.

Meenagh GK, Patton J, Kynes C, Wright GD: A randomised controlled trial of intra-articular corticosteroid injection of the carpometacarpal joint of the thumb in osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2004, 63: 1260-3.

Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, Barasch J, Devarajan P: Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol* 2003, 14: 2534-2543.

Mjumdar MK, Wang E, Morris EA: BMP-2 and BMP-9 promotes chondrogenic differentiation of human multipotential mesenchymal cells and overcomes the inhibitory effect of IL-1. *J Cell Physiol* 2001, 189: 275-284.



Monier F, Surla A, Guillot M, Morel F: Gelatinase isoforms in urine from bladder cancer patients. *Clin Chim Acta* 2000, 299: 11-23.

Moore RA, Tramer MR, Carroll D, Wiffen PJ, McQuay HJ: Quantitative systematic review of topically applied non-steroidal anti-inflammatory drugs. *BMJ* 1998, 316:333–8 [erratum appears in *BMJ* 1998, 316: 1059].

Mündermann A, Dyrby CO, Andriacchi TP, King KB: Serum concentration of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) is sensitive to physiological cyclic loading in healthy adults. *Osteoarthritis Cartilage* 2005, 13(1): 34-38.

Nah HD, Upholt WB: Type II collagen mRNA containing an alternatively spliced exon predominates in the chick limb prior to chondrogenesis. *J Biol Chem* 1991, 266: 23446–23452.

Nahm M, Hoffman J: Heterophilic antibody: Phantom of the immunoassay. *Clin Chem* 1990, 36(6): 829 (Editorial).

Neidhart M, Müller-Ladner U, Frey W, Bosserhoff AK, Colombani PC, Frey-Rindova P, Hummel KM, Gay RE, Häuselmann H, Gay S: Increased serum levels of non-collagenous matrix proteins (cartilage oligomeric matrix protein and melanoma inhibitory activity) in marathon runners. *Osteoarthritis Cartilage* 2000, 8: 222-229.

Niu J, Zhang Y, LaValley M, Chaisson CE, Aliabadi P, Felson DT: Symmetry and clustering of symptomatic hand osteoarthritis in elderly men and woman: the Framingham Study. *Rheumatology* 2003, 42(2): 343-348.

Oldberg A, Antonsson T, Lindblom K, Heinegård D: COMP (cartilage oligomeric matrix protein) is structurally related to the thrombospondins. *J Biol Chem* 1992; 267: 22346-22350.

Oliveria SA, Felson DT, Klein RA, Reed JI, Walker AM: Estrogen replacement therapy and the development of osteoarthritis. *Epidemiology* 1996, 7: 415-419.

Oliveria SA, Felson DT, Reed JI, Cirillo PA, Walker AM: Incidence of symptomatic hand, hip and knee osteoarthritis among patients in a health maintenance organization. *Arthritis Rheum* 1995, 38(8): 1134-1141.

Oliviero F, Ramonda R, Punzi L: New horizons in osteoarthritis. *Swiss Med Wkly* 2010, 140: w13098.

Orita S, Koshi T, Mitsuka T, Miyagi M, Inoue G, Arai G, Ishikawa T, Hanaoka E, Yamashita K, Yamashita M, Eguchi Y, Toyone T, Takahashi K, Ohtori S: Associations between proinflammatory cytokines in the synovial fluid and radiographic grading and pain-related scores in 47 consecutive patients with osteoarthritis of the knee. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2011, 12: Artikel 144.

Pantsulaia I, Kalichman L, Kobylansky E: Association between radiographic hand osteoarthritis and RANKL, OPG and inflammatory markers. *Osteoarthritis Cartilage* 2010, 18(11): 1448-1453.

Perera LP: Interleukin 15: its role in inflammation and immunity. *Arch Immunol Ther Exp. (Warsz)* 2000, 48: 457-464.

Perera PY, Lichy JH, Waldmann TA: The role of interleukin-15 in inflammation and immune responses to infection: implications for its therapeutic use. *Microbes and Infection* 2012, 14: 247-261.

Pervais S, Brew K: Homology and structure-function correlations between alpha 1-acid glycoprotein and serum retinol-binding protein and its relatives. *FASEB J* 1987, 1: 209-214.

Petersson IF, Sandqvist L, Svensson B, Saxane T: Cartilage markers in synovial fluid in symptomatic knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1997, 56: 64-67.

Pincus T, Summey J, Soraci S, Wallston KA, Hummon NP: Assessment of Patient Satisfaction in activities of daily living using a modified stanford health assessment questionnaire. *Arthritis Rheum* 1983, 26(11): 1346-1353.

Poole B, Lowther D: The effect of chondroitin sulphate protein on the formation of collagen fibrils in vivo. *Biochem J* 1968, 109: 857.

Punzi L, Ramonda R, Olivero F, Sfriso P, Mussap M, Plebani M, Podswiadek M, Todesco S.: Value of C reactive protein in the assessment of erosive osteoarthritis of the hand. *Ann Rheum Dis* 2005, 64: 955-957.

Punzi L, Ramonda R, Sifriso P: Erosive Osteoarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2004, 18: 739-758.

Pulsatelli L, Assirelli E, Doiziani P, Addimanda O, Mancarella L, Pavloska B, Facchini A, Meliconi R: Increased serum vascular cell adhesion molecule (VCAM)-1 levels in patients with erosive hand osteoarthritis. *Rheumatology* 2013, 52: 400-402.

Quintana DJ, Garnero P, Huebner MS, Charni-Ben Tabassi N, Kraus VB: PIIANP and HELIXII diurnal variation. *Osteoarthritis Cartilage* 2008, 16: 1192-1195.

Ramonda R, Lorenzin M, Modesti V, Campana C, Ortolan A, Frallonardo P, Punzi L: Serological markers of erosive hand osteoarthritis. *Eur J Intern Med* 2013, 24(1):11-15.

Rau R, Wasserberg S: Bildgebenden Verfahren in der Rheumatologie: Scoring-Methoden bei der rheumatoiden Arthritis. *Z Rheumatol* 2003, 62: 555-565.

Reginato AM, Olsen BR: The role of structural genes in the pathogenesis of osteoarthritic disorders. *Arthritis Res* 2002, 4: 337-345.

Ricard-Blum S: The collagen family. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011, 3(1): a004978.

Rizkalla G, Teiner A, Bogoch E, Poole AR: Studies of the articular cartilage proteoglycan aggrecan in health and osteoarthritis: Evidence for molecular heterogeneity and extensive molecular changes in disease. *J Clin Invest* 1992, 90: 2268-2277.

Roach HI, Aigner T, Soder S, Haag J, Welkerling H: Pathobiology of osteoarthritis: Pathomechanisms and potential therapeutic targets. *Current Drug Targets* 2007, 8(2): 271-282.

Rotmensch S, Cole LA: False diagnosis and needless therapy of human chorionic gonadotropin concentrations. *The Lancet* 2000, 355: 712-715.

Rousseau JC, Zhu Y, Miossec P, Vignon E, Sandell LJ, Garnero P, Delmas PD: Serum levels of type II A procollagen amino terminal propeptide (PIIANP) are decreased in patients with knee osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2004, 12: 440-447.

Rovetta G, Monteforte R, Grignolo MC, Brignone A, Buffrini L: Hematic levels of type I collagen C-telopeptide in erosive versus nonerosive osteoarthritis of the hand. *Int J Tissue React* 2003, 25(1): 25-28.

Ryan MC, Sandell LJ: Differential expression of a cysteine-rich domain in the amino-terminal propeptide of type II (cartilage) procollagen by alternative splicing of mRNA. *J Biol Chem* 1990, 265: 10334-10339.

Saari H, Konttinen YT, Nordström D: Effect of joint mobilisation on serum hyaluronate. *Ann Med* 1991, 23: 29-32.

Saxne T, Heinegard D: Cartilage oligomeric matrix protein: a novel marker of cartilage turnover detectable in synovial fluid and blood. *Br J Rheumatol* 1992, 31: 583- 591.

Schett G, Kichl S, Bonora E, Zwerina J, Mayr A, Axmann R, Weger S, Oberhollenzer F, Lorenzini R, Willeit J: Vascular cell adhesion molecule 1 as a predictor of severe osteoarthritis of the hip and knee joints. *Arthritis Rheum* 2009, 60(8): 2381-2389.

Scanzello CR, Umoh E, Pessler F, Diaz-Torne C, Miles T, Dicarolo E, Potter HG, Mandl L, Marx R, Rodeo S, Goldring SR, Crow MK: Local cytokine profiles in knee-osteoarthritis: elevated synovial fluid interleukin-15 differentiates early from end-stage disease. *Osteoarthritis Cartilage* 2009, 17: 1040-1048.

Scher JU, Pillinger MH, Abramson SB: Nitric oxide synthases and osteoarthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2007, 9: 9-15.

Schumacher HR, Meador R, Sieck M, Mohammed Y: Pilot investigation of hyaluronate injections for first metacarpal-carpal (MC-C) osteoarthritis. *J Clin Rheumatol* 2004, 10:59–62.

Selby C: Interference in immunoassay. *Ann Clin Biochem* 1999, 36: 704-721.

Seo SK, Yang HI, Lim KJ, Jeon YE, Choi YS, Cho S, Lee BS: Changes in serum levels of cartilage oligomeric matrix protein after estrogen and alendronate therapy in postmenopausal women. *Gynecol Obstet Invest* 2012, 74(2): 143-50.

Sharif M, Granell R, Johansen J, Clarke S, Elson C, Kirwan JR: Serum cartilage oligomeric matrix protein and other biomarker profiles in tibiofemoral and patellofemoral osteoarthritis of the knee. *Rheumatology (Oxford)* 2006, 45: 522-526.

Sharif M, Kirwan JR, Charni N, Sandell LJ, Whittles C, Garner P: A 5yr longitudinal study of type II collagen synthesis and total type II collagen degradation in patients with knee osteoarthritis-association with disease progression. *Rheumatology (Oxford)* 2007, 46: 938-943.

Sharif M, Kirwan JR, Elson CJ, Granell R, Clarke S: Suggestion of nonlinear or phasic progression of knee osteoarthritis based on measurements of serum cartilage oligomeric matrix protein levels over five years. *Arthritis Rheum* 2004, 50: 2479-2488.

Shi J, Liang Q, Zuscik M, Shen J, Chen D, Xu H, Wang YJ, Chen Y, Wood RW, Li J, Boyce BF, Xing L: Distribution and alteration of lymphatic vessels in knee joints of normal and osteoarthritic mice. *Arthritis Rheum* 2014, 66(3): 657-666.

Silvestri T, Pulsatelli L, Dolzani P, Punzi L, Meliconi R: Brief report. Analysis of cartilage biomarkers in erosive and non-erosive osteoarthritis of the hand. *Osteoarthritis Cartilage* 2004, 12: 843-845.

Sledge CB, Redi AH, Walsh DA, Blake DR. Chapter 1, Biology of the normal joint. In: Kelley WN, Ruddy S, Harris ED, Sledge CB et al. *Kelly's Textbook of Rheumatology*. Vol 1, 6<sup>th</sup> Edition. Philadelphia, PA WB Saunders; 2001, 1-26.

Sosolik RC, Hitchcock CL, Becker WJ: Heterophilic antibodies produce spuriously elevated concentrations of the MB isoenzyme of creatine kinase in a selected patient population. *Am J Clin Pathol* 1997, 107: 506-510.

Sowers MF, Zobel D, Weissfeld L, Hawthorne VM, Carman W: Progression of osteoarthritis of the hand a metacarpal bone loss: a twenty-year follow-up of incident cases. *Arthritis Rheum* 1991, 34(1): 36-42.

Spector TD, Campion GD: Generalized osteoarthritis a hormonally mediated disease. In: *Ann Rheum Dis* 1989, 48: 523-527.

Spector TD, Cooper C: Radiographic assessment of osteoarthritis in population studies: whither Kellgren and Lawrence? *Osteoarthritis Cartilage* 1993, 1: 203-206.

Spector TD, Hart DJ, Doyle DV: Incidence and progression of osteoarthritis in women with unilateral knee disease in the general population: the effect of obesity. *Ann Rheum Dis* 1994, 53: 565-568.

Spector TD, Nandra D, Hart DJ, Doyle DV: Is hormone replacement therapy protective for hand and knee osteoarthritis in women? The Chingford study. *Ann Rheum Dis* 1997, 56: 432-434.

Steinmeyer J und Kottinen YT: Oral treatment options for degenerative joint disease – presence and future. *Adv Drug Delv Rev* 2006, 58 (2): 168-211.

Stoesz SP, Friedl A, Haag JD, Lindstrom MJ, Clark GM, Gould MN: Heterogeneous expression of the lipocalin (NGAL) in primary breast cancer. *Int J Cancer* 1998, 79: 565-572.

Sudhoff T, Wehmeier A, Kliche KO, Aul C, Schlömer P, Bauser U, Schneider W: Levels of circulating endothelial adhesion molecules (sE-selectin and sVCAM-1) in adult patients with acute leukemia. *Leukemia* 1996, 10: 682-686.

Sun JM, Sun LZ, Liu J, Su BH, Shi L: Serum interleukin-15 levels are associated with severity of pain in patients with knee osteoarthritis. *Dis Markers* 2013, 35(3): 203–206.

Szoeke CE, Cicuttini FM, Guthrie JR, Clark MS, Dennerstein L: Factors affecting the prevalence of osteoarthritis in healthy middle-aged women: data from the longitudinal Melbourne Women's Midlife Health Project. *Bone* 2006, 39: 1149-1155.

Tetlow LC, Adlam DJ, Woolley DE: Matrix metalloproteinase and proinflammatory cytokine production by chondrocytes of human osteoarthritic cartilage. *Arthritis Rheum* 2001, 44(3): 585-594.

Thonar EJ, Shinmei M, Lohmander LS: Body fluid markers of cartilage changes in osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 1993, 19: 635.

Towheed TE, Maxwell L, Anastassiades TP, Shea B, Houpt J, Robinson V, Hochberg MC, Wells G: Glucosamine therapy for treating osteoarthritis (Cochrane review). In: *The Cochrane Library*, Issue 3, 2006. Chichester, UK: Wiley.

Tseng S, Reddi HA, Di Cesare PE: Cartilage oligomeric matrix protein (COMP): a biomarker of arthritis. *Biomark Insights* 2009, 4: 33-44.

Urban J: The chondrocyte: A cell under pressure. *Br J Rheumatol* 1994, 33: 901.

Vaes RB, Rivadeneira F, Kerkhof JM, Hofman A, Pols HA, Uitterlinden AG, van Meurs JB: Genetic variation in the GDF5 region is associated with osteoarthritis, height, hip axis length and fracture risk: The Rotterdam study. *Ann Rheum Dis* 2009, 68(11): 1754-1760.

Valdes AM, Spector TD: The contribution of genes to osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2008, 34(3): 581-603.

Van der Heijde DM: Plain X-rays in rheumatoid arthritis: overview of scoring methods, their reliability and applicability. *Baillière's Clin Rheumatol* 1996, 10(3): 435-453.

Van der Heijde DM, Van Riel PL, Nuver-Zwart IH, Gribnau FW, Van de Putte LB: Effects of hydroxychloroquine and sulphasalazine on progression of joint damage in rheumatoid arthritis. *The Lancet* 1989, 333: 1036-1038.

Van Saase J, Van Romunde L, Cats A, Vandenbroucke JP, Valkenburg HA: Epidemiology of osteoarthritis: Zoetermeer survey. Comparison of radiological osteoarthritis in a dutch population with that in 10 other populations. *Ann Rheum Dis* 1989, 48: 271-280.

Van Spil WE, DeGroot J, Lems WF, Oostveen JC, Lafeber FP: Serum and urinary biochemical markers for knee and hip-osteoarthritis: a systematic review applying the consensus BIPED criteria. *Osteoarthritis Cartilage* 2010, 18: 605-612.

Verbruggen G, Veys EM: Numerical scoring systems for the anatomic evolution of osteoarthritis of the finger joints. *Arthritis Rheum* 1996, 39: 308-320.

Verbruggen G, Veys EM: Numerical scoring systems for the progression of osteoarthritis of the finger joints. *Arthritis Rheum* 1996, 39: 308-320.

Verstappen SM, Poole A, Ionexu M, King LE, Abrahamowicz M, Hofman DM, Bijlsma JW, Lafeber FP; Utrecht Rheumatoid Arthritis Cohort Study group (SRU): Radiographic joint damage in rheumatoid arthritis is associated with differences in cartilage turnover and can be predicted by serum biomarkers: an evaluation from 1 to 4 years after diagnosis. *Arthritis Res Therapy* 2006, 8: R31.

Vignon E, Conrozier T, Hellio Le Graverand MP: Advances in radiographic imaging of progression of hip and knee osteoarthritis. *J Rheumatol* 2005, 32:1143-1145.

Vilim V, Olejarova M, Machacek S, Gatterová J, Kraus VB, Pavelka K: Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) correlate with radiographic progression of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2002, 10(9): 707-713.

Visser AW, Loan-Facsinay A, Mutsert R, Widya RL, Loef M, de Roos A, le Cessie S, den Heijer M, Rosendaal FR, Kloppenburg M; NEO Study Group: Adiposity and hand osteoarthritis: the Netherlands Epidemiology of Obesity study. *A Res Ther* 2014, 16(1): R19.

Vlad SC, Neogi T, Aliabadi P, Fontes JD, Felson DT: No association between markers of inflammation and osteoarthritis of the hands and knees. *J Rheumatol* 2011, 38(8): 1665-1670.

Volck B, Johansen JS, Stoltenberg M, Garbarsch C, Price PA, Ostergaard M, Ostergaard K, Løvgreen-Nielsen P, Sonne-Holm S, Lorenzen I: Studies on YKL-40 in knee joints of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Involvement of YKL-40 in the joint pathology. *Osteoarthritis Cartilage* 2001, 9: 203-214.

Volck B, Østergaard K, Johansen JS, Garbarsch C, Price PA: The distribution of YKL-40 in osteoarthritic and normal human articular cartilage. *Scand J Rheumatol* 1999, 28: 171-179.

Ward G, Mc Kinnon L, Badrick T, Hickman PE: Heterophilic antibodies remain a problem for the immunoassay laboratory. *Am J Clin Pathol* 1997, 108: 417-421.

Weiss S, Lastayo P, Mills A, Bramlet D: Splinting the degenerative basal joint: custom-made or prefabricated neoprene? *J Hand Ther* 2004, 17: 401-406.

Welsch U: Sobotta Lehrbuch Histologie, Elsevier Urban & Fischer 2. Auflage 2006 ISBN 3-437-42421-1, Kapitel 3.2.4, 116-131.

Wilson R, Belluoccio D, Little CB, Fosang AJ, Bateman JF: Proteomic characterization of mouse cartilage degradation in vitro. *Arthritis Rheum* 2008, 58(10): 3120-3131.

Wu W, Billingham J, Pidoux I, Antoniou J, Zukor D, Tanzer M, Poole AR: Sites of collagenase cleavage and denaturation of type II collagen in aging and osteoarthritic articular cartilage and their relationship to the distribution of matrix metalloproteinase 1 and matrix metalloproteinase 13. *Arthritis Rheum* 2002, 46(8): 2087-2094.



Xie DL, Hui F, Homandberg GA: Fibronectin fragments alter matrix protein synthesis in cartilage tissue cultured in vitro. *Arch Biochem Biophys* 1993, 307: 110-8.

Xu SY, Pauksen K, Venge P: Serum measurements of human neutrophil lipocalin (HNL) discriminate between acute bacterial and viral infections. *Scand J Clin Lab Invest* 1995, 55: 125-131.

Yan L, Borregaard N, Kjeldsen L, Moses MA: The high molecular weight urinary matrix metalloproteinase (MMP) activity is a complex of gelatinase B/MMP-9 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): modulation of MMP-9 activity by NGAL. *J Biolchem* 2001, 276: 37258-37265.

Yusuf E, Nelissen RG, Kloppenburg M, Stojanovic-Susulic V, DeGroot J, van Osch G, Middeldorp S, Huizinga TW, Kloppenburg M: Association between weight or body mass index and hand osteoarthritis: a systematic review. *Ann Rheum Dis* 2010, 69: 761-765.

Yusuf E, Ioan-Facsinay A, Bijsterbosch J, Klein-Wieringa I, Kwekkeboom J, Slagboom PE, Huizinga TW, Kloppenburg M: Association between leptin, adiponectin and resistin and long-term progression of hand osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2011, 70: 1282-1284.

Zegera B, Cermelli S, Michelis B, Cancedda R, Cancedda FD: Expression of NRL/NGAL during mammalian embryonic development and in inflammation. *Eur J Cell Biol* 2000, 79: 165-172.

Zhang W, Doherty M, Leeb BF, Alekseeva L, Arden NK, Bijlsma JW, Dinçer F, Dziedzic K, Häuselmann HJ, Herrero-Beaumont G, Kaklamanis P, Lohmander S, Maheu E, Martín-Mola E, Pavelka K, Punzi L, Reiter S, Sautner J, Smolen J, Verbruggen G, Zimmermann-Górska I.: EULAR evidence based recommendations for the management of hand osteoarthritis: report of a Task Force of the EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCISIT). *Ann Rheum Dis* 2007, Mar;66(3):377-88. Epub 2006 Oct 17.

Zhang W, Moskowitz RW, Nuki G, Abramson S, Altman RD, Arden N, Bierma-Zeinstra S, Brandt KD, Croft P, Doherty M, Dougados M, Hochberg M, Hunter DJ, Kwok K, Lohmander LS, Tugwell P: OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, Part II: OARSI evidence-based, expert consensus guidelines. *Osteoarthritis Cartilage* 2008, 16(2): 137-62. doi: 10.1016/j.joca.2007.12.013.

Zhang Y, Niu J, Kelly-Hayes, Chaisson CE, Aliabadi P, Felson DT: Prevalence of symptomatic hand osteoarthritis and its impact on functional status among the elderly: The Framingham Study. *Am J Epidemiol* 2002, 64(5): 606-611.

Zhang P, Zhong ZH, Yu HT, Liu B: Significance of increased leptin expression in osteoarthritis patients. *PLoS One*. 2015 10(4): e0123224, eCollection 2015.

Živanović S, Rackov LP, Vojvodić D, Vučetić D: Human cartilage glycoprotein 39 - biomarker of joint damage in knee osteoarthritis. *Int Orthop* 2009, 33(4): 1165-1170.

## 12 Tabellarischer Anhang

### Tabelle 12.1 – Tabelle 12.7

#### Tabellen 12.1.1 – 12.1.5 Ergebnisse der zusätzlichen Laboruntersuchungen

#### Tabelle 12.1.1 Einfluss der Lagerungsdauer auf COMP, sVCAM-1 und PIIANP

	COMP [ng/ml]	sVCAM-1 [ng/ml]	PIIANP [ng/ml]
<b>Unteres Quartil</b>	-585,8	22,4	238,8
<b>Median</b>	-368,6	59,9	450,9
<b>Oberes Quartil</b>	-135,2	107,9	608,0
<b>Anzahl (n)</b>	8	7	8
<b>Mittelwert</b>	-381,9	63,5	425,8
<b>95% Konfidenzintervall</b>	-620,4 -116,9	8,8 110,9	244,6 657,1
<b>Wilcoxon- Rangsummentest, p- Wert</b>	0,008	0,047	0,008

Die Tabelle 12.1.1 zeigt die Ergebnisse des Einflusses der Lagerungsdauer für COMP, sVCAM-1 und PIIANP. Dargestellt sind die Kennwerte der im Ergebnissteil unter Kapitel 4.2.1 dargestellten Abbildung 9 a-c und die Ergebnisse des Wilcoxon-Rangsummentests. Die Berechnungen erfolgten mit den Differenzen der Biomarkerkonzentrationen von Proben mit einer Lagerungsdauer von 11 Monaten und denen ohne Lagerung (n = 8, sVCAM-1: n = 7). Ein  $p \leq 0,05$  wurde als Signifikanzniveau definiert.

**Tabelle 12.1.2 Einfluss der Lagerungsdauer auf CPII, IL-15, NGAL und C1,2C**

	<b>CPII [ng/ml]</b>	<b>IL-15 [pg/ml]</b>	<b>NGAL [ng/ml]</b>	<b>C1,2C [ng/ml]</b>
<b>Unteres Quartil</b>	-139,9	-0,68	-21,8	-70,1
<b>Median</b>	704,6	-0,38	-2,97	15,7
<b>Oberes Quartil</b>	1482,4	-0,14	12,5	45,7
<b>Anzahl (n)</b>	8	8	8	8
<b>Mittelwert</b>	737,4	-0,45	-5,02	-37,2
<b>95% Konfidenzintervall</b>	-201,7 1610,9	-0,68 -0,08	-22,1 16,2	-49,0 80,3
<b>Wilcoxon- Rangsummentest, p- Wert</b>	0,10	0,10	0,64	0,94

Die Tabelle 12.1.2 zeigt die Ergebnisse des Einflusses der Lagerungsdauer für CPI, IL-15, NGAL und C1,2C. Dargestellt sind die Kennwerte der im Ergebnissteil unter Kapitel 4.2.1 dargestellten Abbildung 9 a-d und die Ergebnisse des Wilcoxon-Rangsummentests. Die Berechnungen erfolgten mit den Differenzen der Biomarkerkonzentrationen von Proben mit einer Lagerungsdauer von 11 Monaten und denen ohne Lagerungszeit (n = 8). Ein  $p \leq 0,05$  wurde als Signifikanzniveau definiert.

**Tabelle 12.1.3 Einfluss von heterophilen Antikörpern**

	<b>IL-15 [pg/ml]</b>	<b>sVCAM-1 [ng/ml]</b>	<b>NGAL [ng/ml]</b>
<b>Unterer Wisker</b>	-2,49	-732,8	-28,1
<b>Unteres Quartil</b>	-1,28	-211,1	-11,1
<b>Median</b>	-0,73	19,4	2,32
<b>Oberes Quartil</b>	-0,34	209,0	8,81
<b>Oberer Wisker</b>	0,11	595,1	35,0
<b>Anzahl (n)</b>	12	12	12
<b>95% Konfidenzintervall</b>	-1,16 -0,03	-172,2 211,0	-6,76 11,4
<b>Wilcoxon- Rangsummentest, p-Wert</b>	0,001	0,79	0,97

Die Tabelle 12.1.3 zeigt die Ergebnisse des Einflusses von heterophilen Antikörper auf die Biomarker IL-15, sVCAM-1 und NGAL, die mittels Sandwich-ELISA-Technik untersucht wurden. Dargestellt sind die Ergebnisse des Wilcoxon-Rangsummentests, sowie die Boxplot-Kennwerte, der im Ergebnissteil unter Kapitel 4.2.2 dargestellten Notched-Boxplots (und Abbildung 12). Die Berechnungen erfolgten mit den Differenzen der Biomarkerkonzentrationen vor und nach Blockierung eventuell vorhandener heterophiler Antikörper mit HBT® (n = 12). Ein  $p \leq 0,05$  wurde als Signifikanzniveau definiert.

**Tabelle 12.1.4 Einfluss von wiederholtem Auftauen und Einfrieren der Proben auf COMP, C1,2C, PIIANP, CPII, VCAM-1**

<b>Auftau</b>	<b>COMP [ng/ml]</b>	<b>C1,2C [µg/ml]</b>	<b>PIIANP [ng/ml]</b>	<b>CPII [ng/ml]</b>	<b>sVCAM-1 [ng/ml]</b>
<b>Unteres Quartil</b>	-24,7	-0,04	-39,5	-2,81	-159,7
<b>Median</b>	55,1	0,04	-7,87	309,7	-102,0
<b>Oberes Quartil</b>	195,6	0,09	27,3	838,6	66,0
<b>Anzahl (n)</b>	8	8	8	7	8
<b>Mittelwert</b>	81,0	-0,01	-11,5	402,0	-41,1
<b>95% Konfidenzintervall</b>	-67,9 178,1	-0,03 0,12	-45,2 29,5	-192,8 812,1	-228,1 24,1
<b>Wilcoxon- Rangsummentest, p-Wert</b>	0,22	0,95	0,74	0,16	0,55

Die Tabelle 12.1.4 zeigt die Ergebnisse des Einflusses des wiederholten Auftauens und Einfrierens der Blutproben auf die Biomarkerkonzentrationen von COMP, C1,2C, PIIANP, CPII und sVCAM-1. Dargestellt sind die Ergebnisse des Wilcoxon-Rangsummentests und die Kennwerte der Abbildung 13 a – e (Kapitel 4.2.3). Die Berechnungen erfolgten mit den Differenzen der Biomarkerkonzentrationen vor und nach zweimaligem Einfrieren und Auftauen der Blutproben (n = 8, CPII: n = 7). Ein  $p \leq 0,05$  wurde als Signifikanzniveau definiert.

**Tabelle 12.1.5 Einfluss von wiederholtem Auftauen und Einfrieren der Proben auf NGAL und IL-15**

<b>Auftau</b>	<b>NGAL [ng/ml]</b>	<b>IL-15 [pg/ml]</b>
<b>Unterer Wisker</b>	2,30	-0,26
<b>Unteres Quartil</b>	4,02	0,12
<b>Median</b>	8,59	1,05
<b>Oberes Quartil</b>	11,71	1,57
<b>Oberer Wisker</b>	14,71	1,72
<b>Anzahl (n)</b>	8	8
<b>Mittelwert</b>	8,20	0,87
<b>95% Konfidenzintervall</b>	4,29 12,88	0,24 1,86
<b>Wilcoxon-Rangsummentest, p-Wert</b>	0,01	0,04

Die Tabelle 12.1.5 zeigt die Ergebnisse des Einflusses des wiederholten Auftauens und Einfrierens der Blutproben auf die Biomarkerkonzentrationen von NGAL und IL-15. Dargestellt sind die Ergebnisse des Wilcoxon-Rangsummentests und die Kennwerte der Abbildung 15 a und b (Kapitel 4.2.3). Die Berechnungen erfolgten mit den Differenzen der Biomarkerkonzentrationen vor und nach zweimaligem Einfrieren und Auftauen der Blutproben (n = 8). Ein  $p \leq 0,05$  wurde als Signifikanzniveau definiert.

**Tabelle 12.2 Übersicht über die ermittelten Konzentrationen der jeweiligen Biomarker vor und nach Belastung zu definierten Zeitpunkten im venösen Blut der Indexhand aller Studienteilnehmer**

Biomarker	Abnahmezeitpunkt	OA		Prä		Post	
		Mittelwert	± SD	Mittelwert	± SD	Mittelwert	± SD
		(Median)		(Median)		(Median)	
<b>CPII</b> [µg/ml]	Leerwert	1,75 (1,77)	0,83	1,62 (1,76)	0,80	1,93 (1,95)	1,36
	1 Min.	1,98 (1,70)	0,99	1,55 (1,31)	0,77	1,68 (2,14)	0,96
	2 Min.	1,79 (1,87)	0,91	1,12 (0,80)	0,67	0,77 (0,74)	0,13
	5 Min.	1,54 (1,36)	0,73	1,47 (1,29)	0,64	1,23 (1,28)	0,57
	10 Min.	1,71 (1,60)	0,70	1,25 (1,12)	0,63	1,50 (1,22)	0,77
	15 Min.	1,67 (1,56)	0,76	1,20 (1,09)	0,54	1,44 (1,40)	0,55
	30 Min.	1,77 (1,60)	0,70	1,25 (1,17)	0,55	1,65 (1,38)	0,83
	<b>Differenz</b> (Maximalkonz. - Leerwert)	0,62 (0,77)	0,92	0,13 (0,24)	0,43	-0,06 (0,17)	0,92
<b>C1,2C</b> [ng/ml]	Leerwert	647,8 (575,3)	232,8	556,1 (547,6)	143,78	931,2 (586,1)	1087,4
	1 Min.	622,9 (575,3)	159,9	519,6 (521,6)	139,88	917,2 (599,9)	1012,2
	2 Min.	596,3 (615,1)	208,9	401,2 (360,2)	122,92	394,8 (372,0)	163,8
	5 Min.	530,1 (506,1)	230,9	385,7 (366,6)	107,51	648,4 (419,1)	707,6
	10 Min.	503,7 (460,6)	222,8	382,0 (329,4)	122,44	627,7 (453,3)	673,3
	15 Min.	537,0 (505,3)	212,1	362,8 (331,1)	111,58	652,2 (476,4)	648,4
	30 Min.	569,3 (514,4)	223,1	415,8 (387,8)	133,09	675,8 (460,5)	678,8
	<b>Differenz</b> (Maximalkonz. - Leerwert)	62,0 (114,0)	173,9	-26,2 (-23,4)	149,34	-2,20 (18,8)	217,2



Tabelle 12.2: Fortsetzung

Biomarker	Abnahme-zeitpunkt	OA		Prä		Post	
		Mittelwert (Median)	± SD	Mittelwert (Median)	± SD	Mittelwert (Median)	± SD
<b>COMP</b> [µg/ml]	Leerwert	1,89 (1,91)	0,39	1,22 (1,12)	0,26	1,65 (1,58)	0,40
	1 Min.	1,93 (1,92)	0,33	1,22 (1,16)	0,26	1,83 (1,81)	0,29
	2 Min.	1,83 (1,84)	0,27	1,28 (1,27)	0,34	1,74 (1,79)	0,33
	5 Min.	2,13 (2,15)	0,42	1,29 (1,23)	0,36	1,85 (1,92)	0,34
	10 Min.	2,04 (2,07)	0,39	1,28 (1,20)	0,29	1,89 (1,83)	0,34
	15 Min.	2,10 (2,13)	0,43	1,27 (1,23)	0,27	1,96 (1,89)	0,26
	30 Min.	2,10 (2,06)	0,42	1,35 (1,33)	0,28	1,89 (1,86)	0,31
	<b>Differenz</b> (Maximalkonz. - Leerwert)	0,40 (0,40)	0,26	0,24 (0,19)	0,40	0,41 (0,30)	0,33
<b>IL-15</b> [pg/ml]	Leerwert	2,75 (2,76)	1,04	2,60 (2,76)	0,93	2,50 (2,64)	1,10
	1 Min.	3,01 (3,22)	1,04	2,19 (2,04)	0,87	2,69 (2,25)	1,35
	2 Min.	2,28 (2,07)	1,04	2,32 (2,77)	1,30	2,95 (3,07)	0,77
	5 Min.	2,77 (2,70)	0,97	2,71 (2,79)	0,65	3,01 (2,67)	0,93
	10 Min.	2,51 (2,48)	0,78	2,46 (2,26)	0,87	2,95 (3,07)	0,62
	15 Min.	2,98 (2,43)	0,97	2,53 (2,16)	0,74	2,95 (2,87)	0,64
	30 Min.	2,72 (2,77)	0,92	2,69 (2,59)	0,78	3,12 (3,16)	0,72
	<b>Differenz</b> (Maximalkonz. - Leerwert)	1,00 (0,88)	1,12	0,49 (0,48)	1,11	1,21 (1,24)	1,06
<b>sVCAM-1</b> [ng/ml]	Leerwert	503,4 (462,4)	264,7	585,2 (627,4)	219,9	586,8 (587,8)	136,3
	1 Min.	465,6 (339,3)	260,1	521,7 (479,3)	221,9	511,9 (555,6)	173,5
	2 Min.	397,7 (346,7)	177,6	445,7 (415,9)	190,7	423,9 (346,1)	191,2
	5 Min.	538,6 (539,7)	213,9	486,0 (482,4)	222,3	469,1 (519,4)	189,5
	10 Min.	512,1 (539,9)	160,8	492,4 (461,0)	148,2	480,3 (457,9)	109,7
	15 Min.	534,4 (548,9)	145,9	504,1 (522,2)	133,1	505,9 (534,9)	134,6
	30 Min.	521,1 (529,5)	136,3	501,2 (524,4)	132,9	486,9 (504,1)	119,3
	<b>Differenz</b> (Maximalkonz. - Leerwert)	167,0 (189,6)	242,6	34,3 (39,7)	100,3	35,8 (-39,7)	171,1

Tabelle 12.2: Fortsetzung

Biomarker	Abnahmezeitpunkt	OA		Prä		Post	
		Mittelwert (Median)	± SD	Mittelwert (Median)	± SD	Mittelwert (Median)	± SD
<b>NGAL</b> [ng/ml]	Leerwert	106,8 (105,4)	43,6	120,1 (107,7)	58,2	128,2 (102,0)	72,5
	1 Min.	115,9 (106,1)	62,8	116,4 (101,1)	46,3	111,3 (104,1)	38,8
	2 Min.	153,6 (142,2)	49,3	119,4 (121,2)	57,2	117,6 (114,0)	18,2
	5 Min.	120,3 (102,8)	49,4	141,9 (126,1)	72,4	106,6 (90,0)	41,
	10 Min.	121,5 (93,8)	74,4	139,4 (129,9)	67,4	100,7 (89,3)	41,8
	15 Min.	122,1 (117,0)	51,8	127,5 (138,1)	56,0	86,1 (81,7)	43,0
	30 Min.	108,1 (93,6)	58,0	127,7 (94,9)	78,4	109,3 (96,3)	51,2
	<b>Differenz</b> (Maximalkonz. - Leerwert)	62,3 (39,2)	64,8	47,5 (21,2)	72,0	11,7 (24,5)	68,8
<b>PIIANP</b> [ng/ml]	Leerwert	1391,4 (1281,1)	428,1	1026,7 (893,2)	293,9	1172,0 (1029,3)	386,3
	1 Min.	1267,6 (1233,3)	432,1	1018,4 (935,6)	323,8	1043,9 (1018,3)	273,8
	2 Min.	1495,6 (1353,7)	610,0	949,8 (1013,4)	191,7	1071,2 (978,3)	359,8
	5 Min.	1168,4 (1129,9)	575,2	911,6 (846,3)	332,1	924,6 (859,8)	280,5
	10 Min.	1334,0 (1325,1)	596,9	907,0 (953,9)	265,6	947,0 (821,6)	264,2
	15 Min.	1256,2 (1195,4)	527,6	884,3 (949,5)	308,6	1045,9 (1028,8)	310,1
	30 Min.	1203,2 (1118,1)	527,7	958,2 (978,3)	299,5	823,0 (713,6)	330,5
	<b>Differenz</b> (Maximalkonz. - Leerwert)	369,4 (299,5)	386,8	94,0 (38,9)	231,3	23,5 (39,8)	205,2

Dargestellt sind die Mittelwerte ± Standardabweichungen (SD) und die Mediane in Klammern. Die mittels ELISA ermittelten Konzentrationen der jeweiligen Biomarker (CPII, C1,2C, COMP, IL-15, sVCAM-1, NGAL und PIIANP) wurden im venösen Blut der Indexhand vor (Leerwert) und zu definierten Zeitpunkten (1, 2, 5, 10, 15 und 30 Minuten) nach Belastung bestimmt. Weiterhin dargestellt sind die Mittelwerte ± Standardabweichungen und die Mediane der Differenzen der maximal gemessenen Konzentrationen innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung und dem Leerwert des jeweiligen Biomarkers. Hierzu wurde bei jeder Patientin der individuelle Maximalwert, der bei vielen Patientinnen zu unterschiedlichen Zeitpunkten auftrat, für die weiteren Berechnungen herangezogen (OA-Gruppe: n = 24, Prä-Gruppe: n = 12 und Post-Gruppe: n = 12).

**Tabellen 12.3.1 – 12.3.7: Zusammenfassung der statistischen Auswertung der Biomarkerkonzentrationen nach Belastung und die Unterschiede zwischen den einzelnen Kohorten**

**Tabelle 12.3.1 Konzentrationsanstieg nach Belastung und Unterschiede zwischen den einzelnen Kohorten für COMP**

COMP	OA-Gruppe	Prä-Gruppe	Post-Gruppe
Unterer Wisker	-0.05	-0.38	-0.17
Unteres Quartil	0.25	0.01	0.19
Median	0.40	0.20	0.30
Oberes Quartil	0.55	0.34	0.70
Oberer Wisker	0.96	0.67	0.93
Anzahl (n)	24	12	12
95% Konfidenzintervall	0.30 - 0.50	0.04 - 0.35	0.07 - 0.53
Wilcoxon- Rangsummentest, p-Wert	< 0.001 nach vs. vor Bel.	0,043 nach vs. vor Bel.	0,001 nach vs. vor Bel.
H-Test nach Kruskal und Wallis, p-Wert	0,23		
Dunn's Post-Hoc- Test, p-Wert	OA vs. Prä: p > 0,05	OA vs. Post: p > 0,05	Post vs. Prä: p > 0,05

Dargestellt sind die Boxplot-Kennwerte, die Ergebnisse des Wilcoxon-Rangsummentests und des H-Tests nach Kruskal und Wallis mit anschließendem Dunn's Post-Hoc-Test der im Ergebnisteil unter 4.3.3.1 dargestellten Notched-Boxplots (Abbildung 19). Die Berechnungen erfolgten mit den Differenzen der maximalen COMP-Konzentration [ $\mu\text{g/ml}$ ] innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und der Biomarkerkonzentration vor Belastung pro untersuchter Kohorte. Post= postmenopausale Kontrollgruppe, Prä= Prämenopausale Kontrollgruppe, Bel.= Belastung.

**Tabelle 12.3.2 Konzentrationsanstieg nach Belastung und Unterschiede zwischen den einzelnen Kohorten für C1,2C**

<b>C1,2C</b>	<b>OA-Gruppe</b>	<b>Prä-Gruppe</b>	<b>Post-Gruppe</b>
<b>Unterer Wisker</b>	-278.5	-242.2	-416.0
<b>Unteres Quartil</b>	-17.3	-14.0	-148.9
<b>Median</b>	114.1	-23.4	318.8
<b>Oberes Quartil</b>	158.5	106.0	139.6
<b>Oberer Wisker</b>	353.5	167.8	337.4
<b>Anzahl (n)</b>	24	12	12
<b>95% Konfidenzintervall</b>	57.4 - 170.8	-155.7 - 108.8	-112.8 - 150.4
<b>Wilcoxon- Rangsummentest, p-Wert</b>	0,094 nach vs. vor Bel.	0,470 nach vs. vor Bel.	0,900 nach vs. vor Bel.
<b>H-Test nach Kruskal und Wallis, p-Wert</b>	0,31		
<b>Dunn's Post-Hoc- Test, p-Wert</b>	OA vs. Prä: p > 0,05	OA vs. Post: p > 0,05	Post vs. Prä: p > 0,05

Dargestellt sind die Boxplot-Kennwerte, die Ergebnisse des Wilcoxon-Rangsummentests, des H-Tests nach Kruskal und Wallis mit anschließendem Dunn's Post-Hoc-Test der im Ergebnissteil unter 4.3.3.2 dargestellten Notched-Boxplots (Abbildung 20). Die Berechnungen erfolgten mit den Differenzen der maximalen C1,2C-Konzentration [ng/ml] innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und der Biomarkerkonzentration vor Belastung pro untersuchter Kohorte. Ein  $p \leq 0,05$  wurde als Signifikanzniveau definiert. Post= postmenopausale Kontrollgruppe, Prä= Prämenopausale Kontrollgruppe, Bel.= Belastung.

**Tabelle 12.3.3 Konzentrationsanstieg nach Belastung und Unterschiede zwischen den einzelnen Kohorten für PIIANP**

PIIANP	OA-Gruppe	Prä-Gruppe	Post-Gruppe
<b>Unterer Wisker</b>	-220.7	-157.1	-112.3
<b>Unteres Quartil</b>	107.8	4.4	-58.3
<b>Median</b>	299.5	38.9	39.8
<b>Oberes Quartil</b>	554.3	138.4	92.6
<b>Oberer Wisker</b>	853.0	218.2	317.6
<b>Anzahl (n)</b>	24	12	11
<b>95% Konfidenzintervall</b>	155.5 - 443.5	-22.2 - 100.1	-32.1 - 111.7
<b>Wilcoxon-Rangsummentest, p-Wert</b>	< 0.001 nach vs. vor Bel.	0,092 nach vs. vor Bel.	0,638 nach vs. vor Bel.
<b>H-Test nach Kruskal und Wallis, p-Wert</b>	0,003		
<b>Dunn's Post-Hoc-Test, p-Wert</b>	OA vs. Prä: p < 0,05	OA vs. Post: p < 0,05	Post vs. Prä: p > 0,05

Dargestellt sind die Boxplot-Kennwerte, die Ergebnisse des Wilcoxon-Rangsummentests, des H-Tests nach Kruskal und Wallis mit anschließendem Dunn's Post-Hoc-Test der im Ergebnisteil unter 4.3.3.3 dargestellten Notched-Boxplots (Abbildung 21). Die Berechnungen erfolgten mit den Differenzen der maximalen PIIANP-Konzentration [ng/ml] innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und der Biomarkerkonzentration vor Belastung pro untersuchter Kohorte. Ein  $p \leq 0,05$  wurde als Signifikanzniveau definiert. Post= postmenopausale Kontrollgruppe, Prä= Prämenopausale Kontrollgruppe, Bel.= Belastung.

**Tabelle 12.3.4 Konzentrationsanstieg nach Belastung und Unterschiede zwischen den einzelnen Kohorten für CPII**

<b>CPII</b>	<b>OA-Gruppe</b>	<b>Prä-Gruppe</b>	<b>Post-Gruppe</b>
<b>Unterer Wisker</b>	-0.10	-0.02	0.08
<b>Unteres Quartil</b>	0.30	0.04	0.08
<b>Median</b>	0.77	0.24	0.17
<b>Oberes Quartil</b>	1.11	0.41	0.48
<b>Oberer Wisker</b>	1.84	0.69	0.81
<b>Anzahl (n)</b>	23	11	9
<b>95% Konfidenzintervall</b>	0.51 - 1.04	0.07 - 0.42	-0.05 - 0.38
<b>Wilcoxon- Rangsummentest, p-Wert</b>	0,004 nach vs. vor Bel.	0,278 nach vs. vor Bel.	0,496 nach vs. vor Bel.
<b>H-Test nach Kruskal und Wallis, p-Wert</b>	0,009		
<b>Dunn's Post-Hoc- Test, p-Wert</b>	OA vs. Prä: p < 0,05	OA vs. Post: p > 0,05	Post vs. Prä: p > 0,05

Dargestellt sind die Boxplot-Kennwerte, die Ergebnisse des Wilcoxon-Rangsummentests, des H-Tests nach Kruskal und Wallis mit anschließendem Dunn's Post-Hoc-Test der im Ergebnisteil unter 4.3.3.4 dargestellten Notched-Boxplots (Abbildung 22). Die Berechnungen erfolgten mit den Differenzen der maximalen CPII-Konzentration [ $\mu\text{g/ml}$ ] innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und der Biomarkerkonzentration vor Belastung pro untersuchter Kohorte. Ein  $p \leq 0,05$  wurde als Signifikanzniveau definiert. Post= postmenopausale Kontrollgruppe, Prä= Prämenopausale Kontrollgruppe, Bel.= Belastung.

**Tabelle 12.3.5 Konzentrationsanstieg nach Belastung und Unterschiede zwischen den einzelnen Kohorten für sVCAM-1**

sVCAM-1	OA-Gruppe	Prä-Gruppe	Post-Gruppe
<b>Unterer Wisker</b>	-250.2	-109.6	-196.3
<b>Unteres Quartil</b>	46.8	54.1	-74.2
<b>Median</b>	189.6	39.7	-39.7
<b>Oberes Quartil</b>	366.8	94.7	145.3
<b>Oberer Wisker</b>	557.2	188.2	351.8
<b>Anzahl (n)</b>	24	12	12
<b>95% Konfidenzintervall</b>	56.2 - 323.0	-28.2 - 107.5	-139.7 - 60.4
<b>Wilcoxon- Rangsummentest, p-Wert</b>	0,003 nach vs. vor Bel.	0,301 nach vs. vor Bel.	0,622 nach vs. vor Bel.
<b>H-Test nach Kruskal und Wallis, p-Wert</b>	0,15		
<b>Dunn's Post-Hoc- Test, p-Wert</b>	OA vs. Prä: p > 0,05	OA vs. Post: p > 0,05	Post vs. Prä: p > 0,05

Dargestellt sind die Boxplot-Kennwerte, die Ergebnisse des Wilcoxon-Rangsummentests, des H-Tests nach Kruskal und Wallis mit anschließendem Dunn's Post-Hoc-Test der im Ergebnisteil unter 4.3.3.5 dargestellten Notched-Boxplots (Abbildung 23). Die Berechnungen erfolgten mit den Differenzen der maximalen sVCAM-1-Konzentration [ng/ml] innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und der Biomarkerkonzentration vor Belastung pro untersuchter Kohorte. Ein  $p \leq 0,05$  wurde als Signifikanzniveau definiert. Post= postmenopausale Kontrollgruppe, Prä= Prämenopausale Kontrollgruppe, Bel.= Belastung.

**Tabelle 12.3.6 Konzentrationsanstieg nach Belastung und Unterschiede zwischen den einzelnen Kohorten für IL-15**

IL-15	OA-Gruppe	Prä-Gruppe	Post-Gruppe
<b>Unterer Wisker</b>	-1.05	-1.84	-0.36
<b>Unteres Quartil</b>	0.38	0.01	0.19
<b>Median</b>	0.88	0.48	1.24
<b>Oberes Quartil</b>	1.78	1.51	1.80
<b>Oberer Wisker</b>	3.31	1.78	2.82
<b>Anzahl (n)</b>	24	11	10
<b>95% Konfidenzintervall</b>	0.43 - 1.34	-0.23 - 1.20	0.43 - 2.04
<b>Wilcoxon-Rangsummentest, p-Wert</b>	< 0.001 nach vs. vor Bel.	0,193 nach vs. vor Bel.	0,010 nach vs. vor Bel.
<b>H-Test nach Kruskal und Wallis, p-Wert</b>	0,35		
<b>Dunn's Post-Hoc-Test, p-Wert</b>	OA vs. Prä: p > 0,05	OA vs. Post: p > 0,05	Post vs. Prä: p > 0,05

Dargestellt sind die Boxplot-Kennwerte, die Ergebnisse des Wilcoxon-Rangsummentests, des H-Tests nach Kruskal und Wallis mit anschließendem Dunn's Post-Hoc-Test der im Ergebnisteil unter 4.3.3.6 dargestellten Notched-Boxplots (Abbildung 24). Die Berechnungen erfolgten mit den Differenzen der maximalen IL-15-Konzentration [pg/ml] innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und der Biomarkerkonzentration vor Belastung pro untersuchter Kohorte. Ein  $p \leq 0,05$  wurde als Signifikanzniveau definiert. Post= postmenopausale Kontrollgruppe, Prä= Prämenopausale Kontrollgruppe, Bel.= Belastung.



**Tabelle 12.3.7 Konzentrationsanstieg nach Belastung und Unterschiede zwischen den einzelnen Kohorten für NGAL**

NGAL	OA-Gruppe	Prä-Gruppe	Post-Gruppe
<b>Unterer Wisker</b>	0.50	-62.6	-66.1
<b>Unteres Quartil</b>	12.7	3.3	-19.4
<b>Median</b>	39.2	21.2	24.5
<b>Oberes Quartil</b>	91.6	109.6	64.5
<b>Oberer Wisker</b>	174.4	163.3	79.3
<b>Anzahl (n)</b>	24	12	12
<b>95% Konfidenzintervall</b>	13.8 - 64.6	-27.2 - 69.7	-13.8 - 62.8
<b>Wilcoxon- Rangsummentest, p-Wert</b>	< 0.001 nach vs. vor Bel.	0,034 nach vs. vor Bel.	0,301 nach vs. vor Bel.
<b>H-Test nach Kruskal und Wallis, p-Wert</b>	0,32		
<b>Dunn's Post-Hoc- Test, p-Wert</b>	OA vs. Prä: p > 0,05	OA vs. Post: p > 0,05	Post vs. Prä: p > 0,05

Dargestellt sind die Boxplot-Kennwerte, die Ergebnisse des Wilcoxon-Rangsummentests, des H-Tests nach Kruskal und Wallis mit anschließendem Dunn's Post-Hoc-Test der im Ergebnisteil unter 4.3.3.7 dargestellten Notched-Boxplots (Abbildung 25). Die Berechnungen erfolgten mit den Differenzen der maximalen NGAL-Konzentration innerhalb der ersten 15 Minuten nach Belastung der Hand- und Fingergelenke und der Biomarkerkonzentration vor Belastung pro untersuchter Kohorte. Ein  $p \leq 0,05$  wurde als Signifikanzniveau definiert. Post= postmenopausale Kontrollgruppe, Prä= Prämenopausale Kontrollgruppe, Bel.= Belastung.

**Tabelle 12.4 Korrelationen zwischen den Röntgenscores und den Biomarkern**

	<b>PIIANP</b>	<b>CPII</b>
<b>Kellgren/ Lawrence-Gesamtscore</b>	r= 0,14 p= 0,51	r= -0,20 p= 0,36
<b>Kellgren/ Lawrence-Durchschnittswerte</b>	r= 0,15 p= 0,49	r= -0,20 p= 0,36
<b>Kellgren/ Lawrence, höchster Wert</b>	r= 0,89 p= 0,89	r= -0,19 p= 0,39
<b>Kallman- Gesamtscore</b>	r= 0,13 p= 0,55	r= -0,20 p= 0,35
<b>Kallman- Score Maximalwerte des JSN</b>	r= -0,31 p= 0,14	r= -0,09 p= 0,68
<b>Kallman-Score Maximalwerte der Osteophyten</b>	r= 0,00 p= 1,0	r= -0,17 p= 0,45
<b>Kallman-Score, Durchschnittswerte für JSN</b>	r= -0,04 p= 0,84	r= -0,19 p= 0,38
<b>Kallman-Score, Durchschnittswerte der Osteophyten</b>	r= 0,27 p= 0,21	r= -0,18 p= 0,40
<b>Anzahl betroffener Gelenke</b>	r= 0,06 p= 0,77	r= -0,27 p= 0,21

Die Tabelle 12.4 zeigt die Ergebnisse der Korrelationsanalyse nach Spearman zwischen den Biomarkerpeaks (PIIANP, CPII) innerhalb von 15 Minuten nach Belastung und den ermittelten Röntgenscores. Dabei wurden die Gesamtscores, die Durchschnittsscores und der höchste Wert im Kellgren-Lawrence-Score, sowie die Einzelwerte für die Gelenkspaltverschmälerung (Joint Space Narrowing = JSN), die Einzelwerte für die Ausprägung der Osteophyten, die Maximalwerte und Durchschnittswerte der untersuchten Parameter nach Kallman der Indexhände der Patientinnen (OA-Gruppe, n = 24) berücksichtigt. Des Weiteren dargestellt sind die Korrelationen zwischen der Anzahl der radiologisch betroffenen Gelenke (definiert als ein Kellgren-Lawrence-Score  $\geq 2$ ) und der Biomarkerlevel. Die Werte des Korrelationskoeffizienten r variieren zwischen -1 (negative Korrelation), 0 (keine Korrelation) und 1 (positive Korrelation). Das Signifikanzniveau wurde als  $p \leq 0,05$  definiert und signifikante Korrelationen in der Tabelle farblich unterlegt (siehe auch Kapitel 4.4.2).

**Tabelle 12.5 Ergebnisse der Fragebögen von Tag 1/ Tag 2**

Klinische Scores	OA-Gruppe, n=24	Prä-Gruppe, n=12	Post-Gruppe, n=12
<b>AUSCAN T1</b>			
- Gesamt [0 - 1500 mm]	637,6 ± 354,4 (670,0)	0 ± 0 (0)	5,5 ± 12,9 (0)
- Morgensteife [0 - 100 mm]	39,8 ± 28,7 (35,5)	0 ± 0 (0)	2,56 ± 8,95 (0)
- Schmerz [0 - 500 mm]	193,9 ± 126,4 (185,5)	0 ± 0 (0)	0 ± 0 (0)
- ADL [0 - 900 mm]	404,0 ± 236,8 (387,0)	0 ± 0 (0)	2,92 ± 10,1 (0)
<b>AUSCAN T2</b>			
- Gesamt [0 - 1500 mm]	455,3 ± 335,4 (359,5)	0 ± 0 (0)	5,5 ± 16,6 (0)
- Morgensteife [0 - 100 mm]	29,3 ± 26,0 (25,0)	0 ± 0 (0)	0,17 ± 0,58 (0)
- Schmerz [0 - 500 mm]	137,7 ± 110,1 (92,0)	0 ± 0 (0)	0,17 ± 0,58 (0)
- ADL [0 - 900 mm]	288,3 ± 215,1 (207,0)	0 ± 0 (0)	5,17 ± 16,7 (0)
VAS Schmerz T1 [0 - 100 mm]	38,8 ± 25,3 (37,1)	0 ± 0 (0)	0 ± 0 (0)
VAS Schmerz T2 [0 - 100 mm]	27,5 ± 22,0 (18,4)	0 ± 0 (0)	0 ± 0 (0)
VAS Ästhetik T1 [0 - 100 mm]	60,8 ± 31,5 (55,0)	0 ± 0 (0)	0,4 ± 1,4 (0)
VAS Ästhetik T2 [0 - 100 mm]	55,1 ± 31,5 (45,0)	0 ± 0 (0)	0 ± 0 (0)
HAQ T1 [0 - 3]	0,80 ± 0,63 (0,63)	0 ± 0 (0)	0,03 ± 0,08 (0)
HAQ T2 [0 - 3]	0,52 ± 0,41 (0,50)	0 ± 0 (0)	0 ± 0 (0)
Morgensteife [min] T1	66,3 ± 93,3 (54,0)	0 ± 0 (0)	2,5 ± 8,66 (0)
Morgensteife [min] T2	51,8 ± 97,2 (30,0)	0 ± 0 (0)	2,5 ± 8,66 (0)

Die Tabelle 12.5 zeigt die Ergebnisse der klinischen Scores als Mittelwerte ± Standardabweichung und den Median in Klammern (siehe auch Kapitel 4.5). Dargestellt sind die Ergebnisse folgender Fragebögen: AUSCAN™-Gesamtscore (Australian/Canadian Hand Osteoarthritis Index), AUSCAN™-Morgensteife, AUSCAN™-Schmerz, AUSCAN™-ADL (Activity of Daily Living), VAS (visuelle Analogskala) für Schmerz und Ästhetik, HAQ (Health Assessment Questionnaire) sowie die Dauer der Morgensteife in Minuten (min) an Tag 1 (T1) und Tag 2 (T2) der jeweiligen untersuchten Kohorte: OA-Gruppe, Prä-Gruppe und Post-Gruppe. Zwischen Tag 1 und Tag 2 lagen insgesamt 10 Tage.

**Tabelle 12.6 Übersicht über die Korrelation der jeweiligen klinischen Scores und Parameter mit den jeweiligen Biomarkern**

Klinische Scores	PIIANP	CPII
<b>AUSCAN Gesamt</b>	r= 0,23 p= 0,28	r= -0,35 p= 0,10
<b>AUSCAN Steife</b>	r= -0,01 p= 0,96	r= -0,21 p= 0,33
<b>AUSCAN ADL</b>	r= -0,24 p= 0,26	r= -0,24 p= 0,26
<b>AUSCAN Schmerz</b>	r= 0,17 p= 0,44	r= -0,48 p= 0,02
<b>VAS Schmerz</b>	r= 0,17 p= 0,44	r= -0,48 p= 0,02
<b>VAS Ästhetik</b>	r= -0,14 p= 0,50	r= -0,25 p= 0,25
<b>Steifigkeit</b>	r= -0,07 p= 0,76	r= -0,21 p= 0,35
<b>HAQ</b>	r= 0,32 p= 0,12	r= -0,24 p= 0,26
<b>BMI</b>	r= 0,44 p= 0,002	r= 0,30 p= 0,05
<b>Alter</b>	r= 0,28 p= 0,05	r= 0,27 p= 0,09
<b>CRP</b>	r= -0,40 p= 0,05	r= -0,06 p= 0,80

Die Tabelle 12.6 zeigt eine Übersicht über die Ergebnisse der Korrelationsanalyse nach Spearman zwischen der Maximalkonzentration der Biomarker (PIIANP, CPII) nach Belastung und den Punktzahlen der klinischen Scores (siehe auch Kapitel 4.5). Berücksichtigt wurden AUSCAN™ (Australian/Canadian Hand Osteoarthritis Index)- Gesamtscore, AUSCAN™-Steife, AUSCAN™-ADL (Activity of Daily Living) und AUSCAN™-Schmerz, sowie VAS (visuelle Analogskala) für Schmerz, Ästhetik, Steifigkeit in Minuten und HAQ (Health Assessment Questionnaire) sowie die Parameter BMI (Body-Mass-Index), Alter, und das CRP (C-reactives Protein) an Tag 1. Zwischen Tag 1 und Tag 2 lagen insgesamt 10 Tage. An Tag 1 erfolgte auch die Blutentnahme und Bestimmung der Biomarker. Die Werte des Korrelationskoeffizienten r variieren zwischen -1 (negative Korrelation), 0 (keine Korrelation) und 1 (positive Korrelation). Das Signifikanzniveau wurde als  $p \leq 0,05$  definiert und signifikante Korrelationen in der Tabelle farblich unterlegt.

**Tabelle 12.7 Wirkung von Ibuprofen: Ergebnisse der statistischen Auswertung der Wirkung von Ibuprofen auf die Reduktion der jeweiligen klinischen Scores**

Differenz der Ergebnisse von T2 - T1 aus den Fragebögen	Mittelwert $\pm$ SD (Median)	p-Wert (Wilcoxon-Rangtest)
Morgensteife [min]	-14,5 $\pm$ 131,0 (-5,0)	0,017
HAQ [0-3]	-0,29 $\pm$ 0,38 (-0,13)	0,001
AUSCAN-Gesamt [0-1500 mm]	-182,3 $\pm$ 298,9 (-130,0)	0,002
AUSCAN-Schmerz [0-500 mm]	-56,2 $\pm$ 109,8 (-38,0)	0,012
AUSCAN-Steife [0-100 mm]	-10,5 $\pm$ 18,8 (-6,5)	0,011
AUSCAN-ADL [0-900 mm]	-115,7 $\pm$ 204,0 (74,5)	0,005
VAS-Schmerz [0 - 100 mm]	-11,2 $\pm$ 22,0 (-7,6)	0,012
VAS-Ästhetik [0 - 100 mm]	-8,0 $\pm$ 18,2 (-1,5)	0,016

Die Tabelle 12.7 zeigt die Ergebnisse des Wilcoxon-Rangsummentests für die Differenzen der jeweils vor und nach der Therapie mit Ibuprofen erreichten Punktzahlen der klinischen Scores (siehe auch Kapitel 4.6 *Die Wirkung von Ibuprofen*). Dargestellt sind die Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung und der Median in Klammern der jeweiligen Fragebögen (AUSCAN™ (Australian/Canadian Hand Osteoarthritis Index)-Gesamtscore, AUSCAN™-Steife, AUSCAN™-ADL (Activity of Daily Living) und AUSCAN™-Schmerz, sowie VAS (visuelle Analogskala) für Schmerz, Ästhetik und HAQ (Health Assessment Questionnaire), sowie die Morgensteife in Minuten) von Tag 2 (T2) minus Tag 1 (T1). Zwischen Tag 1 und Tag 2 (insgesamt 10 Tage) erhielten die Patientinnen eine orale Therapie mit 3 x 800 mg Ibuprofen. Das Signifikanzniveau wurde mit  $p \leq 0,05$  definiert (Abbildung 31 a-d).

## 13 Publikationsverzeichnis

Grießemer, A., Käßer, U.R., Bachmann, G., Subke, J., Steinmeyer, J.: Diagnostische Biomarker der Handarthrose - Eine explorative Studie zu deren Identifizierung. Poster Präsentation auf dem 39. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie, München, 31.08. - 02.09.2011.

Grießemer, A., Käßer, U.R., Bachmann, G., Subke, J., Steinmeyer, J.: Identifizierung von Serummarkern der Handarthrose nach belastungsinduzierter Freisetzung. Vortrag auf der 61. Jahrestagung der Norddeutschen Orthopäden- und Unfallchirurgenvereinigung e. V. (NOUV) 2012, im Rahmen der Verleihung des AXIS-Forschungspreises für junge Forscher und Doktoranden zur patientennahen Forschung in Orthopädie und Unfallchirurgie, Hamburg, 14.06. - 16.06.2012.

Grießemer, A., Käßer, U.R., Bachmann, G., Subke, J., Steinmeyer, J.: Belastungsinduzierte Freisetzung und Identifizierung von Biomarkern der Handarthrose. Vortrag auf dem Deutschen Kongress für Orthopädie und Unfallchirurgie, Berlin, 23.10. - 26.10.2012.

Bender, A., Käßer, U.R., Bachmann, G., Steinmeyer, J.: Biomarkers of Hand Osteoarthritis are Detectable after Mechanical Exercise – 2017 eingereicht bei Osteoarthritis and Cartilage

## 14 Ehrenwörtliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

## 15 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. J. Steinmeyer für die Überlassung des überaus interessanten Themas, sowie für die Möglichkeit unter seiner Leitung im Labor für experimentelle Orthopädie wissenschaftlich tätig zu sein. Insbesondere bedanke ich mich für die stets sehr gute Betreuung und hilfreiche Unterstützung. Prof. Dr. J. Steinmeyer stand mir mit seinem kompetenten Rat aber auch seinen äußerst konstruktiven und wertvollen Anmerkungen in jeder Phase dieser Arbeit zur Seite.

Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Dr. med. U. Kässer für die tatkräftige Unterstützung und hervorragende Zusammenarbeit bei der Rekrutierung, Untersuchung der Versuchspersonen, Sammlung der Serumproben sowie seinen konstruktiven Anmerkungen bedanken. Mein Dank gilt auch dem gesamten Praxisteam der rheumatologischen Facharztpraxis im internistischen Praxiszentrum am Krankenhaus Balserische Stiftung in Gießen.

Ebenfalls herzlich bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. G. Bachmann, der mir aktiv bei der Auswertung der Röntgenbilder zur Seite stand und somit einen wichtigen Beitrag zum Gelingen dieses Projekts beitrug.

Des Weiteren gilt mein Dank den medizinisch-technischen Assistentinnen Frau Magdalena Singer und Frau Christiane Hild, sowie Frau Manuela Döller und dem gesamten Team des Labors für experimentelle Orthopädie für die gute Einarbeitung in, die tatkräftige Unterstützung sowie die stets freundliche und gute Arbeitsatmosphäre.

Gleichfalls bedanke ich mich bei Herrn Dr. R. H. Bödeker für die sehr hilfreiche statistische Beratung.

Mein Dank gilt ebenso der deutschen Stiftung für Arthrose e.V. für die Bereitstellung des Studienetats.

Meinem lieben Ehemann Michael Bender möchte ich für seine Geduld und seine beständige Motivation beim Schreiben dieser Arbeit danken.

Zuletzt gilt mein besonderer und herzlichster Dank meinen Eltern Monika und Thomas Gießemer, meinem Bruder Matthias Gießemer sowie meinen Großeltern, die mir das



Studium der Humanmedizin und somit diese Arbeit überhaupt ermöglicht haben. Sie standen mir jederzeit liebevoll und uneingeschränkt mit Rat und Tat zur Seite.

