

Aus der Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie/
Plastische Operationen (Komm. Direktor: Prof. Dr. W. Sümnick)
der Medizinischen Fakultät der Universität Greifswald

**Lavageflüssigkeitsuntersuchungen im Zusammenhang mit der
Kiefergelenkarthroskopie bei Patienten mit Cranio-Mandibulärer-
Dysfunktion (CMD)**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Zahnmedizin
(Dr. med. dent)
der
Medizinischen Fakultät
der
Ernst-Moritz-Arndt-Universität
Greifswald
2006

vorgelegt von: Silke Zimmer
geb. am: 17.05.1964
in: Güstrow

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. Heyo K. Kroemer

1. Gutachter:

2. Gutachter:

3. Gutachter:

Tag der Disputation:

Inhaltsverzeichnis	Seite
1 Einleitung und Zielstellung	1
2 Literaturübersicht	2
2.1 Anatomie und Funktion des Kiefergelenkes	2
2.2 Erkrankungen des Kiefergelenkes unter besonderer Berücksichtigung der Cranio-Mandibulären-Dysfunktion (CMD)	5
2.3 Diagnostik und Therapie von Kiefergelenkerkrankungen	10
2.4 Der Kiefergelenk-Knorpelstoffwechsel	13
2.5 Untersuchungsparameter in der Synovialflüssigkeit des Kiefergelenkes	14
2.5.1 Zytokine	14
2.5.2 Peroxidase	18
2.5.3 Gesamtprotein	20
2.5.4. N-Acetyl-β-D-Glucosaminidase	21
2.5.5 Nitrotyrosin	22
2.5.6 Kollagenase	23
3 Material und Methode	25
3.1. Patientengut, chirurgisches Vorgehen und Gruppeneinteilung	25
3.2 Gewinnung und Verarbeitung der Lavageproben	29
3.3 Bestimmungsmethoden für die untersuchten Kiefergelenklavageparameter	30
3.3.1 Peroxidase	30
3.3.2 Proteine	31
3.3.3 N-Acetyl-β-D-Glucosaminidase	32
3.3.4 Interleukin-1β	33
3.3.5 Interleukin-6 und Nitrotyrosin	34
3.3.6 Kollagenase	34
3.4 Statistik	35
4 Ergebnisse	38
4.1 Darstellung der Gesamtwerte der Kiefergelenklavageflüssigkeitsparameter des Patientenkollektivs ohne Gruppenunterteilung	38
4.2 Ergebnisse nach Patientengruppeneinteilung	39

4.2.1	Messwerte und spezifische Aktivitäten bei Patienteneinteilung nach arthroskopischem Befund am Diskus-Bandapparat in 5 Gruppen (Variante 1)	39
4.2.2	Messwerte und spezifische Aktivitäten bei Patientengruppeneinteilung nach arthroskopischem Befund am Diskus-Bandapparat nach Zusammenfassung in 3 Gruppen (Variante 2)	39
4.3	Ergebnisse der Clusteranalyse	53
4.3.1	Clusteranalyse mit zwei Clustern	53
4.3.2	Clusteranalyse mit vier Clustern	61
5	Diskussion	70
6	Zusammenfassung	82
7	Literatur	85
8	Anhang	
	Abkürzungsverzeichnis	
	Abbildungsverzeichnis	
	Tabellenverzeichnis	
	Tabellen	

1 Einleitung und Zielstellung

Das craniomandibuläre System ist in Aufbau und Funktion sehr komplex gestaltet. Fehlregulationen können unterschiedlichste Einflüsse auf dieses System haben. Die Schwere der Symptomatik einer Kiefergelenkfunktionsstörung widerspiegelt nicht immer die Schwere der Erkrankung, da Dysfunktionen lange Zeit für den Patienten ohne eindeutige Symptome vorhanden sein können. Für Funktionsstörungen des Kiefergelenks wird ein multifunktionaler Entstehungsmechanismus angenommen. Insofern stellen Diagnostik und Therapie hohe Anforderungen an den Behandler. Da jeder Eingriff am craniomandibulären System so minimalinvasiv wie möglich erfolgen sollte, haben konservative Therapiemaßnahmen am Kiefergelenk in Form von Schienenbehandlungen und Physiotherapie die Priorität. Bleiben diese erfolglos, ist eine weiterführende chirurgische Therapie angezeigt, wobei zunächst einem minimalinvasiven Vorgehen wie der Arthroskopie vor einer offenen Gelenkoperation der Vorrang gegeben werden sollte (Kaduk et al. 2005). Im Rahmen der Arthroskopie kann bereits durch die Lavage des behandelten Gelenkes eine Verbesserung der Ausgangsbefunde hinsichtlich der Schmerzsymptomatik, der Mundöffnung sowie der Gelenkgeräusche erreicht werden (Murakami et al. 1996). Darüber hinaus erlaubt diese Methode neben weiteren arthroskopischen Operationsschritten die Gewinnung von Anteilen der Synovialflüssigkeit zur Untersuchung auf Erkrankungsmediatoren. Die Synovialflüssigkeit bietet gegenüber Serum den Vorteil, dass der Zustand des Gelenkes im Einzelnen besser beurteilbar wird.

In der vorliegenden Studie wurde die Lavageflüssigkeit von Patienten mit unterschiedlich ausgeprägter Cranio-Mandibulärer-Dysfunktion (CMD) anhand der Parameter Interleukin-1 β und Interleukin-6 als Marker für die Regulation entzündlicher Vorgänge, Nitrotyrosin als Marker oxidativer Veränderungen, Peroxidase als Teil des oxidativen Systems, N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase (NAG) und Kollagenase als Marker des Abbaus der Knorpelmatrix sowie Gesamtprotein untersucht. Mit diesen Messungen sollte der Frage nachgegangen werden, ob eine biochemische Analyse der Kiefergelenklavageflüssigkeit zur Differentialdiagnose, Therapiekontrolle und Prognoseverbesserung dieser Kiefergelenkerkrankungsgruppe beitragen kann.

2 Literaturübersicht

2.1 Anatomie und Funktion des Kiefergelenkes

Da das Kiefergelenk der Bewegung des Unterkiefers dient, ist es für Mastikation und Phonetik von größter Bedeutung. In diesem Zusammenhang ermöglicht das Kiefergelenk

- die Öffnungs- und Schließbewegung des Mundes (=Ab- und Adduktion = Scharnierbewegung),
- das Vor- und Zurückschieben des Unterkiefers (=Pro- und Retrusion = Schlittenbewegung)
- sowie Mahlbewegungen (=Rotation, Seitwärtsschieben des Unterkiefers).

Durch seinen komplexen Aufbau und die funktionellen Anforderungen des cranio-mandibulären Systems ist das Kiefergelenk gegenüber Störfaktoren in besonderem Maße anfällig (Reich 1995, Rohen 1994, Siegert u. Gundlach 1989). Das zweikammerige Kiefergelenk verbindet die Mandibula mit dem Os temporale. Der Gelenkkopf wird vom Caput mandibulae gebildet. Die Gelenkpfanne, Fossa mandibularis, wird ventral vom Tuberculum articulare des Os temporale, lateral vom Processus zygomaticus des Os temporale und dorsal von der Pars tympanica des Os temporale begrenzt.

Diskus articularis

Der Diskus besitzt eine bikonkave Form und liegt im Ruhezustand zwischen der Gelenkfläche des Condylus und dem dorsalen Abhang des Tuberculum articulare. Er besteht überwiegend aus Faserknorpel. Der Diskus wird in eine Pars anterior, Pars media und Pars posterior unterteilt. Anterior ist der Diskus mit der Gelenkkapsel sowie einstrahlenden Fasern des M. pterygoideus lateralis verwachsen, posterior bildet das hintere Aufhängungsband die Verbindung zur Kapselwand. Dieser Bereich wird auch als bilaminäre Zone bezeichnet und ist aufgrund der Durchsetzung mit zahlreichen Nervenendigungen häufig Ausgangspunkt von Schmerzen (Reich und Dollwick 1984). Die Aufgabe des Diskus besteht darin, zwischen den ungleichen Oberflächen innerhalb des Kiefergelenks stabilisierend und ausgleichend zu wirken. Die gefäß- und nervlose Pars media kann einer gewissen Druckbelastung standhalten.

Durch den Diskus wird das Kiefergelenk in einen größeren oberen und einen kleineren unteren Gelenkspalt geteilt.

Gelenkkapsel

Die das Kiefergelenk umgebende Gelenkkapsel besteht aus fibrinösem Bindegewebe, das durch kollagene Fasern verstärkt wird. Diese kollagenen Verstärkungsfasern lassen sich selten individuell abgrenzen und erscheinen als Ligamentum laterale. Zusammen mit den Ligamenti sphenomandibulare und stylomandibulare dient es der Limitation der Unterkieferbewegungen. Die Gelenkkapsel ist an der Schädelbasis und am Unterkiefer im Bereich des Caput mandibulae befestigt. In diesen Bereichen geht sie medial und lateral in eine derbe Bindegewebsplatte über. Die Gelenkkapsel wird von drei Ästen des Nervus mandibularis (N. auriculotemporalis, N. massetericus, N. pterygoideus lateralis) innerviert, was die relativ hohe Schmerzempfindlichkeit des Kiefergelenkes erklärt (Schuhmacher 1996).

Synovialmembran und Synovialflüssigkeit

Die Synovialflüssigkeit wird von der Synovialmembran der Gelenkkapselinnenschicht produziert. Die Synovialmembran stellt eine spezialisierte Bindegewebsschicht dar, an deren Oberfläche sich kein Epithel, sondern eine Lage fibroblasten- und makrophagenähnlicher Zellen befindet (Siebert 1995). Sie besteht aus zwei Schichten: einer zellulären Intima, die auf einer vaskulären Subintima gelagert ist. Die Intima besteht aus Zellen, die in einer amorphen und faserfreien interzellulären Matrix variierender Dicke eingebettet sind. Die Intimazellen sind ein Gemisch aus fibroblastenartigen (Typ B) und makrophagenartigen (Typ A) Zellen. Typ-A-Zellen produzieren das Hyaluronat, das in der Synovialflüssigkeit gefunden wird. Typ-B-Zellen fügen der Synovialflüssigkeit Proteine hinzu. Ihr Gesamtvolumen beträgt etwa 1 ml und die Flüssigkeit zeigt ein nicht-Newtonsches Fließverhalten, d. h. ihre Viskosität nimmt bei steigender Scherrate ab (Howard 1989, ten Cate 1994). Die physiologische Synovialflüssigkeit ist in der Regel farblos bis strohgelb und klar (Hallmann 1980). Sie enthält u. a. Mucine, Mucopolysaccharide, Hyaluronsäure, Cholesterin, Phospholipide, Proteine und Harnsäure. Die Ernährung des Knorpelgewebes erfolgt ausschließlich durch die Synovialflüssigkeit. Nur eine

ausreichende Bewegung gewährleistet eine optimale Verteilung im Gelenk und sichert durch eine gute Ernährungssituation des Knorpels dessen Elastizität und damit die Widerstandsfähigkeit gegenüber Abrieb und Verschleiß. Darüber hinaus hat die Synovialflüssigkeit verschiedene Aufgaben: Sie schmiert das Gelenk und sorgt dadurch für einen freien Bewegungsablauf und sie schützt als Abstandhalter die Knorpeloberflächen vor Schäden durch Abrieb. Die visköse Flüssigkeit dämpft Stöße auf das Gelenk und verlangsamt dadurch den Verschleiß der Knorpelmasse. Im gesunden Gelenk wirkt die Synovia wie ein Filter, der Nährstoffe zum Knorpel durchdringen lässt, jedoch den Zugang schädlicher Zellen und Substanzen unterbindet. Die Synovialflüssigkeit besitzt die besondere Fähigkeit, sich den unterschiedlichen Anforderungen der Bewegungsabläufe anzupassen. Bei langsamen Bewegungen verhält sich die Flüssigkeit viskös, indem sie sich gleichmäßig im Gelenkspalt verteilt und so das Aufeinanderreiben der Knorpelschichten verhindert. Bei schnellen Bewegungen bildet die Synovialflüssigkeit eine elastische Masse, die wie ein Stoßdämpfer die hohe Krafteinwirkung abfedert. Bei entzündlichen Gelenkerkrankungen ist das Volumen der Synovialflüssigkeit zum Teil beträchtlich erhöht, das Gelenk schwillt an. Ursache hierfür ist die Zunahme von Plasmabestandteilen in der Gelenkhöhle durch die verstärkte Durchlässigkeit der entzündlich veränderten Blut-Synovia-Schranke und durch eine starke Vermehrung der Hyaluronatmenge (Kleesiek et al. 1984). Biochemische Veränderungen der Flüssigkeit führen zu Verlust der Viskosität und erhöhtem Reibungswiderstand (ten Cate 1994). Die Konzentration von Entzündungsmarkern ist in der Synovialflüssigkeit höher als im Blutserum, weil Serum den Stoffwechsel in allen Knorpelgeweben des Körpers widerspiegelt (Lohmander 1990). Es werden daher bei der Analyse der Synovialflüssigkeit vordergründig Aussagen über das untersuchte Gelenk getroffen.

2.2 Erkrankungen des Kiefergelenkes unter besonderer Berücksichtigung der Cranio-Mandibulären-Dysfunktionen (CMD)

Klassifikation von Kiefergelenkerkrankungen

Erkrankungen des Kiefergelenkes können primär oder sekundär bedingt sein.

Zu den primären Kiefergelenkerkrankungen, wie Aplasie, Hyperplasie, Hypoplasie und Dysplasie zählen neben angeborenen und entwicklungsbedingten Erkrankungen auch im Laufe des Lebens erworbene. Sie entstehen durch Entzündungen, Dislokationen, Neoplasien, Kontusion, Luxation, Distorsion, Frakturen oder Ankylose. Sekundär bedingte Kiefergelenkerkrankungen treten im Vergleich zu den primären sehr viel häufiger auf. Sie haben in der Regel funktionelle multifaktoriell bedingte Ursachen. Sie entstehen durch Fehlfunktionen des craniomandibulären Systems. Psychogene Komponenten scheinen zur Auslösung der Erkrankung beizutragen (Meyer 1993). Nach Gernet und Rammelsberg (2000) werden psychogene und myogene Kiefergelenkerkrankungen sowie funktionelle Erkrankungen mit Gelenkbeteiligung unterschieden. Hierzu gehören Diskusverlagerungen, Kiefergelenkarthrose, Diskusperforation, Kondylenluxation und entzündliche Störungen wie Kapsulitis und Synovitis.

Der Begriff Funktionsstörungen im Zusammenhang mit dem stomatognathen System ist ein Sammelbegriff. Er umfasst eine Vielzahl klinischer Probleme, die die Kau-muskeln, das Kiefergelenk oder beide betreffen. Er beinhaltet ein weites Spektrum verschiedenartiger Symptome und Krankheitsbilder, für die mehrere Synonyme gebräuchlich sind (Ohrbach, 1979). Zu den am häufigsten verwendeten Termini zählen temporomandibuläre Dysfunktionen, Costen-Syndrom, myofaziales Schmerz- und Dysfunktionssyndrom, Myoarthropathie und Cranio-Mandibuläre-Dysfunktionen. Englische Synonyme sind temporomandibular disorders (TMD) internal derangement (ID) und craniomandibular disorders (CMD). Von der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde (DGZMK) wurde der Begriff CMD als Cranio-Mandibuläre-Dysfunktion für den deutschen Sprachgebrauch übernommen.

Der in der Abbildung 1 dargestellte früher oft benutzte Begriff Myoarthro-okkluso(neuro)pathie erfasst alle Strukturen, von denen eine Funktionsstörung ausgehen kann. Isolierte Myopathien, Arthro- oder Okklusopathien treten praktisch

sehr selten auf, da die Strukturen des Kauorgans anatomisch und funktionell verbunden sind und sich gegenseitig beeinflussen. In der vorliegenden Arbeit wird aber in Anlehnung an die DGZMK der Begriff Cranio-Mandibuläre-Dysfunktion verwendet.

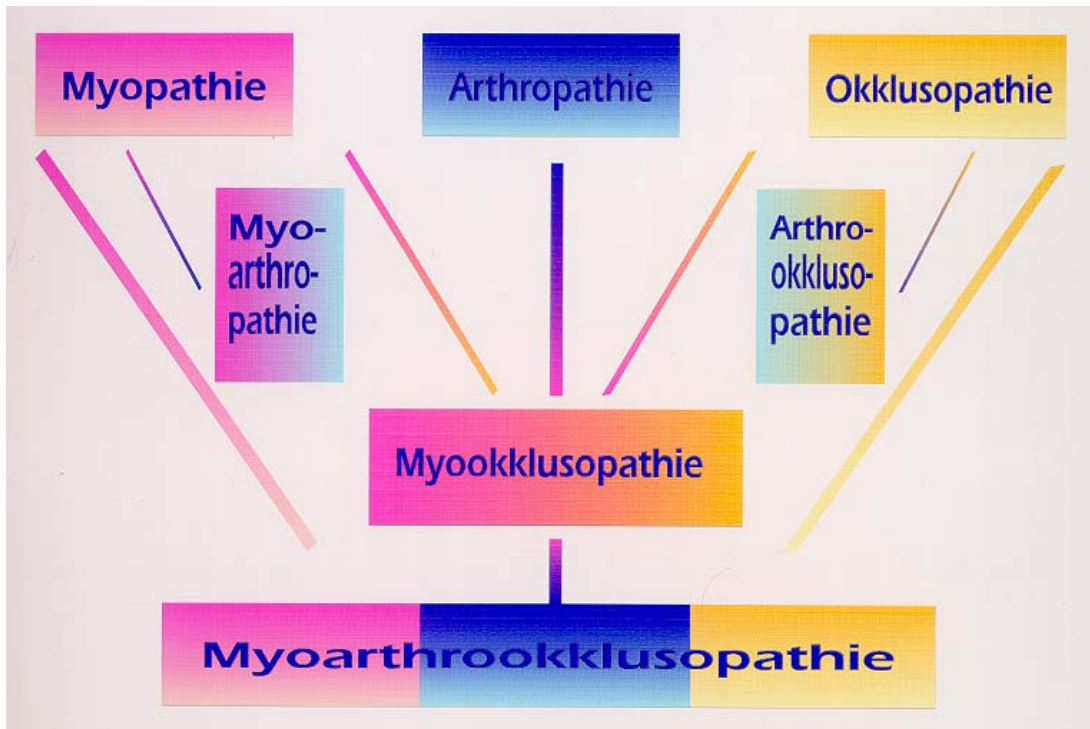


Abb. 1: Klassifizierung von Funktionsstörungen des craniomandibulären Systems

Häufige primäre Kiefergelenkerkrankungen

Arthritiden

Bei der Osteoarthritis liegt neben der degenerativen Veränderung ein entzündliches Geschehen vor. Ursächlich werden eine traumatische, eine metabolische, eine infektiöse und eine rheumatoide Form unterschieden. Nach der Verlaufsform werden die akute und die chronische Arthritis voneinander abgegrenzt. Die traumatische Osteoarthritis kann infolge eines Makrotraumas oder eines Gelenkergusses auftreten. Die metabolische Osteoarthritis entsteht im Zusammenhang mit bestimmten Stoffwechselerkrankungen, z. B. Gicht. Bei der infektiösen Osteoarthritis handelt es sich häufig um hämatogen fortgeleitete Infektionen; Auslöser können Erreger wie

Streptokokkus pyogenes, Staphylokokkus aureus und Staphylokokkus epidermidis sein. Bei der rheumatoiden Osteoarthritis als Sonderform der infektiösen Osteoarthritis werden ätiologisch jedoch auch virale Infekte, Störungen des Immunsystems sowie genetische Prädispositionen diskutiert (Maini et al. 1995). Klinisch treten bei akuten Arthritiden Schmerzen im Bereich des Kiefergelenkes in Ruhe und Bewegung sowie Druckdolenz auf. Der Unterkiefer wird in eine Schonhaltung gezwungen, die zusätzliche Muskelschmerzen hervorruft. Radiologisch findet sich eine strukturelle Veränderung der Gelenkfläche im Sinne einer kranialen Abflachung (Lotzmann u. Bumann 2000). Bei der chronischen Arthritis sind die Kiefergelenke im Rahmen von rheumatischen Erkrankungen wie z. B. Polyarthritiden, Psoriasis arthropatica oder Spondylarthritis ankylopetica (M. Bechterew) mitbeteiligt. In der Regel sind beide Gelenke betroffen. Durch den schubweisen Verlauf kann aber auch einseitige Dominanz auftreten. Klinisch imponiert eine Synovitis mit schmerzhafter und oft eingeschränkter Mundöffnung. Die langsam zunehmende Deformierung des Kondylus kann bis zur Resorption desselben und im fortgeschrittenen Stadium zu einer Ankylose mit ausgeprägter Kieferklemme führen. Röntgenologisch sind degenerative Veränderungen wie periartikuläre Demineralisation, Zerstörung des Knorpels und des Knochens, Verengung des Gelenkspaltes und Erosionserscheinungen nachweisbar. In der Synovialflüssigkeit entzündeter Gelenke fallen hohe Konzentrationen bestimmter Zytokine an. So fanden Szekanecz et al. (1998) signifikant erhöhte Werte von Interleukin-6 in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit rheumatoider Arthritis. Kubota et al. (1998) wiesen hohe Konzentrationen von Interleukin-1 β und Interleukin-6 in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit einer Osteoarthritis des Kiefergelenkes nach. Murakami et al. (1992) wiesen auf einen Zusammenhang zwischen Schmerz und Synovitis hin.

Häufige sekundäre Kiefergelenkerkrankungen

Diskusverlagerungen

Diskusverlagerungen sind durch eine pathologische Diskus-Kondylus-Fossa-Relation gekennzeichnet. Voraussetzung für ihre Entstehung ist die Überdehnung des posterioren Bandapparates. Die häufigste Form dieser Erkrankung ist die anteriore

Diskusdislokation. Bei diesem Krankheitsbild unterscheidet man Verlagerungen mit Reposition (nichtfixierte Diskusdislokation) und ohne Reposition (fixierte Diskusdislokation). Zur Ätiologie der Verlagerung gibt es viele Theorien, die vor allem mit traumatischen, okklusalen, myogenen, iatrogenen und genetischen Einflüssen den pathologischen Befund zu erklären versuchen. Häufig sind die Ursachen für Diskusdislokationen in okklusalen Interferenzen oder in länger bestehender Hyperaktivität der Kaumuskelatur zu sehen. Ebenso kommen Traumata und Hyperextensionen in Betracht (Stiebitz 1980). Die Dislokation kann direkt durch einen oder mehrere dieser Faktoren zustande kommen oder indirekt durch die dorsocraniale Verlagerung des Kondylus. Diese Kondylenverlagerung kann ihrerseits entweder traumatisch oder durch Malokklusionen bzw. Verlust der Molaren auf der betroffenen Seite erfolgen. Begünstigend für eine anteriore Diskusverlagerung wirkt in jedem Falle die Lockerung der ligamentären Anheftung des Diskus im Kiefergelenk. Diese Bandelongation verschafft der eigentlich straffen Einheit von Diskus und Kondylus einen zu großen „Spielraum“. Wichtige ätiologische Faktoren sind auch parafunktionelle Einflüsse. So führen exzentrische Okklusionsstellungen im Frontzahnggebiet zu einer vermehrten Kondylenbelastung am lateralen Pol und zu einer Hypervalenz der protraktorischen Muskulatur. Dies bewirkt zum einen eine Dehnung der posterioren Diskusaufhängung, andererseits kann das laterale Belastungsmaximum bei längerem Bestehen zu Umbauerscheinungen des kondylären Knochens führen (Klett 1986, Gaa 1988).

Die Diskusdislokation mit Reposition ist durch ein reziprokes Knacken bei der Mundöffnungs- und Mundschlussbewegung gekennzeichnet, es treten funktionsabhängige Schmerzen auf. Eine Deviation des Unterkiefers sowie ein partiell initiales Öffnungsknacken können vorhanden sein. Bei der Diskusdislokation ohne Reposition werden eine akute und eine chronische Phase beobachtet. In der akuten Phase kommt es bei der Mundöffnung aufgrund fehlender Repositionsmöglichkeit des Diskus zur Blockierung der Translationsbewegung des Kondylus. Klinisch zeigen sich neben funktionsabhängigen Schmerzen eine stark eingeschränkte Mundöffnung, eine Deviation zur betroffenen Seite sowie eine ausgeprägte Deflexion bei der Protrusionsbewegung. In der chronischen Phase treten oft weniger starke Schmerzen

auf, die Mundöffnung bleibt aber weiterhin eingeschränkt. Die Deflexion ist nicht so stark ausgeprägt wie in der akuten Phase.

Kiefergelenkarthrose/ Osteoarthrose

Die Arthrose ist eine degenerative Erkrankung des Kiefergelenkes. Sie entsteht durch jahrelange Fehlbelastungen der Gelenke, durch Traumata, als Folge von Entzündungen oder Durchblutungsstörungen der Gelenke, durch Einblutungen in die Gelenke oder durch genetisch bedingte Prädispositionen. Sie kann jedoch auch ohne erkennbare Ätiologie auftreten. Diskusverlagerungen werden heute als Vorstufe arthrotischer Veränderungen gesehen, da der Puffereffekt durch die Verlagerung verloren geht. Als Risikofaktor für die Entstehung einer Osteoarthrose werden fehlende Molaren angesehen (Gernet u. Rammelsberg, 2000) Im Verlauf der Osteoarthrose kommt es aufgrund von Veränderungen und Zerstörungen des Knorpelgewebes zunächst zu Osteolysen, später zur Destruktion der Gelenkflächen. Häufig soll dabei eine Diskusperforation vorausgehen. Klinisch imponiert die Osteoarthrose durch einen eingeschränkten Bewegungsumfang und eine Krepitation über dem betroffenen Gelenk. Schmerzen können funktionsbedingt auftreten, die Arthrose kann jedoch auch langjährig ohne klinische Symptomatik verlaufen. Radiologisch sind Ab- und Umbauprozesse am Knochen in Form von Randzackenbildungen der Kondylusoberfläche und ein separates subchondrales Entkalkungsphänomen nachweisbar. Gleichzeitig kann es zu einer Abflachung des Kondyluskopfes kommen. Bei der nichtprogredienten Form der Kiefergelenkarthrose sind nach einer Beobachtungszeit von bis zu 18 Monaten Anpassungsvorgänge verbunden mit Beschwerdefreiheit erkennbar. Verschlechtert sich das klinische Bild, kann nach der o.g. Beobachtungszeit über therapeutische Maßnahmen nachgedacht werden.

Myogene Kiefergelenkerkrankungen

Die Ursache von myogenen Kiefergelenkerkrankungen ist in der Regel multikausal, meist liegt gleichzeitig eine arthrogene Störung vor. In jedem Fall gehen funktionelle und dysfunktionelle Überlastungen voraus. Hierbei werden extreme Mundöffnungen beim Essen und Gähnen, Traumata, Kaugummikauen, lange Mundöffnung bei

zahnärztlicher Behandlung sowie falsche Okklusal- und Palatinalflächengestaltung zahnärztlicher Restaurationen diskutiert. Auch parafunktionelle Einflüsse führen häufig zu einer Dyskoordination der Muskelbewegungen. Die instabile Kontaktposition von Unterkiefer zu Oberkiefer führt zu einer Überlastung der beteiligten antagonistisch und synergistisch tätigen Muskelgruppen. Es treten Verspannungen und Verkürzungen der Muskulatur auf, wobei die Mundöffnung eingeschränkt sein kann (Gundlach 1992, Reich 1990, Sander et al. 1989). Durch Überlastungen der Muskulatur kommt es hier zu einer verminderten Durchblutung und somit zu einer Anreicherung von Stoffwechselabbauprodukten. Die in diesem Zusammenhang auftretenden Schmerzen führen zu Funktionseinschränkungen und Dysfunktionen, die ihrerseits wieder neue Verspannungen und Schmerzen auslösen (Sebald 2001). Ziel der Therapie ist es, diesen circulus vitiosus zu durchbrechen. Dies kann durch eine Muskelentspannung mittels Aufbisschienen, myofunktionellen Übungen sowie physiotherapeutischen Maßnahmen erreicht werden. Bei Vorliegen okklusaler Interferenzen steht zunächst deren Beseitigung im Vordergrund.

2.3 Diagnostik und Therapie von Kiefergelenkerkrankungen

Eine ausführliche Anamnese und eine sorgfältige klinische Befunderhebung durch den Zahnarzt sind Voraussetzungen für die Diagnosestellung von Kiefergelenkerkrankungen. Dabei bieten die klinische Funktionsanalyse mit Muskel- und Kiefergelenkbefund sowie die Überprüfung der klinischen Beweglichkeit des Unterkiefers einen guten Überblick über den Funktionszustand des Kauorgans (Sümmig u. Thomaschewski 1990). Sie ermöglicht differentialdiagnostische Aussagen, weil durch entsprechende Tests eine spezifische Belastung einzelner anatomischer Strukturen des Kiefergelenkes erfolgt. So kann man herausfinden, ob belastungsbedingte Symptome vorliegen oder ob bestehende Beschwerden durch die Belastungstests beeinflussbar sind. Entsprechend können Läsionen des Kiefergelenkes und der Kaumuskulatur spezifischen anatomischen Strukturen zugeordnet und gezielte Therapieansätze gewählt werden. Für die Beurteilung der Kiefergelenkstrukturen werden verschiedene bildgebende Aufnahmeverfahren genutzt. In der zahnärztlichen Praxis steht in der Regel die Panoramaschichtaufnahme zur Verfügung. Um Weichgewebe und Knorpel besser

beurteilen zu können, ist die Anfertigung eines Magnetresonanztomogramms (MRT) erforderlich. Mit Hilfe der klinischen Okklusionsanalyse lassen sich zentrische Frühkontakte aufspüren. Computerassistierte instrumentelle Funktionsanalysen wie axiographische Verfahren zeigen pathologische Bewegungsmuster auf (Gernet u. Rammelsberg 2000, Kordass 2002). Die Arthroskopie kommt sowohl in der Kiefergelenkdiagnostik als auch in der Kiefergelenktherapie zum Einsatz. Aufgrund ihrer Invasivität ist sie jedoch kein Mittel der ersten Wahl. Zunächst haben in der Therapie konservative Maßnahmen den Vorrang. Hierzu zählen lokale Sofortmaßnahmen wie Kälteapplikation oder Wärmetherapie, Myofunktionelle Übungen und physiotherapeutische Maßnahmen sowie die Behandlung mit Aufbissbehelfen. Der Schienentherapie sollten funktionsdiagnostische Maßnahmen in Form von Okklusionsanalysen und Ermittlung der Kieferrelation vorausgehen, um die optimale zentrische Position der Kiefergelenke zu ermitteln. Die Einstellung der Zentrik beruht trotz aller Hilfsmittel, die die moderne Zahnmedizin kennt, auch immer noch auf der Erfahrung des Behandlers und erfolgt leider nicht sicher rekapitulierbar. Wenn die optimale individuelle zentrische Position des Kiefergelenkes gefunden ist und der Patient nach ca. vierwöchiger Tragezeit der Zentrikschiene individuell schmerzfrei oder schmerzärmer ist, muss diese Position der Kiefergelenke durch prothetische, chirurgische, kieferorthopädische oder kombinierte Therapien manifestiert werden, oder der Patient trägt zeitlebens diese Zentrikschiene. Bleiben Schienentherapie und andere konservative Maßnahmen bei bestehender Myoarthropathie bzw. CMD erfolglos, ist ein weiterführendes chirurgisches Vorgehen angezeigt. Hier sollte zunächst minimalinvasiv mit Hilfe der Arthroskopie weiterbehandelt werden.

Die Besonderheit der Arthroskopie liegt im Vergleich zur klinischen Untersuchung und zu bildgebenden Verfahren in der direkten Einsicht in das Gelenk. Dadurch kann das Ausmaß von Gewebeveränderungen wie Bandelongation und Gefäßinjektion unmittelbar erfasst und eingeordnet werden. Ebenso sind Gewebehyperplasien bei der Arthrosis deformans und synoviale Chondromatosen, die radiologisch schwierig nachzuweisen sind, diagnostizierbar. Besonders bezüglich der Beurteilung von Form- und Lageänderungen des Diskus wies Korger-Najary (2003) für die Arthroskopie eine hohe diagnostische Wertigkeit im Vergleich zu bildgebenden Verfahren wie

transkraniellen Röntgenaufnahmen und Magnetresonanztomogrammen nach. Arthroskopischen Befunde wurden in diagnostischer Hinsicht als vergleichbar zur offenen Gelenkchirurgie eingeschätzt.

Zu den besonderen Vorteilen der Arthroskopie zählt die Möglichkeit, gleichzeitig therapeutisch eingreifen zu können. Bereits Tarro (1988) berichtete, dass in vielen Fällen, bei denen die Arthroskopie als Behandlungsmethode angewendet wurde, auf die offene Gelenkchirurgie verzichtet werden konnte. Montgomery et al. (1989) bestätigen klinische Erfolge nach arthroskopischer Therapie. Durch Lysis intraartikulärer Adhäsionen mit anschließender Lavage des Gelenkes lässt sich eine positive Einflussnahme auf die Schmerzsymptomatik bis hin zur optimalen Regeneration mit völliger Schmerzfreiheit sowie einer Verbesserung der Mundöffnungs- und Kaufunktion erreichen (Reich 2003, Berge et al. 2000, Nitzan et al. 1990, Mosby 1993, Dalström et al. 2000, Indresano 1989, Ziegler et al. 1999, Moses et al. 1989, Mc Cain et al. 1992, Murakami et al. 1996). Darüber hinaus beschrieben Kopp et al. (1985) im Zusammenhang mit arthroskopischen Untersuchungen die intraartikuläre Injektion von Hyaluronat zur wirksamen Schmerzbekämpfung. Eine Veränderung der Konzentration verschiedener Mediatoren in der Synovialflüssigkeit mittels Lavage wiesen Kaneyama et al. (2004) nach. Sie führten an 17 Kiefergelenken mit Cranio-Mandibulärer-Dysfunktion eine Arthrocentese und Lavage mit 100 bis 400 ml Ringerlösung durch und fanden nach Immunoassayuntersuchung deutlich verminderte Konzentrationen von Bradykinin, Interleukin-6 und Protein. Bereits eine Menge von 200 ml Perfusat erwies sich als effektiv. Die ausschließlich diagnostische Anwendung der Arthroskopie sollte sehr sorgfältig abgewogen werden, da aufgrund der notwendigen Narkose bzw. Sedierung alle damit verbundenen möglichen Komplikationen auftreten können (Sugisaki et al. 1995, Schickinger et al. 1998). Bei der Arthroskopie selbst sind, obwohl es sich um ein minimalinvasives Verfahren handelt, intraoperative Komplikationen wie Einblutungen in das Gelenk, Diskusschädigungen, Verletzungen und Entzündungen des Mittelohres und der mittleren Schädelgrube sowie Schädigungen des Nervus facialis möglich. Allerdings treten derartige Ereignisse sehr viel seltener als bei offener Gelenkchirurgie auf (Holmlund 1992, Sugisaki et al. 1995, Schickinger et al. 1998). Indresano (2001) gibt die Komplikationsrate für Lysis und Lavage mit 3 % und

für die operative Arthroskopie mit 2 % an. Tsuyama et al. (2000) dagegen berichtet von Komplikationen bei Lysis und Lavage in 10,3 % der Fälle.

Im Anschluss an den arthroskopischen Eingriff wird die konservative Therapie weitergeführt. Ist der Patient beschwerdefrei, gilt es auch hier, die erreichte Position der Kiefergelenke durch definitive Maßnahmen zu sichern. Wenn auch mehrfache arthroskopische Operationen für den Patienten keine Verbesserung seiner Situation herbeigeführt haben, kann in einem nächsten Schritt durch offene Gelenkoperation versucht werden, die Kiefergelenkerkrankung zu behandeln.

Die Therapie einer Osteoarthritis besteht in einer umgehenden hochdosierten systemischen Antibiose, um irreparable Schädigungen des Gelenkes zu vermeiden. Die Therapie der chronischen Polyarthritis erfordert ein interdisziplinäres Vorgehen beschränkt sich in unserem Fachgebiet aber oft auf die Schmerzbehandlung gegebenenfalls durch intraartikuläre Anästhesie und eine Gelenkentlastung mittels Schientherapie.

2.4 Der Kiefergelenk-Knorpelstoffwechsel

Der Knorpel besteht aus zellulären Bausteinen - den Chondrozyten - und der pathophysiologisch besonders bedeutsamen spezifischen Matrix. Die Chondrozyten sind die Stoffwechselzentren und einzigen zellulären Bestandteile des hyalinen Knorpels beim Erwachsenen. Sie produzieren große Mengen von Skleroproteinen, Enzymen, Glykosaminoglykanen und Proteoglykanen. Die extrazelluläre Matrix des Gelenkknorpels enthält zwei Makromolekülklassen: Proteoglykane sind für die Druckfestigkeit und Elastizität des Gewebes verantwortlich und Fibrillen aus Kollagen Typ 2 gewährleisten die Zug- und Scherfestigkeit des Knorpelgewebes. Der Knorpel unterliegt einem ständigen langsamen Umbauprozess. Neben den lysosomalen Proteasen, die innerhalb der Knorpelzelle und unmittelbar perizellulär wirken, gibt es eine Vielzahl von Matrix-Metalloproteinasen wie Kollagenase, Stromelysin oder Aggrecanase, die bei neutralem pH-Wert im Gewebe alle Knorpelbausteine abbauen können. Ihre aktuelle Aktivität resultiert aus dem Gleichgewicht zwischen Aktivierung der latenten Form dieser Enzyme und der Hemmung der Aktivität durch Proteaseinhibitoren des Knorpelgewebes (Kolb, 2003). Die Steuerung der Aktivität

erfolgt nach heutigem Wissensstand durch das Zytokin Interleukin-1. Ein Gewebeinhibitor der Metallproteasen sowie der Plasminogenaktivator-Inhibitor können die katabolen Enzyme hemmen und so den Knorpelabbau bremsen. Es gibt Polypeptidmediatoren, die als Wachstumsfaktoren anabole Stoffwechselprozesse im Knorpel stimulieren und im begrenzten Umfang zur Knorpelneubildung beitragen. Dazu gehören der Insulin-like-growth-factor 1 sowie der Transforming-factor β . Beide regen die Proteoglykansynthese an. Sie regulieren den Stoffwechsel der Matrix im gesunden Knorpel. Auffallend ist, dass die Wachstumsfaktoren sowohl anabole als auch katabole Stoffwechselprozesse der Chondrozyten durch Regulation der Chondrozytenrezeptoren für Interleukin-1 (Lohmander 1991) beeinflussen. Neue Ergebnisse haben gezeigt, dass Kollagenfragmente, wie sie im Kollagen-Hydrolysat enthalten sind, selbst als Mediatoren im Knorpel fungieren und die Neusynthese der Knorpelmatrix stimulieren (Oesser u. Seifert 2003). Neben biochemischen Regulatoren wirken auch physikalische Faktoren auf den Knorpelstoffwechsel ein. Während statische Belastung und anhaltende zyklische Belastungen die Synthese von Proteoglykanen und Proteinen hemmen, können dosierte Belastungen von relativ kurzer Dauer die Biosynthese von Matrixbausteinen fördern.

2.5 Untersuchungsparameter in der Synovialflüssigkeit des Kiefergelenkes

2.5.1 Zytokine

Zytokine sind Glykoproteine, die von Immunzellen, aber auch von nicht immunologischen Zellen, hauptsächlich jedoch von Leukozyten gebildet und freigesetzt werden. Sie dienen als Botenstoffe der interzellulären Kommunikation des Immunsystems. Sie steuern und koordinieren so die Abwehr von Krankheitserregern und sind mitverantwortlich für den erfolgreichen Ablauf einer Immunreaktion. Sie wirken als Wachstumsfaktoren, aktivieren oder deaktivieren Zellen und dienen als Schutz vor Gewebeschädigungen. Zytokine können proinflammatorisch wirken, indem sie z. B. entzündliche Gebiete lokalisieren und durch Chemotaxis wichtige Entzündungszellen anlocken. Des Weiteren sind sie in der Lage, Reparationsmechanismen in Gang zu setzen. Zytokine müssen nicht in die Zelle eindringen, um eine Wirkung zu erzielen, sie docken lediglich an einen Rezeptor an,

der auf der Zelloberfläche sitzt. Durch diese Bindung werden bestimmte biologische Reaktionen innerhalb der Zelle ausgelöst und weitergeleitet. Verschiedene Zytokine können mit demselben Rezeptor eine Bindung eingehen (Roeb u. Rose-John 1996, Villiger u. Brühlmann 1999). Zu den Zytokinen gehören eine Vielzahl von Stoffen, u. a. Interleukine, Lymphokine, Monokine, Wachstumsfaktoren und Interferone. Die Zytokine haben keine einheitliche Namensgebung. Viele Zytokine werden als Interleukine (IL-) bezeichnet und sind von 1 bis mittlerweile 27 durchnummeriert. Andere Zytokine sind nach ihrer Funktion benannt, wie z. B. Tumornekrosefaktor- α (TNF- α).

Nach ihrer Wirkung während einer Immunantwort werden entzündungsfördernde und entzündungshemmende Zytokine unterschieden. Entzündungsfördernde Zytokine sorgen dafür, dass bei Eindringen eines Erregers Immunzellen zum Infektionsort gelockt werden, es zu verstärkter Durchblutung des betroffenen Gewebes kommt und die Immunzellen aktiviert werden. Entzündungshemmende Zytokine dagegen sorgen dafür, dass nach erfolgreicher Bekämpfung des Krankheitserregers die Entzündung wieder zum Erliegen kommt und die aktivierten Zellen wieder abgeschaltet werden. Weiterhin reguliert das Wechselspiel zwischen entzündungsfördernden und -hemmenden Zytokinen den effektiven Ablauf der Immunabwehr. Wenn die Balance und damit das Zusammenwirken von entzündungsfördernden und -hemmenden Zytokinen gestört ist, kommt es zu schwerwiegenden Erkrankungen, da der Krankheitserreger entweder nicht beseitigt werden kann oder die Immunreaktion nicht zum Erliegen kommt, obwohl der Erreger nicht mehr vorhanden ist. Liegen z. B. entzündungsfördernde Zytokine im Überschuss vor bzw. sind zu wenig entzündungshemmende Zytokine vorhanden, kommt es zur chronischen Entzündung. Erkrankungen, bei denen die Zytokinbalance gestört ist, sind z. B. Psoriasis, Morbus Crohn und Rheumatoide Arthritis. Der Spiegel eines bestimmten Zytokins ist als Folge einer sofortigen Reaktion auf ein Geschehen des Immunsystems anzusehen. Daher eignen sie sich als sensitive Marker für den Aktivierungszustand des Immunsystems. Folglich kann ein veränderter Zytokinpiegel bei sehr vielen verschiedenen Erkrankungen beobachtet werden. Als Untersuchungsmaterial eignen sich Punktate von Serum, Plasma, Synovialflüssigkeit, Ascites usw., die frisch verarbeitet werden müssen. Die therapeutische Anwendung von Zytokinen gewinnt in den letzten Jahren

immer mehr an Bedeutung. Hierbei wird durch Verabreichung von speziellen Zytokinen versucht, eine bestehende Zytokin-Dysbalance, die zu einem Krankheitsbild führt, auszugleichen und damit die Krankheit zu therapieren (Langer, 2002). Weiterhin werden Zytokine zur Therapie eingesetzt, um die immunologische Abwehr z. B. gegen Tumorzellen anzuregen und es wird versucht, eine Zytokin-Dysbalance durch Gabe von löslichen Rezeptoren oder von neutralisierenden Antikörpern auszugleichen. Zur Therapie bei rheumatoider Arthritis werden Antikörper gegen TNF- α eingesetzt. Antikörper gegen TNF- α sind Eiweißmoleküle, die spezifisch an TNF- α binden und diese neutralisieren und inaktivieren. Antikörper gegen TNF- α sind in der Lage, die entzündungsstimulierenden Effekte von TNF- α zu blockieren. Interleukin-1 und Interleukin-6, die von Chondrozyten selbst gebildet werden können, haben die Eigenschaft, den Knorpelabbau zu begünstigen und spielen eine entscheidende Rolle im Verlauf der Arthrose. Der TNF- α und Interleukin-1 α wirken stimulierend auf die Produktion von Interleukin-6 (Schliephake et al. 1997) Es ist der Hauptmediator der Akut-Phase-Reaktion. Mit der routinemäßigen Bestimmung des Zytokins Interleukin-6 lässt sich feststellen, in welcher Phase der Immunstimulation sich ein Patient befindet und somit eine beginnende Sepsis früh und sicher erkennen.

Eine Unterfamilie der Zytokine sind die Chemokine. Sie enthalten 70 bis 80 Aminosäuren und haben Spezifitäten für unterschiedliche Leukozyten (Gemsa 1979). Die Bindung eines Chemokins an seinen spezifischen Rezeptor bewirkt eine Beeinflussung der Chemotaxis der Zielzelle (Baggiolini 2001).

Interleukin-1 β

Interleukin-1 ist ein stark proentzündliches Zytokin. Die IL-1-Familie besteht aus drei Typen von Liganden: zwei proentzündlichen Antagonisten (IL-1 α und IL-1 β) und einem endogenen Rezeptorantagonisten (IL-1-Rezeptor-Antagonist = IL1-ra). IL-1ra ist eine strukturelle Variante von IL-1, welche die proentzündlichen Effekte von IL-1 dadurch inhibiert, dass sie als kompetitiver Inhibitor der Bindung von IL-1 funktioniert (Tominaga et al. 2001 und 2004, Arend 2001). Es gibt zwei Rezeptortypen (IL-1R) für IL-1: IL-1R des Typs I (IL-1RI) hat ein langes zytoplasmatisches Schwanzende und ist verantwortlich für die Induktion der intrazellulären Signalübermittlung, nachdem sich IL-1 an IL-1RI gebunden hat. IL-1R

des Typs II (IL-1RII) hat nur eine kurze zytoplasmatische Domäne und ist für die entzündliche Antwort inaktiv. IL-1RII befindet sich auf der Zelloberfläche, d.h. die Membranform von IL-1RII arbeitet gewissermaßen als Köderrezeptor und führt zu einem Nettoabfall von IL-1, das für eine Bindung an IL-1RI nicht mehr zur Verfügung steht. Zusätzlich wird IL-1RII von der Zelloberfläche in löslicher Form (=sIL-1RII) freigesetzt, bindet sich in dieser Form an IL-1 und verhindert so, dass dieses Zytokin die Zelloberfläche erreicht (Matovani et al. 2001). Kürzlich berichteten Alstergren et al. (2003) über IL-1 β , IL-1ra und sIL-1RII im Synovialfluid des Kiefergelenkes und im Plasma von Patienten mit Polyarthritiden wie z. B. rheumatoider Arthritis unter Beteiligung des Kiefergelenkes. IL-1ra war lokal erhöht und sIL-1RII war systemisch erhöht bei diesen Patienten. In dieser Untersuchung wurde die Aktivität von Interleukin-1 β , welches extrazellulär z. B. mit Hilfe von Transportproteinen freigesetzt wird, in der Synovialflüssigkeit von Kiefergelenken bestimmt. Als Quelle des IL-1 β gelten Monozyten/Makrophagen (Dinarello 1989). Interleukin-1 ist ein wesentlicher Zytokininduktor. Es aktiviert T-Lymphozyten zur Bildung von Interleukin-2 und Interleukin-2-Rezeptoren, fördert die Proliferation und Differenzierung von B-Lymphozyten, steigert die zytologische Aktivität bestimmter natürlicher Killerzellen und die Differenzierung von Interleukin-2-aktiven Killerzellen. Interleukin-1 ist in der Lage, seine eigene Produktion wie auch die zahlreicher Makrophagenzytokine, z. B. TNF- α zu stimulieren. In Fibroblasten, Osteoklasten und Knorpelzellen bewirkt Interleukin-1 eine Erhöhung der Kollagenase. Es steht als Schlüsselmediator mit dem Prozess der Entzündung im Zusammenhang und trägt zur Zerstörung des Korpels bei (Arend und Dayer 1990). Eine besondere Bedeutung kommt der Wirkung als endogenes Pyrogen zu. Aus Muskelzellen, Fibroblasten, Osteoblasten und Osteoklasten, Synovialzellen, Knorpelzellen und Makrophagen kann Interleukin-1 Prostaglandine freisetzen, welche über das thermoregulatorische Zentrum im Hypothalamus Fieber auslösen. Interleukin-1 wurde in der Synovialflüssigkeit bei rheumatoider Arthritis, in Pleuraexsudaten bei Bronchialkarzinom oder Tuberkulose und im Exsudat bei Gingivitis nachgewiesen. Bei hochakutem Krankheitsgeschehen wie Sepsis, Trauma, Verbrennungen oder hohem Fieber wurde Interleukin kurzfristig im Plasma gefunden (Gemsä und Resch 1997, Irwin et al. 1998, Alstergren 2000).

Interleukin-6

Das Zytokin Interleukin-6 wird von Fibroblasten, T-Zellen, Monozyten, Makrophagen und Endothelzellen gebildet. Es ist ein multifunktionelles Zytokin. Interleukin-6 bewirkt die Synthese von Proteinen der Akut-Phase-Reaktion in der Leber, wirkt als Differenzierungsfaktor für B-Lymphozyten, als Wachstumsfaktor für Myelomzellen, zusammen mit Interleukin-1 als Koaktivator für T-Lymphozyten. In Anwesenheit von Interleukin-2 fördert Interleukin-6 die Differenzierung von T-Zellen in zytotoxische T-Zellen. Mit Interleukin-3 wirkt es synergistisch auf die Differenzierung von Makrophagen bei der Hämatopoese. T-Zellen, B-Zellen, Monozyten, Hepatozyten und einige Tumorzellen verfügen über einen Interleukin-6-Rezeptor. Darüber hinaus kann Interleukin-6 mit Hilfe eines Signalüberträgerproteins in Zellen ohne Rezeptor gelangen (Gemsas und Resch 1997, Kishimoto et al. 1992).

2.5.2 Peroxidase

Die Enzymgruppe der Peroxidasen ist in der Zelle für den Umsatz von Wasserstoffperoxid zuständig, welches bei Oxidasereaktionen anfällt und als Zellgift wirkt. Die Oxidasen oxidieren geeignete Substrate durch den Entzug von Wasserstoff und übertragen diesen auf Sauerstoff unter Bildung von H_2O_2 . Sauerstoff in Form von "freien Radikalen" verursacht lebensbedrohliche Krankheiten und fördert den vorzeitigen Alterungsprozess. Normalerweise liegt zwischen den oxidativen und reduktiven Prozessen in der Zelle ein Gleichgewicht vor. Überwiegen jedoch die oxidativen Reaktionen, spricht man vom "oxidativen Stress". Freie Radikale sind Atome oder Moleküle, die ein oder mehrere ungepaarte (freie) Elektronen besitzen. Sie entstehen durch Homolyse kovalenter Bindungen oder durch Aufnahme oder Abgabe eines Elektrons. Den Radikalen des Sauerstoffs gilt ein besonderes Interesse, da sie im menschlichen Körper ganz natürlich während der Energieerzeugung, aber auch durch äußere Einflüsse wie z. B. Medikamente, Tabakrauch, Gifte, UV- oder Röntgenstrahlung entstehen. Sauerstoffradikale sind z. B.: Superoxidationradikal ($O_2^{\cdot-}$), Perhydroxylradikal (HOO^{\cdot}), Wasserstoffperoxid (H_2O_2), Hydroxylradikal (HO^{\cdot}), Alkoxyradikal (RO^{\cdot}), Peroxylradikal (ROO^{\cdot}) und Hydroperoxyd ($ROOH$) (Milam et al. 1998). Da ungepaarte Elektronen danach streben, ein Elektronenpaar zu

bilden, sind freie Radikale besonders reaktionsfreudig. Sauerstoffradikale schädigen deshalb eine Vielzahl zellulärer Verbindungen. Von besonderer Bedeutung sind dabei mögliche Schädigungen der Basen von Nucleinsäuren (v.a. Thymin und Guanin), die letztendlich die Veränderung der Chromosomen und damit des Erbgutes nach sich ziehen können. Auch Proteine und Lipide werden durch freie Radikale angegriffen. Werden veränderte Proteine z. B. in Enzyme eingebaut, kann deren Aktivität drastisch reduziert werden. Während Kohlenhydratverbindungen kaum durch Sauerstoffradikale geschädigt werden, treten bei Lipiden große Schädigungen auf. Da Lipide ein Hauptbestandteil von Membranen (z. B. Zellmembranen) sind, können hier ganz empfindliche Störungen der Membraneigenschaften hervorgerufen werden. Besonders anfällig für eine Schädigung durch Sauerstoffradikale sind ungesättigte Fettsäuren. Da die reaktiven Sauerstoffverbindungen auch beim ganz normalen Stoffwechselgeschehen (bei der unvollständigen Reduktion des Sauerstoffs zu Wasser) entstehen, war in der Evolution des Menschen die Ausbildung von enzymatischen und nicht enzymatischen Schutzmechanismen (Antioxidantien) notwendig (Löffler u. Petrides 2001). Als nicht enzymatische Antioxidantien wirken Vitamin C und E, Beta-Carotin, Flavanoide und Polyphenole. Metallbindende Proteine verhindern, dass Metalle in freier ionisierter Form vorliegen und als freie Radikale schädigend im Organismus wirken können. Enzymatische Antioxidantien sind Glutathionperoxidase, Superoxiddismutase und Hydroxyperoxidase. Die Glutathionperoxidase als wichtigstes Antioxidanz reduziert Sauerstoff- und Lipidperoxide. Glutathion ist ein Tripeptid aus Glycin, Cystein und Glutamat. Die Glutathionperoxidase enthält als weiteren wichtigen Baustein noch Selen. Sie kann durch die Glutathionreductase regeneriert werden.

Bei der rheumatoiden Arthritis können freie Radikale vor allem während der Entzündungsschübe eine wesentliche Rolle bei der fortschreitenden Zerstörung des Gelenkknorpels spielen. Die Kapazität der körpereigenen Antioxidantiensysteme ist begrenzt. Deshalb findet man bei Rheumatikern in der Umgebung der entzündlichen Gelenke und oft auch systemisch einen verminderten Gehalt der antioxidativen Vitamine C und E, von Beta-Carotin/Vitamin A sowie der Enzyme Katalase, Superoxiddismutase und Glutathion-Peroxidase. Dieser Mangel an Radikalfängern

kann wiederum der Entzündung Vorschub leisten und das Abklingen des Rheumaschubes verzögern (Helmy et al. 2001).

Die wichtigste Peroxidase in der Synovialflüssigkeit ist die Myeloperoxidase. Sie wird nur in polymorphkernigen Leukozyten und in geringerer Menge in Monozyten gefunden. Dort wird sie nach ihrer Synthese in den azurophilen Granula gelagert und bei Stimulation im Laufe der Entzündungsvorgänge durch Degranulation in die Phagosomen oder in den Extrazellulärraum abgegeben bzw. beim Zelltod freigesetzt (Klebanoff 1992). Myeloperoxidase katalysiert die Bildung von hypochloriger Säure (HOCl) bzw. Hypochlorit (OCl^-) aus dem überall im Körper vorhandenen Chlorid und Wasserstoffperoxid. Das so gebildete HOCl/ OCl^- ist ein starkes Oxidationsmittel, das viele wichtige Makromoleküle durch Oxidation schädigt, wie z. B. die Sulfhydrylgruppen in Enzymen. Hierauf beruht die antimikrobielle Wirksamkeit der Myeloperoxidase bei Entzündungen, wo ihr Spiegel im Plasma und anderen Körperflüssigkeiten erhöht vorliegt (Deby-Dupont et al. 1999). Wenn diese Reaktion nicht ausreichend kontrolliert wird, kommt es aber auch zu Schädigungen der Makromoleküle des Wirtsorganismus wie z. B. der polymeren Komponenten des Knorpels (Schiller et al. 1994). Somit ist die Myeloperoxidase ein Enzym mit mehreren Funktionen sowohl bei der Wirtsabwehr als auch bei der Gewebsschädigung an Orten mit Entzündung.

2.5.3 Gesamtprotein

Die Gesamtproteinkonzentration im Synovialfluid ist normalerweise geringer als im Serum und beträgt ungefähr 25 bis 30% der Serumkonzentration des gleichen Individuums. Bei entzündlichen Gelenkprozessen verschiebt sich die Proteinzusammensetzung der Synovialflüssigkeit und wird der des Blutes ähnlicher. Die Konzentration von Gesamtprotein im Synovialfluid beträgt ca. 1,5 bis 1,8 mg pro 100 ml (Cohen 1975). Diese niedrige Konzentration ist ein Resultat der relativen Impermeabilität der Synovialmembran für Plasmaproteine mit hohem Molekulargewicht. Hingegen ist die Membran relativ durchgängig für kleine Albuminmoleküle. So ist unter normalen Bedingungen das Verhältnis der Konzentrationen von Albumin zu Globulin im Synovialfluid 4 zu 1, während es im Serum 1 zu 1 beträgt. Bei einer vorliegenden

Arthrose liegt die Gesamtproteinkonzentration bei 20 bis 30 g/l, bei der chronischen Arthritis sogar 40 bis 60 g/l (Greiling u. Gressner 1995). Bei einsetzender Entzündung erhöht sich die Permeabilität der Gefäße als Folge einer Komplementaktivierung und Histaminfreisetzung aus Mastzellen sowie durch eine Depolymerisation des Hyaluronats in der Synovialmembran. So passieren die Proteine vermehrt die Synovialmembran, und die Proteinkonzentration im Synovialfluid steigt an. Während eine Erhöhung der Konzentration auf 2,5 mg noch normal ist, spricht ein Wert von 4,5 mg pro 100 ml für eine schwere Entzündung, wie z. B. die rheumatoide Arthritis (Cohen 1975).

2.5.4 N-Acetyl-β-D-Glucosaminidase

Degenerative Gelenkveränderungen nehmen ihren Ausgang direkt vom Gelenkknorpel und sind in ihrer frühesten Phase auf eine gesteigerte Aktivität lysosomaler Enzyme zurückzuführen. Knorpel zeichnet sich vor allen Dingen durch elastische Eigenschaften aus und weist einen hohen Gehalt an Proteoglycanen auf. Kamada et al. (1993) untersuchten an erkrankten Kiefergelenken bei dreimaliger Lavage mit jeweils 1,5 ml Lidokainlösung die N-Acetyl-β-D-Glucosaminidaseaktivität. Zu den β-Glycosidasen, welche als lysosomale Enzyme beim Abbau der Hyaluronsäure im Synovialfluid eine Rolle zu spielen scheinen, gehören die N-Acetyl-β-D-Glucosaminidase, N-Acetyl-β-Galaktosaminidase und die β-Glucuronidase. Kamada konnte signifikant erhöhte Lavagespiegel bei Osteoarthritis ($p < 0,001$) und bei Cranio-Mandibulärer-Dysfunktion ($p < 0,01$) nachweisen. Dieser Anstieg korrelierte mit der Abnahme der Menge und des Molekulargewichtes von Hyaluronsäure während der Erkrankung. Hier könnte ein Zusammenhang mit der gesteigerten Permeabilität der Synovialmembran für Plasmaproteine infolge der Zerstörung der Membranzellen bestehen, da die N-Acetyl-β-D-Glucosaminidaseaktivität im Plasma signifikant höher als im Synovialfluid ist. Für die Bildung der extrazellulären Matrix ist die Hyaluronsäure von großer Bedeutung, die unter anderem in der Synovialflüssigkeit in hoher Konzentration vorkommt. Sie enthält keinen Proteinanteil und hat ein Molekulargewicht von 1-3mal 10^6 Dalton. Das zugrunde liegende Disaccharid besteht aus Glucuronsäure und N-Acetylglucosamin. Glucuronsäure und N-Acetylglucosamin

sind in β -glycosidischer Bindung miteinander verknüpft. Proteoglycane und Hyaluronat bilden zusammen mit Kollagenen und Elastin ein dreidimensionales Netzwerk, dessen räumliche Anordnung durch Wechselwirkungen zwischen den positiv geladenen Aminosäureresten der Kollagen- und Elastinfasern sowie negativen Ladungen auf den Proteoglycanen bestimmt wird. Es ist bekannt, dass meist zwei Isoenzyme von N-Acetyl- β -D-Glucosaminidasen in verschiedenen Geweben vorhanden sind. N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase wird auch als Enzymassay für Urin genutzt, um Nierenerkrankungen nachzuweisen.

2.5.5 Nitrotyrosin

Nitrotyrosin wird durch die Reaktion von Peroxynitrit und der in Proteinen vorkommenden Aminosäure Tyrosin gebildet. Peroxynitrit entsteht bei der Reaktion von Superoxiden mit Stickstoffoxid (Reiter et al. 2000). Es bewirkt in Proteinen eine Modifizierung von Tyrosinresten durch die Bindung einer Nitrogruppe an eine ortho-Position des Tyrosins. Die so entstehenden nitrotyrosinylierten Proteine können als 3-Nitrotyrosin mit Hilfe spezifischer monoklonaler oder polyklonaler Anti-Nitrotyrosin-Antikörper immunhistochemisch nachgewiesen werden. Neuere Studien zeigten, dass Nitrotyrosin auch enzymatisch durch die Eosinophilenperoxidase (Wu 1999) und die Myeloperoxidase (van der Vliet 1997, Sampson 1998, Eiserich 1998, ter-Steege 1998) gebildet werden kann. Nitrotyrosinylierte Proteine konnten bisher schon bei einer Vielzahl von Erkrankungen, wie z. B. Arteriosklerose, entzündlichen Darmerkrankungen, multipler Sklerose und Asthma bronchiale gefunden werden (ter-Steege et al. 1998).

2.5.6 Kollagenase

Die Kollagene gehören mengenmäßig zu den am weitesten verbreiteten Proteinen im Organismus. Im Binde- und Stützgewebe machen sie den Hauptanteil aus und sind dort wesentlich verantwortlich für die mechanische Stabilität und Aufrechterhaltung der strukturellen Integrität (Löffler 1999). Neben Myosin, Keratin, Hydroxylapatit des Knochens und Elastin ist Kollagen ein Bestandteil unseres Organismus mit beträchtlicher Zugfestigkeit. Die zellulären Bestandteile des Binde- und Stützgewebes sind Abkömmlinge undifferenzierter mesenchymaler Stammzellen. Ihre primäre Funktion besteht in der Biosynthese und Sekretion von Glycoproteinen und Proteoglycanen, die auch als extrazelluläre Matrix bezeichnet werden. Je nach dem Verhältnis der Einzelbestandteile entstehen Knochen, Knorpel, Bänder und Sehnen. Von den mesenchymalen Stammzellen leiten sich die Fibroblasten, Chondroblasten, Osteoblasten, Endothelzellen und Mastzellen ab. In der extrazellulären Matrix finden sich in jeweils unterschiedlichen Proportionen vier Typen von Makromolekülen: Kollagene, Elastin, Proteoglycane und Strukturglycoproteine. Die Kollagene lassen sich in fibrillenbildende Kollagene der Typen 1-3 (90%) und nicht-fibrilläre Kollagene einteilen. Insgesamt werden derzeit 19 Kollagentypen unterschieden (Hambrock 2001). Die extrazelluläre Matrix wird ständig umgebaut, auch ohne Verletzungen. So liegt die Halbwertszeit der Kollagenfibrillen beispielsweise zwischen 30 und 200 Tagen. Für den enzymatischen Kollagenabbau sind Matrix-Metalloproteinasen (MMP) verantwortlich. Dabei handelt es sich um eine Großfamilie von Zinkproteasen mit unterschiedlicher Substratspezifität, die sich auch auf andere Matrixproteine wie z. B. Proteoglykane erstreckt (Curran und Murray 2000). Die MMP's sind für einzelne Kollagene spezifisch. Kollagenasen, die die Faserkollagene (Typ I, II und III) abbauen, werden durch MMP-1 und 8 gespalten, das Typ IV - Faserkollagen dagegen nicht. Es wird nur von MMP-2 und MMP-9 hydrolysiert. Stromelysine (MMP-3, 7 und 10) bauen Proteoglykane, Laminin und Fibronectin ab. Die MMP's werden von Fibroblasten, Endothelzellen und anderen Zellen (z. B. auch Tumorzellen) gebildet. Sie werden in Form inaktiver Proenzyme in den Extrazellularraum sezerniert und dort durch andere Proteinase wie Plasmin proteolytisch aktiviert. Gleichzeitig werden sie durch spezifische Inhibitoren, die auch

als TIMP`s (Tissue inhibitors of metalloproteinases) bezeichnet werden, gehemmt (Nagase et al. 1996). Normalerweise existiert ein fein reguliertes Gleichgewicht zwischen den MMP`s und den TIMP`s.

Der Umsatz einzelner Kollagene ist aber bei verschiedenen Erkrankungen gestört. Störungen dieses Gleichgewichtes führen zu einem vermehrten Kollagenabbau. Dieser Störung muss eine Fehlregulation von Biosynthese und Abbau der Kollagene zugrunde liegen, an der Zytokine beteiligt sind. Zytokine können über die Regulation der Expression der Gene für Kollagene, MMP`s und TIMP`s wirken. Yoshihara et al. wiesen sowohl im Serum als auch in der Synovialflüssigkeit bei Patienten mit rheumatoider Arthritis signifikant mehr MMP-1 und MMP-3 nach als bei Osteoarthritis-Patienten (Yoshihara et al. 2000). Bisher sind einzelne Zytokine wie Platelet derived growth factor (PDGF) oder Transforming growth factor β (TGF- β) als wichtig identifiziert worden.

3 Material und Methode

3.1 Patientengut, chirurgisches Vorgehen und Gruppeneinteilung

An 28 Patienten mit Kiefergelenkerkrankung, die zur Indikation für eine Arthroskopie geführt hatte, wurde zu Beginn der arthroskopischen Operation (Abb. 2) Lavageflüssigkeit zur Untersuchung entnommen.



Abb. 2: Arthroskopisches Vorgehen am Kiefergelenk

Die Patienten wurden aufgrund anhaltender therapieresistenter Beschwerden an die Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie der Universität Greifswald mit der Frage nach arthroskopischer Diagnostik und Therapie überwiesen. Die routinemäßige Erhebung der anamnestischen und klinischen Befunde sowie die Indikationsstellung



Abb.3: Arthrokopischer Blick auf den dorsalen Bandapparat des humanen Kiefergelenkes

zur Arthroskopie erfolgten präoperativ in der Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie der Universität Greifswald. Es zeigte sich, dass fast alle Patienten an einer Form der CMD erkrankt waren. Die präoperativen Untersuchungsbefunde der Patienten sind in Tabelle A1 des Anhanges zusammengefasst. Die Geschlechtsverteilung zeigt ein eindeutiges Übergewicht weiblicher Patienten. Es standen 23 weiblichen Patienten nur fünf männliche Patienten gegenüber. Bezüglich der Altersverteilung, die der Abb. 3 zu entnehmen ist, stellten die über 50-jährigen die stärkste Gruppe mit 12 Patienten. Das Patientenkollektiv bis zum 20. Lebensjahr umfasste fünf, das bis zum 30. Lebensjahr vier Patienten. Zur Gruppe bis zum 40. Lebensjahr gehörten drei Patienten und zur Gruppe bis zum 50. Lebensjahr zählten vier Patienten.

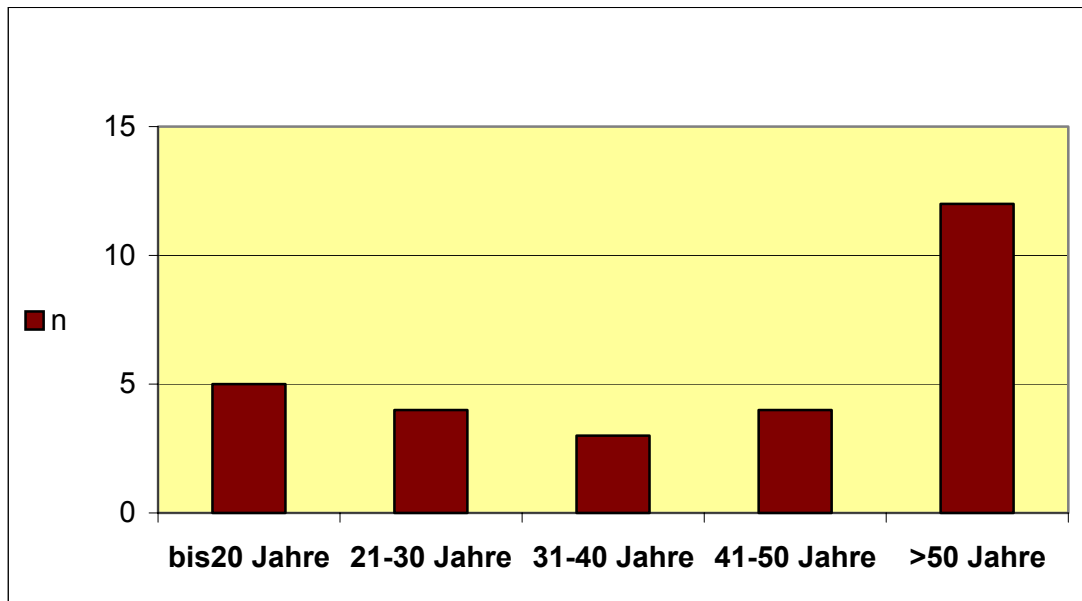


Abb. 4: Altersverteilung im Patientenkollektiv

Es erfolgte eine Unterteilung der Patienten in Gruppen mit unterschiedlicher Klinik nach dem intraoperativen arthroskopischen Befund (OP-Bericht), wobei jedes Gelenk einzeln eingestuft wurde. Unterschiedlich stark geschädigte Gelenke einer Patientin bzw. eines Patienten konnten in verschiedene Gruppen eingeordnet werden. Nach den vorliegenden Befunden wurden dabei folgende fünf Erkrankungsgruppen klassifiziert:

- Gruppe 1: nur minimale Veränderungen nachweisbar / anatomische Normvarianten
- Gruppe 2: mittelgradige Veränderungen bzw. Bandelongationen
- Gruppe 3: stark ausgeprägte Bandelongationen mit nicht fixierter chronischer Diskusdislokation
- Gruppe 4: chronisch fixierte Diskusdislokation (>3 Monate fixiert) mit ausgeprägter Bandelongation
- Gruppe 5: ausgeprägte degenerative Veränderungen, Arthrosen mit und ohne Diskusfixation (traumatisch, radiogen, iatrogen)

Hieraus ergab sich folgende Aufteilung der einzelnen Gelenke, deren Häufigkeit in Abbildung 4 grafisch dargestellt ist: Acht Gelenke wurden der Gruppe 1 zugeordnet, fünfzehn Gelenke fielen in die Gruppe zwei, achtzehn Gelenke gehörten zur Gruppe 3,

zwölf Gelenke wurden der Gruppe 4 zugeordnet und zwei Gelenke erfüllten die Kriterien der Gruppe 5.

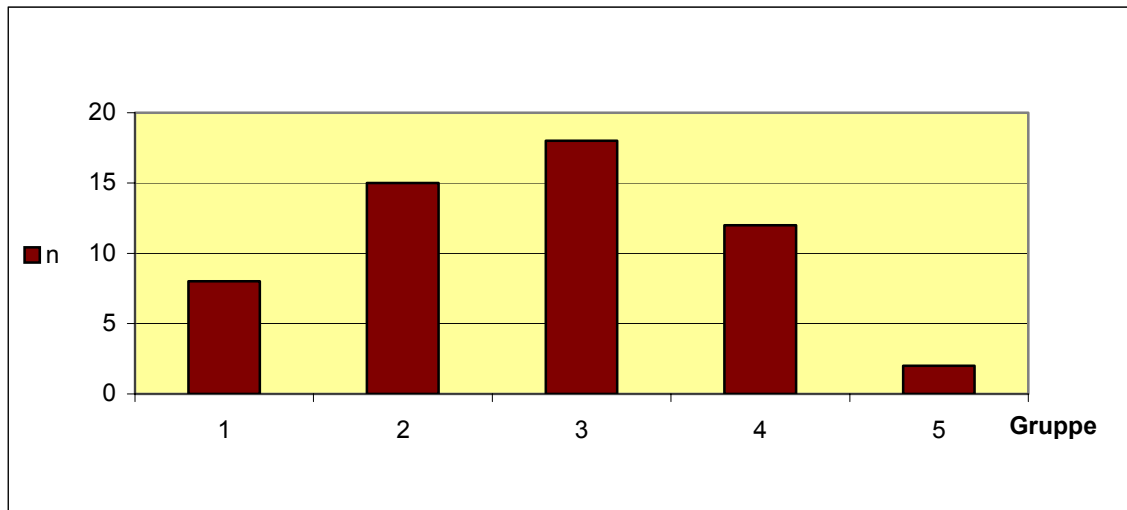


Abb. 5: Häufigkeitsverteilung der Gelenke in den Gruppen 1 bis 5

Nach der Einteilung in diese fünf Gruppen traten bei Gegenüberstellung der rechten und linken Gelenke für 27 Patienten acht verschiedene Gruppenkombinationen mit der in Tabelle 1 dargestellten Häufigkeit auf.

Tab. 1: Häufigkeit der Gruppenkombinationen

Kombinierte Gruppen	n
1 und 2	3
1 und 3	4
1 und 4	1
2 und 3	3
2 und 4	9
3 und 3	3
3 und 4	2
3 und 5	2

Bei einer Patientin wurde nur ein Gelenk arthroskopiert, bei ihr war somit keine Gruppenkombination möglich. Gemäß Tabelle 1 wiesen nur in drei Fällen beide Gelenke gleich starke Schädigungen entsprechend der Gruppe 3 auf. Gelenke mit nur minimalen Veränderungen (Gruppe 1) waren sowohl mit Gelenken mit

Veränderungen mittleren Grades (Gruppe 2) als auch mit Gelenken mit schweren (Gruppe 3) und chronischen (Gruppe 4) Veränderungen kombiniert. In vier Fällen wiesen beide Gelenke schwere Veränderungen mit unterschiedlicher Gruppenzuordnung auf.

Die nach dem arthroskopischen Befund vorgenommene Einteilung in die Gruppen 1 bis 5 erfolgte nach dem OP-Bericht. Diese Einteilung wird mit Variante 1 (V1) bezeichnet. Für weitere statistische Betrachtungen wurde eine zweite Gruppeneinteilung (Variante 2/ V2) vorgenommen, bei der die Gruppen 1 und 2 zu einer neuen Gruppe 1 und die Gruppen 3 und 4 (nach Variante 1) zu einer neuen Gruppe 2 zusammengefasst wurden. Die Gruppe 5 blieb unverändert. Die so entstandenen Varianten der Einteilung in Gelenkgruppen sind in Tabelle 2 zusammenfassend gegenüber gestellt.

Nach Bestimmung von ausgewählten Lavageflüssigkeitsparametern wie unten beschrieben wurde nach Korrelationen zwischen den klinischen Einteilungen und den Lavageflüssigkeitsbefunden gesucht.

Ziel dieser Suche war es, herauszufinden, ob Patienten mit ausgeprägten arthroskopischen Diskus-Bandapparatveränderungen auch biochemische Veränderungen in der Lavageflüssigkeit hatten und ob der arthroskopische Veränderungsgrad mit dem biochemischen übereinstimmte.

Tab. 2: Übersicht über die nach unterschiedlichen klinischen Gesichtspunkten gebildeten Kiefergelenkgruppen

Schema	V1	V2
Gruppen	1	1
	2	
	3	2
	4	
	5	
		3 (entspricht Gr. 5 bei V1)

3.2. Gewinnung und Verarbeitung der Lavageproben

Die Gelenkspülflüssigkeit wurde unmittelbar vor Beginn der arthroskopischen Untersuchung nach Einbringen von Arthroskop und Arbeitskanal in den Gelenkspalt gewonnen. Dazu erfolgte nach korrekter Positionierung der Instrumente die Applikation von 1,8 ml physiologischer Kochsalzlösung über den Zulauf des

Arthroskops in das Kiefergelenk und anschließend die Probenentnahme direkt im Gelenkspalt durch Eingehen mit einer Kanüle durch den Arthroskopiearbeitskanal. Zur gleichmäßigen Flüssigkeitsverteilung im Gelenk vor Probenentnahme erfolgte zuvor eine Bewegung des Gelenkes durch fünfmaliges Öffnen und Schließen des Mundes. Erst nach Gewinnung der Lavageflüssigkeitsprobe wurden alle weiteren Manipulationen wie zum Beispiel die arthroskopische Untersuchung und Befunderhebung sowie die Durchführung arthroskopischer Operationen (Kaduk et al. 1999, 2003, 2005) vorgenommen. Durch die Kiefergelenkpunktion konnten sich Blutbestandteile mit der Lavageflüssigkeit vermischen. Deshalb wurden anschließend die Proben 3 min lang zur Abtrennung von Blut aus der Lavageflüssigkeit mit 8000 min^{-1} bei Raumtemperatur zentrifugiert. Trotz der Zentrifugation waren die Proben durch Hämoglobin unterschiedlich stark verfärbt. Um Einflüsse des Hämoglobins auszuschließen, wurden sie nach dem visuellen Bild in 4 Gruppen je nach Farbintensität eingeordnet (Tab. A1). Dabei bedeutete die Einstufung 0 keine Verfärbung und die Einstufung 3 die stärkste Verfärbung. Die Überprüfung der Ergebnisse in Bezug auf diese Gruppeneinteilung ergab keine statistischen Häufungen, so dass davon ausgegangen werden kann, dass durch unterschiedliche Hämoglobinanteile in der Lavageflüssigkeit die Untersuchungsparameter nicht beeinflusst wurden. Bis zur weiteren Aufarbeitung wurden die so erhaltenen Kiefergelenklavageproben in Eppendorfröhrchen bei -20 °C tiefgefroren aufbewahrt. Vor Beginn der Laboruntersuchungen wurden die Lavageproben einmalig aufgetaut, in Aliquote von ca. $200 \text{ }\mu\text{l}$ eingeteilt und wieder tiefgefroren. So konnte für jeden Untersuchungsparameter zum entsprechenden Zeitpunkt der gerade benötigte Probenanteil aufgetaut und eingesetzt werden.

3.3 Bestimmungsmethoden für die untersuchten Kiefergelenklavageparameter

3.3.1 Peroxidase

Die Bestimmung der gesamten Peroxidaseaktivität erfolgte nach Mansson-Rahemtulla et al. (1986). Die Methode beruht auf der Reduktion des gefärbten Produktes Nitrobenzoesäure (NBS) zur farblosen Verbindung 5,5'-Dithiobis-(2-

Nitrobenzoesäure) (DTNB). Zur Herstellung des zunächst notwendigen NBS-Nachweispuffers wurden 2 ml DTNB-Stammlösung und 0,45 ml Stammlösung Mercaptoethanol (MSH) in einem Kolben zusammengegeben und vermischt. Nach fünfminütiger Wartezeit wurde der Inhalt des Kolbens mit 0,1n Phosphatpuffer (pH 5,6) auf 50 ml aufgefüllt. Die Stammlösung DTNB entsteht durch Lösen von 29,1 mg 5,5-Dithiobis-(2-Nitrobenzoesäure) in 7,5 ml 0,1 mol/l K_2HPO_4 (pH 8,8) und Auffüllen mit aqua bidest. auf ein Volumen von 50 ml. Für die Stammlösung MSH wurden 78,13 mg Merkaptoethanol in aqua bidest. gelöst und auf 100 ml aufgefüllt. Die KSCN-Stammlösung entstand aus 2,915 g KSCN, die in 10 ml aqua bidest gelöst wurden. Für die Arbeitslösung H_2O_2 (10 mmol/l) wurden 50 μ l H_2O_2 (30%ig) auf 100 ml mit aqua bidest verdünnt. In standardisierten Einzelküvetten wurden jeweils 50 ml KSCN-Stammlösung, 1500 ml NBS-Nachweispuffer und 50 ml Probelösung miteinander vermischt. Zum Zeitpunkt „0“ wurde die Extinktion erstmalig bei einer Wellenlänge von 412 nm gemessen. Anschließend erfolgte die Zugabe von 75 μ l H_2O_2 -Arbeitslösung und der Beginn der Zeitmessung. Nach 20 Sekunden sowie nach 80 Sekunden wurde die Extinktion abermals abgelesen. Diese Bestimmungen erfolgten an einem Spektrophotometer Specol 221 der Firma Carl Zeiss Jena. Je nach vorhandenem Probematerial konnte jede Probe zweimal oder dreimal getestet werden. Die Differenz der Extinktionswerte bei 20 und 80 Sekunden diente der Auswertung nach der Formel

$$\text{Aktivität [U/l]} = \Delta E_{\min} \times 2617,6$$

Alle Peroxidaseaktivitäten wurden in U/l angegeben.

3.3.2 Proteine

Die Eiweißbestimmung erfolgte nach Lowry et al. (1951) in der Modifikation nach Keil und Šormova (1965). Hierzu wurden die Lösungen A, B, C und E benötigt, sowie eine Eiweißstandardlösung. Zur Herstellung der Lösung A wurden 2 g Na_2CO_3 in 100 ml 0,1n NaOH und für Lösung B wurden 0,5 g $CuSO_4$ in 100 ml 1%iger Natriumtartratlösung aufgelöst. Lösung C entstand durch Zusammengeben von 50 ml Lösung A und 1 ml Lösung B. Sie musste stets frisch für jeden Versuch angesetzt werden. Bei Lösung E handelt es sich um das Phenolreagenz nach Folin-Ciocalteu, das

so verdünnt wurde, dass die Lösung einer 1n Säure entspricht. Für die Eichlösungen wurde Rinderserumalbumin (Roche, Mannheim) verwendet. Aus der Standardlösung mit einer Konzentration von 1 mg/ml wurden je drei Eichlösungen mit den Konzentrationen 10 µg/ml und 100 µg/ml hergestellt. Für die Testansätze wurden 500 µl 0,9 %iger NaCl-Lösung und zunächst 40 µl Probenlösung vermischt. Hiervon teilten wir je 200 µl auf zwei Reagenzgläser auf, der Rest wurde verworfen. Nach Zugabe von je 1 ml der Lösung C blieben die Proben nach gründlichem Durchmischen zehn Minuten stehen. Danach wurden 10 µl der Lösung E hinzugegeben. Nach gründlichem Durchmischen blieben die Proben weitere 30 Minuten stehen, anschließend wurde am Photometer die Extinktion gegen Wasser bei einer Wellenlänge von 750 nm abgelesen. Die Ermittlung der Eiweißkonzentrationen erfolgte dann durch rechnerische Auswertung mit einer Eichgeraden. Jede Patientenprobe wurde dreimal getestet, sofern das Probenmaterial ausreichte. Wenn die ermittelten Extinktionen außerhalb des Bereiches der Eichgeraden lagen, wurden die Probelösungen mit stärkerer Verdünnung (30 µl bzw. 20 µl bzw. 10 µl bzw. 5 µl Lavageflüssigkeit auf 500 µl NaCl-Lösung) hergestellt und ihre Konzentration erneut bestimmt. Die unterschiedlichen Verdünnungen wurden rechnerisch durch Multiplikation mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor berücksichtigt. Alle Eiweißkonzentrationen wurden in mg/l angegeben.

3.3.3 N-Acetyl-β-D-Glucosaminidase

Zur Bestimmung der N-Acetyl-β-D-Glucosaminidase (NAG) stand ein Farbstestkit der Firma Boehringer, Mannheim Bio-Chemica zur Verfügung. Das Nachweisprinzip beruhte auf der Hydrolyse von 3-Kresolsulfonphtaleinyl-N-acetyl-β-D-Glucosaminid, Natriumsalz, durch das Enzym N-Acetyl-β-D-Glucosaminidase unter Freisetzung von 3-Kresolsulfonphtalein, Natriumsalz (=3-Kresolpurpur). Dessen Konzentration wurde bei 580 nm photometrisch bestimmt. Die Testkombination enthielt: Puffersubstanz aus Zitronensäure und Kalziumzitrat, gelöstes Substrat (bestehend aus 3-Kresolsulfonphtaleinyl-N-acetyl-β-D-Glucosaminid, Natriumsalz) sowie Borax und Natriumcarbonat als Stoppreagenz. Zunächst wurde die Puffersubstanz in 55 ml aqua bidest. gelöst, es entstand Lösung 1. Das Substrat wurde in 55 ml der Lösung 1 gelöst.

Zum Stoppreagenz wurden 110 ml aqua bidest. gegeben. Alle Proben testeten wir doppelt, wobei drei Reagenzienleerwerte mitgeführt wurden. Zunächst wurde für jede Probe und jeden Leerwert 1 ml Substratlösung in Reagenzgläser pipettiert und diese wurden fünf Minuten bei 37 °C inkubiert. Anschließend kamen 20 µl Probelösung hinzu. Nach sorgfältigem Durchmischen erfolgte eine 15-minütige Inkubation bei 37 °C. Danach wurden 2 ml Stoppreagenz in jedes Reagenzglas gegeben. Die Testlösungen blieben zehn Minuten bei Zimmertemperatur stehen, dann wurde innerhalb von 50 Minuten die Extinktion bei 580 nm gemessen. Die Volumenaktivität wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Volumenaktivität} = \frac{1000 \times 3,05}{40,67 \times 1 \times 0,02 \times 60} \times E_{\text{Probe}} = 100 \times E_{\text{Probe}} [\text{U/l}]$$

3.3.4 Interleukin-1β (IL-1β)

Für den Nachweis von Interleukin-1β wurde ein hochsensitiver ELISA-Test der Firma Roche Diagnostics GmbH (Mannheim, BRD) verwendet. Das photometrische Enzymimmunoassay in streptavidinbedeckten Mikrotiterplatten basiert auf dem Prinzip des quantitativen Sandwich-Enzym-Immuno-Assays. Dabei richten sich monoklonale Antikörper der Maus gegen zwei verschiedene Epitope von Interleukin-1β, welche essentiell für die Rezeptorbindung sind. Während des ersten Inkubationsschrittes wird das Interleukin-1β der Standards und der Proben (je 20 µl) simultan durch mit Biotin markierte monoklonale Antikörper und an Peroxidase konjugierte monoklonale Antikörper der Maus gebunden. Bei der anschließenden zweistündigen Inkubation bei Raumtemperatur wird der sich bildende Komplex über Biotinantikörper an die streptavidinbeschichtete Oberfläche der Mikrotiterplatte gebunden. Nach dem Waschvorgang erfolgte der nächste Inkubationsschritt bei Dunkelheit. Hierbei wurde ein enzymgebundener Antikörper, der für IL-1β spezifisch ist, in die Grübchen der Mikrotiterplatte pipettiert. Es schloss sich wiederum ein Waschvorgang an, dann wurde eine Substratlösung in die Grübchen gegeben. Nach Ablauf der nächsten Inkubationsperiode wurde Verstärkerlösung hinzugegeben, wonach sich die Farbe proportional zur Menge des im ersten Schritt gebundenen IL-1β

entwickelte. Die Farbentwicklung wurde mit Hilfe einer Stopplösung beendet und die Bestimmung der Extinktion erfolgte bei 450 nm mit dem Mikrotiterplattenphotometer anthos 2010. Standards mit definierten Konzentrationen liefen in jedem Assay mit und ermöglichten die Erstellung einer Eichkurve, aus der die Konzentrationen der Proben rechnerisch ermittelt wurden. Die Konzentrationen wurden in pg/ml angegeben.

3.3.5 Interleukin-6 (IL-6) und Nitrotyrosin

Die Komponenten Interleukin-6 sowie Nitrotyrosin wurden mit Hilfe von zwei Human ELISA-Testkits der Firma HyCult biotechnology b.v. (Uden / Niederlande), vertrieben durch Sanbio Deutschland GmbH (Beutelsbach), nachgewiesen. Diese Tests basierten auf dem Sandwichprinzip. In allen Fällen wurden Standards bzw. Leerwerte mitgeführt. Im ersten Schritt überführten wir Proben und Standards in eine Mikrotiterplatte, deren Grübchen mit dem entsprechenden Antikörper überzogen waren. Während der Inkubation wurde humanes IL-6 bzw. Nitrotyrosin durch Antikörper gebunden. Durch Zugabe von biotinmarkierten Antikörpern konnte in den Proben enthaltenes IL-6 bzw. Nitrotyrosin gebunden werden. Der entstandene Komplex reagierte mit dem hinzugegebenen Streptavidin-Peroxidasekonjugat, anschließend wurde Tetramethylbenzidin als Peroxidase-Substrat zugegeben. Die Farbe entwickelte sich proportional zur Menge des in den Proben enthaltenen IL-6 bzw. Nitrotyrosin. Die Enzymreaktion stoppten wir durch Zugabe von Zitronensäure, die Extinktion wurde bei 450 nm mit einem Mikrotiterplattenphotometer anthos 2010 gemessen. Die Eichkurve ergab sich durch Aufzeichnen der Absorption der definierten Standards. Die Konzentration von IL-6 wurde in pg/ml und die Konzentration von Nitrotyrosin wurde in mmol/l angegeben.

3.3.6 Kollagenasen

Die Kollagenasen wurden spektrophotometrisch nach Zardeneta et al. (1998) mit Hilfe von Lederpulver-Azurblau (Hide Powder Azur, HPA) von SIGMA bestimmt. Zunächst war es erforderlich, für jede Probe ca. 10 mg HPA in ein Reaktionsgefäß nach Eppendorf zu füllen. Dazu kamen je 100 µl Arbeitspuffer und 100 µl

Probenlösung. Zur Herstellung des Arbeitspuffers lösten wir 55,5 mg CaCl_2 in TRIS-Puffer (50 mmol/l, pH 7,4) und füllten mit Pufferlösung auf 100 ml auf. TRIS-Puffer-Stammlösung entsteht durch Lösen von 24,23 g TRIS-Base ($M = 121,14 \text{ g/mol}$) in einem Liter aqua bidest. Die Pufferlösung mit pH 7,4 erhält man durch Versetzen von 25 ml TRIS-Stammlösung mit 41,4 ml einer 1n HCl-Lösung und Auffüllen mit aqua bidest. auf 100 ml. Die Reaktionsgefäße wurden fest verschlossen und ihr Inhalt gründlich im Mono-Mixer von Sarstedt (Numbrecht, BRD) durchmischt. Es schloss sich eine Inkubation von fünf Tagen bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ an. Nach deren Ablauf wurden die Röhrchen in einer Biofuge 12 bei 12800 min^{-1} entsprechend ca. 14000 g zentrifugiert. Dann wurden aus jedem Röhrchen $100 \text{ }\mu\text{l}$ Reaktionslösung in eine Mikrotiterplatte überführt und die Extinktion mit einem Mikrotiterplattenphotometer anthos 2010 der Firma Anthos (Krefeld) bei einer Wellenlänge von 570 nm bestimmt. Die freigesetzte Farbstoffmenge ist proportional zur Aktivität der Kollagenase. In Anlehnung an Zardeneta et al. (1998) wurde auf eine Umrechnung in Enzymaktivitäten mit Hilfe einer Eichlösung aus Kollagenase verzichtet und die Extinktion direkt ausgewertet. Die Zahlenangaben entsprechen somit einer relativen Enzymaktivität, ausgedrückt durch die Extinktion $E(570)$ der Reaktionslösung im standardisierten Messansatz.

3.4 Statistik

Die Auswertungen der Eichkurven erfolgten mit der Geradengleichung $y = a + b \cdot x$, sofern ein linearer Verlauf im Untersuchungsintervall vorlag. Wenn die Eichkurven einen S-Verlauf zeigten, wurden sie mit der Gleichung $y = (a / (1 + \exp(b \cdot (x - c)))) + d$ ausgewertet.

Die Daten wurden zunächst mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Testes auf Normalverteilung geprüft. Wenn zwei Gruppen verglichen werden sollten, wurde der t-Test angewendet, sofern Normalverteilung vorlag. Bei starken Abweichungen von der Normalverteilung wurde der U-Test nach Mann-Whitney zugrunde gelegt. Analog hierzu kam bei drei und mehr Gruppen die Varianzanalyse mit nachgeschaltetem Duncan-Test anhand der Messwerte bzw. der Kruskal-Wallis-Test anhand der Rangfolge zur Anwendung, um signifikante Unterschiede aufzuzeigen. Als Signifikanzniveau wurde durchgehend $p \leq 0,050$ gewählt. Solche Ergebnisse wurden

durch Fettdruck hervorgehoben. Ein Wert von $0,100 \geq p > 0,050$ wurde als Tendenz gewertet. Solche Ergebnisse wurden durch kursive Schrift markiert.

Um das Zusammenwirken zweier oder mehrerer Komponenten bei der Abgrenzung zu testen, wurde die Diskriminanzanalyse genutzt. Vorgegeben wurden die Variablen Eiweiß, Peroxidase, NAG, Interleukin-1 β , Interleukin-6 und Kollagenase. Die Auswahl derjenigen Variablen, die zu einer signifikanten Trennung der Gruppen beitragen, erfolgte schrittweise durch Hinzufügen und später gegebenenfalls auch Herausnehmen einer Variablen. Als Kriterium wurde der Mahalanobis-Abstand gewählt, als Schranken wurden für das Hereinnehmen ein Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ und für das Wiederherausnehmen ein Signifikanzniveau von $p \leq 0,10$ vorgegeben. Um das Zusammenwirken mehrerer für sich allein schwächer diskriminierenden Variablen besser abschätzen zu können, wurden diese Schranken in einem zweiten Schritt auf $p \leq 0,10$ bzw. $p \leq 0,20$ erhöht.

Das in dieser Arbeit angewendeten Verfahren zur Gewinnung der Lavageproben gestattet keine völlig gleichartige Verdünnung der Synovialflüssigkeit mit der in das Gelenk eingeführten Spülflüssigkeit. Da der Absolutwert aber von der Menge der verwendeten Spülflüssigkeit abhängig ist, liefert er nicht immer eine richtige Aussage. Zu einem gleichen Ergebnis kamen u. a. auch Kaneyama et al. (2002) sowie Nishimura et al. (2002). Deshalb wurden alle biochemischen Parameter auf den Gesamteiweißgehalt normiert. Dazu wurden dann die spezifischen Konzentrationen, d.h. die Konzentrationen bzw. Aktivitäten pro mg Gesamteiweiß berechnet. Alle beschriebenen Tests wurden auch auf die spezifischen Konzentrationen angewandt. Zum Auftrennen der Gelenke in Gruppen mit vergleichbarer biochemischer Reaktivität ohne klinische Vorgaben wurde die Clusteranalyse eingesetzt. Darunter versteht man ein Verfahren zur Einteilung einer Anzahl von Objekten in homogene Gruppen anhand einer Anzahl vorgegebener Variablen. Diese Gruppen nennt man Cluster. Die durch die Variablen beschriebenen Objekte sollen innerhalb eines Clusters möglichst ähnlich bezüglich der Variablen sein. Objekte aus verschiedenen Clustern unterscheiden sich anhand der Variablen. Als Abstandsmaß wurde für unsere Berechnungen „average linkage“ gewählt, d.h. es wurde der Abstand der Gruppen als Mittelwert der Abstände zwischen allen Objekten definiert. Die Folge der Abstände zwischen den Gruppen, die schrittweise zusammengeführt werden, ist monoton

steigend, d.h. die Heterogenität der Gruppen wächst im Laufe des Verfahrens. In unserer Analyse wurde zum einen eine Trennung in grundsätzlich nur zwei Cluster mit vergleichbaren biochemischen Daten vorgenommen. Zum anderen wurde eine hierarchische Clusteranalyse eingesetzt, bei der kleinere Gruppen von Gelenken mit gleicher biochemischer Reaktivität schrittweise zu größeren Clustern mit vergleichsweise ähnlicher Reaktivität vereinigt wurden. Je nach Vorgabe können hieraus Modelle mit unterschiedlich vielen Clustern abgeleitet werden. In der vorliegenden Arbeit wurde eine Einschränkung auf vier Cluster vorgenommen. Die Nummerierung der Cluster erfolgte willkürlich durch die Software.

Nach erfolgter Clusterbildung wurde mit Hilfe einer Kreuztabellierung untersucht, in welchem Umfang die Einteilung in zwei bzw. vier Cluster mit der nach klinischen Kriterien erfolgten Gruppeneinteilung übereinstimmt. Dann wurden die biochemischen Variablen für die Cluster mit Hilfe von t-Test und U-Test (bei zwei Clustern) bzw. durch Varianzanalyse mit nachgeschaltetem Duncan-Test und durch Kruskal-Wallis-Test (bei vier Clustern) auf signifikante Unterschiede zwischen den Clustern getestet. Abschließend wurde eine Diskriminanzanalyse auf der Basis der Einteilung nach Clustern durchgeführt. Hiermit wurde ermittelt, wie stark sich die Cluster insgesamt unterscheiden und welche der untersuchten biochemischen Variablen für den jeweiligen Cluster bestimmend waren bzw. signifikante Beiträge zur Abgrenzung lieferten.

Alle Auswertungen erfolgten mit der Software SPSS, Version 10.07 für Windows.

4 Ergebnisse

4.1 Darstellung der Gesamtwerte der Kiefergelenklavageflüssigkeitsparameter des Patientenkollektivs ohne Gruppeneinteilung

Eine Aufstellung der einzelnen Messwerte ist in Tabelle 1 des Anhangs zu finden. Eine Zusammenfassung der Mittelwerte ist der Tabelle 3 zu entnehmen. Die mittlere Eiweißkonzentration in der Lavageflüssigkeit lag bei 247,63 mg/ml, sie zeigte jedoch eine sehr hohe Streuung von 18,66 mg/ml bis 1101,46 mg/ml, so dass die Standardabweichung mit 336,95 mg/ml höher ausfiel als der Mittelwert. Die mittlere Aktivität der Peroxidase lag bei 277,94 U/l, die Streuung war mit Werten zwischen 86,56 U/l und 765,21 U/l ebenfalls sehr hoch. Die Standardabweichung lag mit 147,60 U/l jedoch unter dem Mittelwert. Die Analyse der N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase (NAG) lieferte einen Mittelwert von 11,39 U/l, wobei eine relativ geringe Streuung zwischen 2,82 U/l und 31,01 U/l auftrat. Die mittlere Konzentration von Interleukin-6 lag bei 25,49 pg/ml. Die große Streuung von 0,09 pg/ml bis 219,05 pg/ml führte zu einer über dem Mittelwert liegenden Standardabweichung von 32,93 pg/ml. Bei dem Parameter Interleukin-1 β bewirkte die Streuung zwischen 0,00 pg/ml und 6,24 pg/ml eine Standardabweichung von 1,26 pg/ml. Bei insgesamt 4 Proben konnte kein Interleukin-1 β nachgewiesen werden. Der Mittelwert betrug für IL-1 β 1,026 pg/ml. Die mittlere relative Aktivität der Kollagenase lag bei $E(579)=0,94$. Ihre Standardabweichung war mit $E(570)=0,24$ aufgrund der geringen Streuung zwischen $E(570)=0,46$ und $E(570)=1,47$ sehr klein. Da bei den Untersuchungen der Lavageflüssigkeit auf den Parameter Nitrotyrosin etliche Proben keine Messwerte lieferten, jedoch alle Gelenke in die statistische Auswertung einbezogen wurden, trat hier eine besonders große Streuung auf. Bei einem Mittelwert von 64,54 pg/l wurden Werte zwischen 0,00 pg/l und 1750,00 pg/l registriert. Deshalb lag auch die Standardabweichung mit 323,81 pg/l weit über dem Mittelwert. Insgesamt konnten nur bei sechs Proben Nitrotyrosin in der Lavageflüssigkeit nachgewiesen werden. Auf eine weitere statistische Bearbeitung dieser Werte wird daher verzichtet. Die Tatsache, dass bei vier Parametern der Lavageflüssigkeit die Standardabweichung höher war als der Mittelwert, weist darauf hin, dass eine Gauß'sche Normalverteilung nicht vorlag. Deshalb wurde für alle sieben Variablen der Kolmogorov-Smirnov-Test durchgeführt.

Dieser wies signifikante Abweichungen von der Normalverteilung für Eiweiß, Nitrotyrosin und Interleukin-6 aus. Bei Peroxidase und NAG bestand eine Tendenz für eine Abweichung von der Normalverteilung. In der Tabelle 3 sind die Ergebnisse des Kolmogorov-Smirnov-Tests enthalten.

Tab.3: Deskriptive Statistik der Lavageflüssigkeitsuntersuchungsparameter ohne Aufteilung der Patienten in Gruppen

Variable	N	Min	Max	MW	s	K-S-Test*	
						Z	p
EW [mg/l]	55	18,66	1101,46	247,63	336,95	2,673	<0,001
PER [U/l]	55	86,56	765,21	277,94	147,60	1,263	0,083
NAG [U/l]	55	2,82	31,01	11,39	6,57	1,324	0,060
NTYR [mmol/l]	55	0	1750	64,54	323,81	3,716	<0,001
IL-6 [pg/ml]	55	0,09	219,05	25,49	32,93	2,283	<0,001
IL-1β [pg/ml]	55	0	6,24	1,05	1,26	1,494	0,023
KOL [E(570)]	55	0,46	1,47	0,94	0,24	0,457	0,985

*K-S-Test = Kolmogorov-Smirnov-Test

4.2 Ergebnisse nach Patientengruppeneinteilung

4.2.1 Messwerte und spezifische Aktivitäten bei Patienteneinteilung nach arthroskopischem Befund am Diskus-Bandapparat (Variante 1) mit 5 Gruppen

Die Beschreibung der Variablen für alle fünf Gruppen ist Tabelle 4 zu entnehmen. Für Eiweiß zeigte die Gruppe 3 die höchsten Mittelwerte mit 360,71 mg/l, aber auch die höchste Standardabweichung. Die Gruppe 1 wies den kleinsten Mittelwert mit 66,50 mg/l und auch die kleinste Standardabweichung auf. Die beiden Gelenke der Gruppe 5 wiesen fast genauso niedrige Eiweißwerte wie die Gruppe 1 auf. Die Mittelwerte der Gruppen 2 und 4 lagen zwischen den Gruppen 1 und 3, waren dabei aber deutlich

höher als für die Gruppe 1 und wiesen wie Gruppe 3 eine Standardabweichung auf, die höher als der Mittelwert ist. Es bestanden somit Unterschiede für die gebildeten Gruppen, aber gleichzeitig sehr hohe Standardabweichungen, die auf Abweichungen von der Normalverteilung schließen lassen.

Für Peroxidase lag der höchste Mittelwert mit 335,20 U/l ebenfalls bei der Gruppe 3, der niedrigste Mittelwert war mit 206,16 U/l auch hier bei der Gruppe 1 zu finden. Die Standardabweichungen verhielten sich analog. Bei NAG wies die Gruppe 1 den höchsten Mittelwert mit 12,81 U/l und auch die größte Standardabweichung auf. Den niedrigsten Mittelwert lieferte die Gruppe 5 mit 6,40 U/l. Bei Interleukin-6 zeigte die Gruppe 4 die höchsten Werte für Mittelwert und Standardabweichung. Der Mittelwert betrug 35,78 pg/ml. In der Gruppe 1 lag der Mittelwert mit 15,31 pg/ml am niedrigsten. Für Interleukin-1 β zeigte die Gruppe 4 den höchsten Mittelwert mit 35,78 pg/ml und eine mit 58,14 pg/ml deutlich darüber liegende Standardabweichung. Den kleinsten Mittelwert lieferte die Gruppe 5 mit 24,55 pg/ml, ebenso die geringste Standardabweichung. Für Kollagenase hingegen zeigte die Gruppe 5 den höchsten Mittelwert mit $E(570)=1,20$ sowie die kleinste Standardabweichung, die Gruppe 2 hatte mit $E(570)=0,92$ den kleinsten Mittelwert. Die Einzelwerte sind für jeden Parameter getrennt nach den Gruppen 1 bis 5 in Abbildung 3 als Streudiagramme dargestellt.

Tab. 4: Deskriptive Statistik für fünf klinische Gruppen gemäß Einteilung Variante 1

Variable	Gr.	n	MW	s	Min	Max
EW	1	8	66,51	34,56	29,85	116,56
	2	2	204,60	287,39	33,58	956,02
	3	18	360,71	401,77	18,66	1000,63
	4	12	282,52	384,01	25,80	1101,46
	5	2	67,89	23,63	51,18	84,60
PER	1	8	201,16	76,04	113,43	357,04
	2	15	241,81	101,23	86,56	495,60
	3	18	335,20	178,92	114,39	765,21
	4	12	286,04	153,28	114,56	552,31
	5	2	292,04	250,86	114,65	469,42
NAG	1	8	12,81	8,73	2,93	26,31
	2	15	10,11	3,81	5,45	16,83
	3	18	11,63	7,54	2,82	31,01
	4	12	12,52	6,73	3,89	25,58
	5	2	6,40	4,45	3,25	9,55
IL-6	1	8	15,31	8,96	0,09	32,69
	2	15	19,77	9,44	11,00	46,07
	3	18	28,02	31,49	12,21	147,11
	4	12	35,78	58,14	70,55	219,05
	5	2	24,55	1,27	23,66	25,45
IL-1β	1	8	0,60	0,82	0	2,06
	2	15	0,69	0,60	0,01	2,19
	3	18	1,48	1,46	0	6,24
	4	12	1,32	1,66	0	5,48
	5	2	0,15	0,22	0	0,31
KOL	1	8	0,98	0,29	0,68	1,47
	2	15	0,92	0,27	0,46	1,31
	3	18	0,93	0,23	0,52	1,44
	4	12	0,92	0,22	0,55	1,34
	5	2	1,20	0,02	1,19	1,21

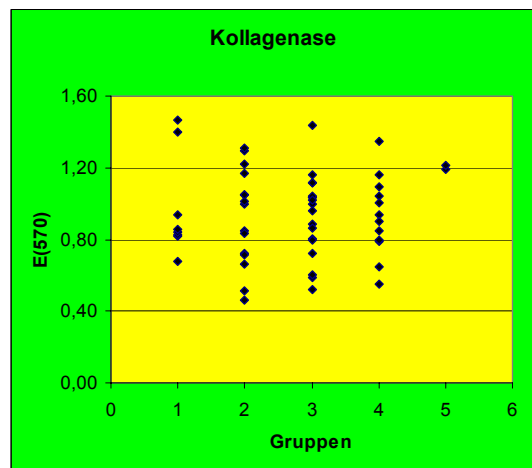
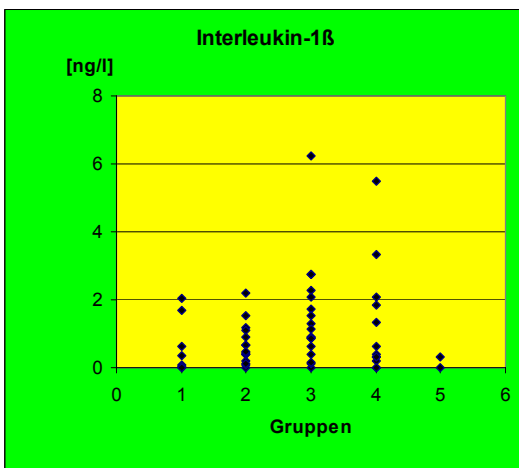
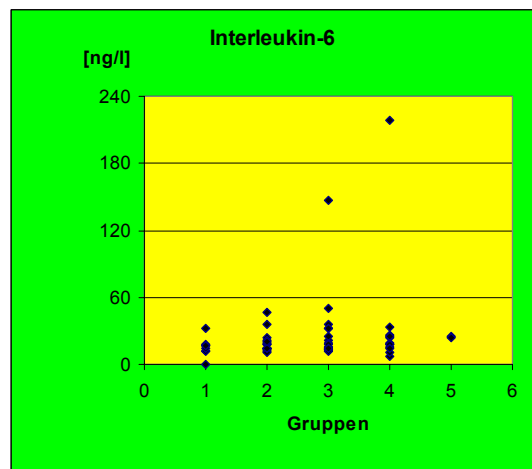
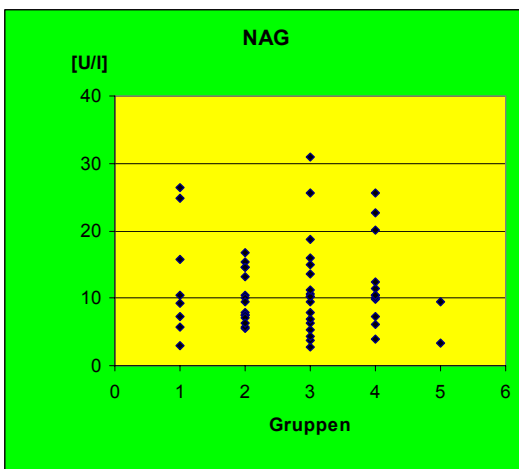
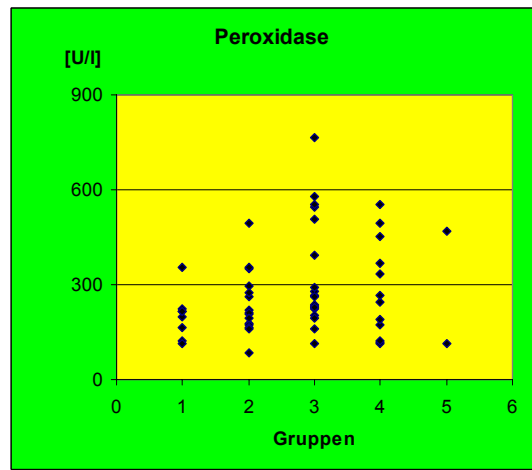
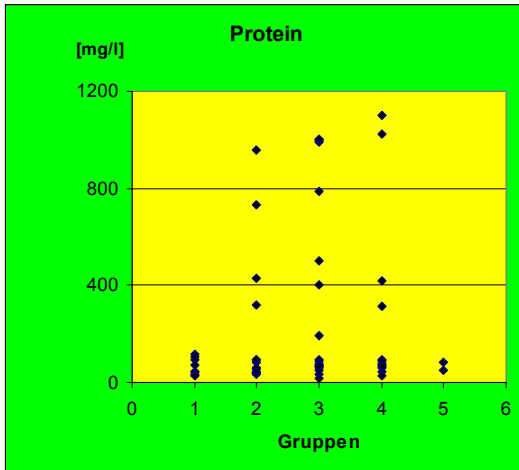


Abb. 6: Streuung der Einzelmesswerte, getrennt nach Gruppen, für Protein, Peroxidase, NAG, Interleukin-6, Interleukin-1 β und Kollagenase

Die Ergebnisse der statistischen Tests sind in Tabelle 5 zusammengefasst. Die Varianzanalyse auf der Basis der fünf Gruppen lieferte für keinen der untersuchten Parameter eine signifikante Trennung, es waren somit statistisch keine Gruppenunterschiede nachweisbar. Der Duncan-Test als nachgeschalteter Einzeltest wies auf eine schwache Tendenz zur Abgrenzung der Gruppen 1 und 5 bei der Kollagenaseaktivität hin, die jedoch nicht durch andere Tests abgesichert werden konnte. Auch der Kruskal-Wallis-Test zeigte keinerlei signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen an. Lediglich bei Interleukin-1 β zeigte sich eine schwache Tendenz zu Gruppenunterschieden. Gemäß nachgeschaltetem U-Test wies hier die Gruppe 3 erhöhte Werte gegenüber den Gruppen 1 und 2 aus. Auch bei Peroxidase ergaben sich laut U-Test erhöhte Aktivitäten für Gruppe 3, obwohl der Kruskal-Wallis-Test insgesamt keine Unterschiede ausgewiesen hatte.

Tab. 5: Ergebnisse der statistischen Tests für die Originalwerte auf der Grundlage der Gruppeneinteilung **Variante 1**

Variable	Varianzanalyse		Duncan-Test		Kruskal-Wallis-Test		U-Test
	F	p	p	Vergleich	CQ	p	Vergleich
EW	1,355	0,263	0,179		4,157	0,385	
PER	1,512	0,213	0,160		5,516	0,238	3>1 / 3>2
NAG	0,601	0,664	0,144		2,238	0,692	
IL-6	0,606	0,660	0,353		3,799	0,434	
IL-1β	1,522	0,210	0,104		7,960	0,093	3>1 / 3>2
KOL	0,642	0,635	0,086	2,3,4<1,5	3,116	0,539	

Da es aus statistischer Sicht problematisch ist, wenn eine Gruppe nur zwei Merkmalsträger umfasst, wurden die Berechnungen nach Streichen der beiden Gelenke von Gruppe 5 wiederholt. Wie Tabelle 6 zeigt, wiesen auch jetzt weder die Varianzanalyse noch der Kruskal-Wallis-Test auf signifikante Gruppenunterschiede hin. Damit konnte die nun durch den Duncan-Test ausgewiesene starke Tendenz für höhere Eiweißkonzentrationen bei den Gelenkgruppen zwei, vier und drei gegenüber der Gelenkgruppe eins nicht abgesichert werden. Auch der Einzelvergleich mit dem U-Test konnte für Eiweiß bei keinem Gruppenpaar einen signifikanten Unterschied oder eine Tendenz dazu belegen. Ein gleiches

Bild von nicht nachweisbaren Unterschieden zwischen den Gruppen ergab sich für NAG, IL-6 und KOL. Davon abweichend wies der U-Test jedoch für Peroxidase und IL-1 β auf höhere Aktivitäten von Gruppe 3 gegenüber Gruppe 1 hin; im Vergleich der Gruppen 2 und 3 wurde für diese beiden Komponenten eine schwache Tendenz ausgewiesen. Ein Vergleich mit dem Kruskal-Wallis-Test und der Varianzanalyse zeigt, dass für Peroxidase und IL-1 β die niedrigsten Werte für p ausgewiesen wurden, auch wenn im Gesamtvergleich aller Gruppen bei ihnen nicht das Signifikanzniveau erreicht wurde.

Tab. 6: Ergebnisse der statistischen Tests für die Originalwerte auf der Grundlage der Gruppeneinteilung Variante 1, aber ohne zwei Gelenke der Gruppe 5

Variable	Varianzanalyse		Duncan-Test		Kruskal-Wallis-Test		U-Test
	F	p	p	Vergleich	CQ	p	Vergleich
EW	1,573	0,208	0,053	1<2,4<3	3,787	0,285	
PER	2,095	0,113	0,132		5,624	0,131	3>1/3>2
NAG	0,409	0,747	0,375		0,631	0,889	
IL-6	0,791	0,505	0,181		2,203	0,531	
IL-1 β	1,631	0,194	0,123		5,482	0,140	3>1/3>2
KOL	0,099	0,960	0,631		0,033	0,998	

Spezifische Aktivitäten bei Patienteneinteilung nach arthroskopischem Befund am Diskus-Bandapparat (Variante 1)

Die Beschreibung der spezifischen Aktivitäten ist Tabelle 7 zu entnehmen. Die Einzelwerte der spezifischen Aktivitäten, getrennt für die fünf Gruppen gemäß der Einteilung V1, sind in Abbildung 4 dargestellt. Die Mittelwerte und Standardabweichungen für die einzelnen Gruppen sind Tabelle 5 zu entnehmen. Die mittlere spezifische Aktivität der Peroxidase lag in der Gruppe 5 mit 5,26 U/mg EW am höchsten, die Standardabweichung lag mit 5,53 U/mg EW über dem Mittelwert. Die Ursache hierfür ist darin zu sehen, dass nur zwei Probanden zu dieser Gruppe gehören und die Untersuchungsergebnisse weit auseinanderliegen. Wenn man diese beiden Gelenke ausklammert, hat Gruppe 1 danach die höchsten spezifischen Aktivitäten mit 4,44 U/mg EW. Der niedrigste Mittelwert trat mit 3,11 U/mg EW in der Gruppe 2 auf. Die Standardabweichung war hier ebenfalls am geringsten. Bei den spezifischen Aktivitäten von NAG lieferte die Gruppe 1 die höchsten Werte für Mittelwert und Standardabweichung. Hier betrug der Mittelwert 0,25 U/mg EW, die Standardabweichung lag mit 0,22 U/mg EW darunter. Der niedrigste Mittelwert mit 0,09

U/mg EW und die kleinste Standardabweichung mit 0,08 U/mg EW wurde bei der spezifischen Aktivität für die Gruppe 3 errechnet.

Tab. 7: Deskriptive Statistik der spezifischen Aktivitäten für die klinischen Gruppen 1 bis 5 gemäß Einteilung Variante1

Variable	Gruppe	n	MW	s	Min.	Max.
SPEZPER [U/mg EW]	1	8	4,4434	3,6730	0,973	11,961
	2	15	3,1110	2,0064	0,365	5,849
	3	18	4,0218	4,8082	0,235	15,527
	4	12	3,7890	5,2175	0,239	19,247
	5	2	5,2638	5,5275	1,355	9,172
	gesamt	55	3,8291	4,0583	0,235	19,247
SPEZNAG [U/mg EW]	1	8	0,2535	0,2194	0,031	0,739
	2	15	0,1339	0,1008	0,018	0,340
	3	18	0,0920	0,0806	0,010	0,235
	4	12	0,1379	0,1245	0,009	0,406
	5	2	0,1126	0,1048	0,380	0,187
	gesamt	55	0,1380	0,1303	0,009	0,739
SPEZIL-6 [ng/mg EW]	1	8	0,3357	0,3371	0,001	1,095
	2	15	0,2703	0,2348	0,025	0,932
	3	18	0,2151	0,2355	0,012	0,973
	4	12	0,2369	0,1523	0,007	0,568
	5	2	0,3815	0,1141	0,301	0,462
	gesamt	55	0,2585	0,2316	0,001	1,095
SPEZIL-1β [ng/mg EW]	1	8	0,0130	0,01820	0	0,0504
	2	15	0,0069	0,00614	0,0002	0,0183
	3	18	0,0148	0,02080	0	0,0815
	4	12	0,0089	0,01470	0	0,0512
	5	2	0,0018	0,00258	0	0,0037
	gesamt	55	0,0106	0,01570	0	0,0815
SPEZKOL [E(570)/mg EW]	1	8	0,0171	0,00629	0,0081	0,0286
	2	15	0,0152	0,01290	0,0009	0,0363
	3	18	0,0122	0,01540	0,0005	0,0623
	4	12	0,0115	0,00990	0,0006	0,0346
	5	2	0,0189	0,00681	0,0141	0,0237
	gesamt	55	0,0138	0,01220	0,0005	0,0623

Bei Interleukin-6 trat der höchste Mittelwert mit 0,38 pg/mg EW bei jedoch kleiner Standardabweichung in der Gruppe 5 auf, dicht gefolgt von den Angaben für die Gruppe 1, allerdings mit der gleichzeitig höchsten Standardabweichung. Den kleinsten Mittelwert lieferte hier mit 0,22 pg/mg EW die Gruppe 3. Bei der spezifischen Aktivität von Interleukin-1β lagen die Mittelwerte der Gruppen 1 bis 4 relativ eng bei einander. Dabei hatte Gruppe 3 die höchsten Mittelwerte.

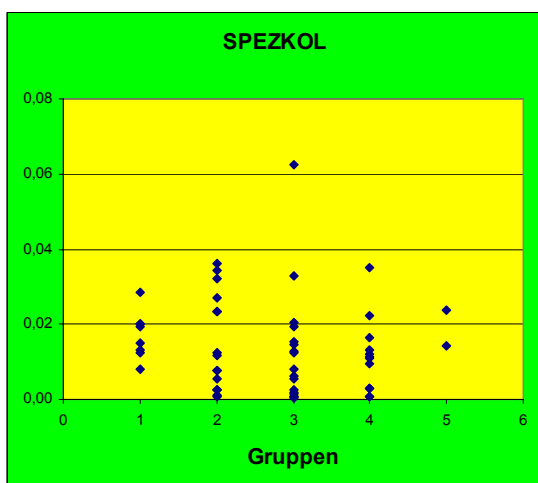
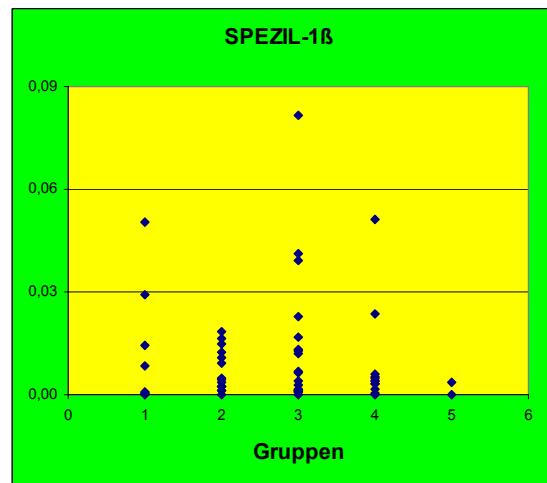
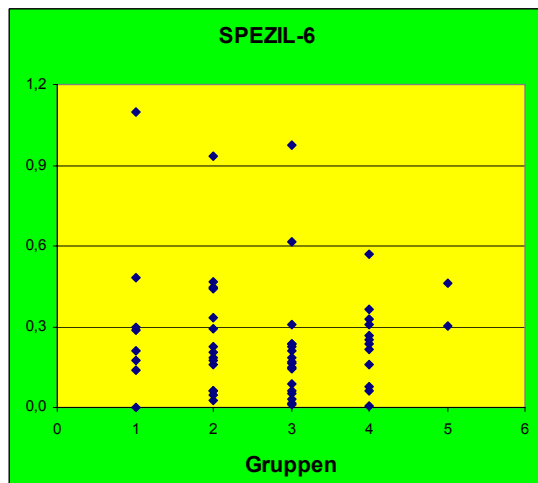
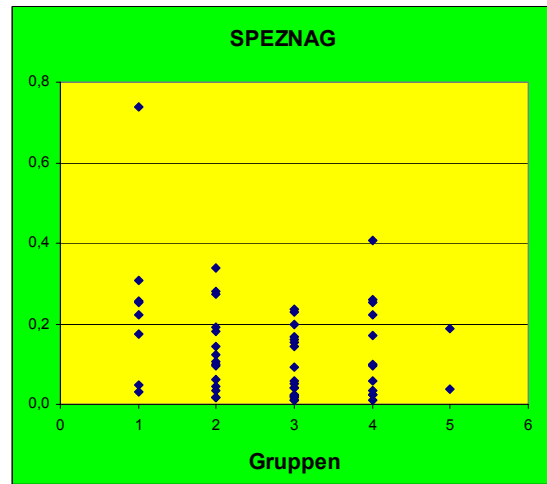
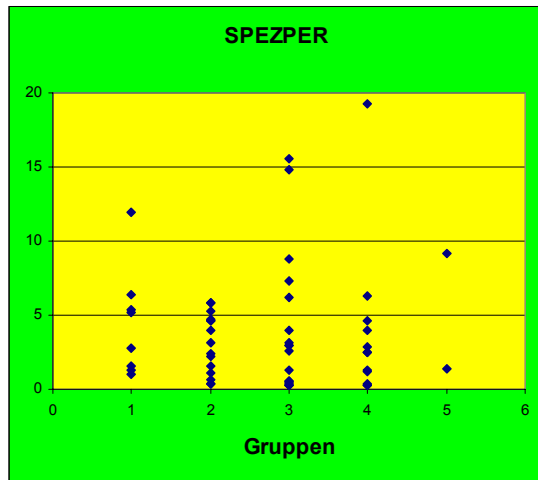


Abb. 7: Streuung der Einzelwerte der spezifischen Konzentrationen/Aktivitäten getrennt nach Gruppeneinteilung V1

Der Mittelwert für die beiden Gelenke der Gruppe 5 fiel dagegen mit 0,00183 pg/ mg EW ab. Bei der relativen spezifischen Aktivität von Kollagenase lagen die Mittelwerte der Gruppen 2 und 5 sowie die Mittelwerte der Gruppen 3 und 4 relativ nahe beieinander und waren von den jeweils anderen Gruppen verschieden. Gruppe 2 lag dazwischen.

Die Ergebnisse der statistischen Tests sind in Tabelle 8 zusammengefasst. Die Varianzanalyse wies keine signifikante Trennung der Gruppen aus. Lediglich für NAG lag eine Tendenz zur Signifikanz vor. Diese Tendenz wurde durch den Duncan-Test, dargestellt in Tabelle 9, bestätigt. Hiernach unterschied sich Gruppe 1 mit signifikant höheren Werten von Gruppe 3. Zwischen den Gruppen 3, 5, 2 und 4 bestand kein signifikanter Unterschied, aber die Gruppe 1 hob sich tendenziell auch von den Gruppen 5, 2 und 4 ab. Der Kruskal-Wallis-Test brachte keine signifikante Trennung auf der Basis der Ränge, der U-Test zeigte eine Tendenz zu signifikanten Unterschieden zwischen den Gruppen 1 und 3 für die spezifischen Aktivitäten von NAG und Kollagenase, wobei die höheren Werte in der Gruppe 1 zu finden waren. Weitere Einzelheiten zum U-Test sind Tabelle 13 zu entnehmen.

Tab. 8: Ergebnisse der statistischen Tests für die spezifischen Aktivitäten auf der Grundlage der Gruppeneinteilung Variante 1

Variable	Varianzanalyse		Duncan-Test		Kruskal-Wallis-Test		U-Test
	F	p	p	Vergleich	CQ	p	Vergleich
SPEZPER	0,223	0,925	0,435		1,852	0,763	
SPEZNAG	2,348	0,067	<0,050	3<1 / 5,2,4<1	6,383	0,172	1>3
SPEZIL-6	0,538	0,708	0,284		4,109	0,391	
SPEZIL-1B	0,745	0,566	0,215		2,492	0,646	
SPEZKOL	0,461	0,764	0,366		5,562	0,234	1>3 / 1 > 4

Tab. 9: Duncan-Test für die spezifische Aktivität von N-Acetyl-β-D-Glucosaminidase (SPEZNAG)

Gruppe	n	Untergruppe für α=0,05	
		1	2
3	18	0,09292	
5	2	0,11258	0,11258
2	15	0,13393	0,13393
4	12	0,13788	0,13788
1	8		0,25354
Signifikanz:		0,574	0,077

Spezifische Aktivitäten gemäß Einteilung Variante 1 ohne Gruppe 5

Da die Gruppe 5 nur zwei Lavageproben umfasste, konnte die Statistik keine wirklich verwertbaren Aussagen liefern. Aus diesem Grunde wurde bei den folgenden statistischen Untersuchungen auf die Gruppe 5 verzichtet. Die Beschreibung der Variablen auf der Grundlage der klinischen Gruppen 1 bis 4 ist im Kapitel 4.2.1 erfolgt und der Tabelle 4 zu entnehmen. Bei der Kollagenase trat der höchste Mittelwert nun in der Gruppe 1 auf. Er betrug $E(570) = 0,98$. Die Ergebnisse der statistischen Tests sind in der Tabelle 10 dargestellt. Die Varianzanalyse wies für die spezifische Aktivität der N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase eine Signifikanz aus. Der Duncan-Test zeigte hier eine signifikante Trennung der Gruppe 1 von den Gruppen 2, 3 und 4. Der Kruskal-Wallis-Test wies nun anhand der Rangfolge eine Tendenz zur Signifikanz für die spezifische Aktivität von NAG aus. Die Ergebnisse des U-Tests blieben unverändert und werden deshalb nicht erneut mit aufgeführt.

Tab.10 Ergebnisse der statistischen Tests gemäß Einteilung Variante 1 mit spezifischen Aktivitäten ohne Gruppe 5

Variable	Varianzanalyse		Duncan-Test		Kruskal-Wallis-Test	
	F	p	p	Vergleich	CQ	p
SPEZPER	0,219	0,883	0,435		1,421	0,701
SPEZNAG	3,084	0,036	<0,050	1>3,2,4	6,341	0,096
SPEZIL-6	0,521	0,670	0,284		2,078	0,556
SPEZIL-1 β	0,765	0,519	0,215		0,808	0,848
SPEZKOL	0,492	0,690	0,366		4,359	0,225

Diskriminanzanalyse für Patientengruppeneinteilung gemäß Variante 1 (V1)

In der Diskriminanzanalyse wurden 53 von 55 Fällen verarbeitet, die zwei Fälle der Gruppe 5 wurden von der Gesamtzahl ausgeschlossen. Wenn Eiweiß, Peroxidase, NAG, IL-6, IL-1 β und Kollagenase als Eingabe zugrunde gelegt wurden, erwies sich keine dieser Variablen als für eine Diskrimination aller vier Gruppen geeignet, weder bei dem Signifikanzniveau der Voreinstellung mit $p(\text{in}) = 0,05$ und $p(\text{out}) = 0,10$ noch bei einem abgesenkten Signifikanzniveau von $p(\text{in}) = 0,10$ und $p(\text{out}) = 0,20$. Wenn die spezifischen Aktivitäten von Peroxidase, NAG, IL-6, IL-1 β und Kollagenase zugrunde gelegt wurden, konnte auf dem Signifikanzniveau $p(\text{in}) = 0,05$ und $p(\text{out}) = 0,10$ eine Diskrimination erreicht werden. Die Ergebnisse dieser Diskriminanzanalyse sind Tabelle 11 zu entnehmen.

Tab. 11 Diskriminanzanalyse auf der Basis der spezifischen Aktivitäten für die Gruppen 1 bis 4

vorgegeben	SPEZPER, SPEZNAG, SPEZIL-1, SPEZIL-6, SPEZKOL		
Kriterien	p(in)=0,05 und p(out)=0,10; Mahalanobis-Abstand		
ausgewählt	SPEZNAG, SPEZIL-1; gebildete Funktionen: 2		
		Funktion 1+2	Funktion 2
Signifikanztest	CQ	17,648	1,866
	p	0,007	0,393
		Funktion 1	Funktion 2
Standardisierte Koeffizienten	SPEZNAG	1,283	0,199
	SPEZIL-1	-0,972	0,861
Gruppenzentroide	Gr.1	1,057	0,292
	Gr.2	0,194	-0,226
	Gr.3	-0,706	0,131
	Gr.4	0,111	-0,11
Kreuzvalidierung	34 % richtig zugeordnet		
Verschiebung von D(i) in Richtung ... bewirkt Zuordnung zu →	höhere Werte: SPEZNAG → Gr.1, SPEZIL-1 → Gr.3		
	geringere Werte: SPEZNAG → Gr.3, SPEZIL-1 → Gr.1		

Eine Absenkung des Signifikanzniveaus auf $p(\text{in}) = 0,10$ und $p(\text{out}) = 0,20$ führte nicht zu einer weiter verbesserten Diskrimination durch die Hereinnahme zusätzlicher Variablen.

Als geeignete Variablen für eine Trennung der Gruppen 1 bis 4 wurden die spezifischen Aktivitäten von NAG und Interleukin-1 β ausgewählt, obwohl bei der Varianzanalyse nur ein signifikanter Unterschied für die spezifische Aktivität von NAG gefunden worden war und der Kruskal-Wallis-Test nur hierfür eine schwache Tendenz auswies. In der Diskriminanzanalyse ergaben die spezifischen Konzentrationen von NAG und Interleukin-1 β zusammen eine signifikante Trennung zwischen den Gruppen 1 bis 4, wie der Wilks-Lambda-Test ergab. Bei der Zusammenfassung der kanonischen Diskriminanzfunktionen wurden zwei Funktionen gebildet. Dabei bewirkten hohe Werte der spezifischen Aktivität von N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase eine Verschiebung des Diskriminanzwertes zur Gruppe 1 gemäß der Einteilung V1 und hohe Werte der spezifischen Aktivität von Interleukin-1 β eine Verschiebung zur Gruppe 3. Die Koordinaten der Gruppenzentroide zeigen, dass die Gruppen 1 und 3 bei der Funktion 1 weiter auseinanderliegen als die Gruppen 2 und 4, die beide etwa in der Mitte zwischen den Gruppen 1 und 3 liegen. Die Funktion 2 dient dann vor allem der weiteren Diskrimination der Gruppen 2 und 4, die für

sich allein aber nicht das Signifikanzniveau erreicht. Abbildung 8 veranschaulicht die Koordinaten der Gruppen-zentroide.

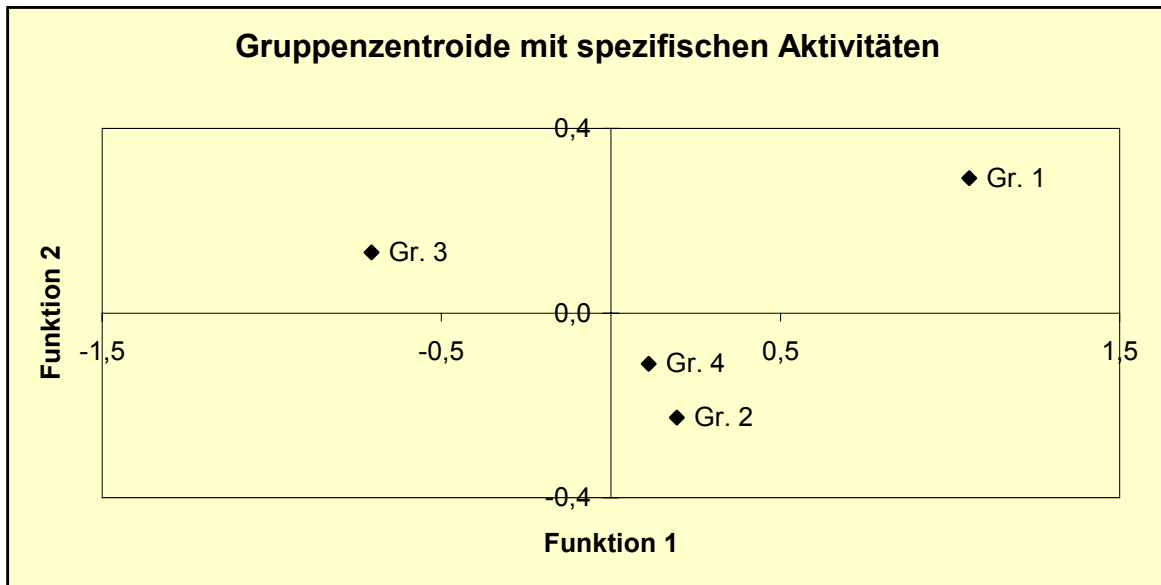


Abb. 8: Gruppenzentroide für die Gelenkgruppen 1 bis 4 bei Diskrimination anhand der spezifischen Aktivitäten von NAG und IL-1 β

Anhand der Funktionswerte erfolgte dann eine Zuordnung zu einer der Gruppen mit der jeweils höchsten Wahrscheinlichkeit. Wie den Prozentzahlen der vorhergesagten Gruppenzugehörigkeit zu entnehmen ist, wurden Gelenke der Gruppe 1 nur zu 50 % richtig zugeordnet, Gelenke der Gruppe 2 sogar nur zu 20 % und bei Gruppe 3 zu 61,1%. Kein Gelenk der Gruppe 4 wurde richtig zugeordnet. Diese Klassifizierungsergebnisse sind in Tabelle 12 dargestellt.

Tab. 12: Klassifizierungsergebnisse nach Kreuzvalidierung für die Gelenkgruppen 1 bis 4

	gegebene Gelenkgruppe	Vorhergesagte Gruppenzugehörigkeit				Gesamt
		1	2	3	4	
Anzahl	1	4	2	1	1	8
	2	4	3	5	3	15
	3	0	3	11	4	18
	4	4	4	4	0	12
%	1	50,0	25,0	12,5	12,5	100
	2	26,7	20,0	33,3	20,0	100
	3	0	16,7	61,1	22,2	100
	4	33,3	33,3	33,3	0	100

4.2.2 Messwerte und spezifische Aktivitäten bei Patientengruppeneinteilung nach arthroskopischem Befund am Diskus-Bandapparat nach Zusammenfassung in 3 Gruppen (Variante 2)

Die Beschreibung aller Variablen ist Tabelle 13 zu entnehmen. Bei den Parametern Eiweiß, Peroxidase, NAG, Interleukin-6 und Interleukin-1 β zeigte die neue Gruppe 2 höhere Werte als die Gruppe 1. Bei Kollagenase sind die Werte beider Gruppen fast gleich. Der t-Test wies dabei Signifikanzen für Peroxidase und Interleukin-1 β nach, für Eiweiß wurde eine starke Tendenz zur Signifikanz aufgezeigt. Im U-Test trat bei Peroxidase ein signifikantes

Tab. 13: Deskriptive Statistik und Ergebnisse statistischer Tests gemäß Einteilung Variante 2

	Gruppe	n	MW	s	t-Test		U-Test	
					t	p	z	p
EW	1	23	156,57	239,71	-1,987	0,053	-1,831	0,067
	2	30	329,44	389,96				
PER	1	23	227,67	93,55	-2,416	0,020	-2,028	0,043
	2	30	315,54	168,16				
NAG	1	23	11,05	5,93	-0,522	0,604	-0,413	0,680
	2	30	11,98	7,19				
IL-6	1	23	18,22	9,32	-1,584	0,123	-1,104	0,270
	2	30	31,12	43,34				
IL-1 β	1	23	0,66	0,67	-2,435	0,019	-1,911	0,056
	2	30	1,42	1,52				
KOL	1	23	0,94	0,27	0,223	0,825	-0,054	0,351
	2	30	0,93	0,22				
SPEZ-PER	1	23	3,57	2,70	-0,313	0,756	-0,933	0,351
	2	30	3,93	4,89				
SPEZ-NAG	1	23	0,176	0,159	1,807	0,077	-1,884	0,060
	2	30	0,111	0,101				
SPEZ-IL-6	1	23	0,293	0,269	1,068	0,291	-0,843	0,399
	2	30	0,224	0,204				
SPEZ-IL-1 β	1	23	0,009	0,012	-0,772	0,444	-0,440	0,660
	2	30	0,012	0,019				
SPEZ-KOL	1	23	0,016	0,011	1,176	0,245	-1,795	0,073
	2	30	0,012	0,013				

Ergebnis auf, Eiweiß und Interleukin-1 β zeigten eine Tendenz zur Signifikanz. Wenn dagegen durch Berechnung der spezifischen Aktivitäten bzw. Konzentrationen auf den Gehalt an Gesamteiweiß normiert wurde, wiesen t-Test und U-Test nur bei NAG eine Tendenz zu einem Unterschied zwischen Gruppe 1 und der zusammengefassten Gruppe 2

aus. Dabei wies Gruppe 1 die höheren spezifischen Aktivitäten auf. Daneben wies die relative spezifische Kollagenase eine Tendenz zu einem Gruppenunterschied mit höheren Aktivitäten für Gruppe 1 beim U-Test aus.

Diskriminanzanalyse gemäß Einteilung Variante 2 (V2)

Bei der Diskriminanzanalyse wurde von allen Lavagewerten nur die Peroxidase als eine geeignete Größe für eine Trennung der Gruppen ausgewählt. Die damit erreichte Trennung war signifikant, wie der Wert für Chiquadrat und sein Signifikanzniveau belegten. Die Ergebnisse dieser Diskriminanzanalyse sind in Tabelle 14 zusammengefasst. Die Zentren der beiden Gruppen, die mit Hilfe des Diskriminanzkoeffizienten für Peroxidase ermittelt wurden, hatten einen deutlichen Abstand, wie die Gruppen-Zentroiden zeigten. Die Klassifizierungsergebnisse zeigten eine korrekte Zuordnung in 56,6 % der Fälle. Sie sind der Tabelle 15 zu entnehmen. Von 23 der Gruppe 1 zugehörigen Proben wurden siebzehn richtig der Gruppe 1 und sechs falsch der Gruppe 2 zugeordnet. Die 30 Gelenke der neuen Gruppe 2 wurden 13mal richtig der Gruppe 2 und 17mal falsch der Gruppe 1 zugeordnet.

Tab. 14: Ergebnisse der Diskriminanzanalyse gemäß Gruppeneinteilung Variante 2

vorgegeben	EW, PER, NAG, IL-1, IL-6, KOL, SPEZPER, SPEZNAG, SPEZIL-1, SPEZIL-6, SPEZKOL	
Kriterien	p(in) = 0,05 / p(out) = 0,10; Mahalanobis-Abstand	
ausgewählt	PER gebildete Funktionen: 1	
		Funktion 1
Signifikanztest	CQ	4,779
	p	0,029
		Funktion 1
standardisierte Koeffizienten	PER	1,000
Gruppenzentroide	Gr.1	-0,353
	Gr.2	0,271
Kreuzvalidierung	56,6 % richtig zugeordnet	
Verschiebung von D(i) in Richtung ... bewirkt Zuordnung zu →	höhere Werte: PER→Gr.2 geringere Werte: PER→Gr.1	

Tab.15: Klassifizierungsergebnisse nach Kreuzvalidierung gemäß Gruppeneinteilung
Variante 2

	Gruppen V2	Vorhergesagte Gruppenzugehörigkeit		gesamt
		1	2	
Anzahl	1	17	6	23
	2	17	13	30
%	1	73,9	26,1	100
	2	56,7	43,3	100

4.3 Clusteranalyse

Die Clusteranalyse erfolgte:

1. auf der Basis der Messwerte
2. auf der Basis der spezifischen Konzentrationen
3. auf der Basis der Kombination aus 1. und 2.

Dabei haben wir zweimal eine Einteilung in zwei Cluster (Cluster Nr. 2/1-1 und 2/2-1 für die Messwerte bzw. Cluster Nr. 2/1-2 und 2/2-2 für die spezifischen Aktivitäten) und einmal in vier Cluster (Cluster Nr. 4/1, 4/2, 4/3, 4/4) gewählt. Mit Hilfe von Kreuztabellen wurde dann untersucht, wie sich die klinischen Gruppen auf die verschiedenen Cluster verteilen.

4.3.1 Clusteranalyse mit zwei Clustern

A: Clusteranalyse auf der Basis der Messwerte

Die erste Clusterbildung erfolgte auf der Basis aller Messwerte mit Ausnahme von Nitrotyrosin. Insgesamt verteilen sich 9 Gelenke auf den Cluster 2/1-1 und 46 von 55 Gelenken auf den Cluster 2/2-1. Die Tabelle 16 zeigt die Verteilung auf die beiden Cluster dieser Clusteranalyse im Vergleich zu den klinischen Einteilungen gemäß V1 und V2. Nach der Gruppeneinteilung V1 befanden sich alle acht Fälle der klinischen Gruppe 1 sowie 13 von 15 Fällen der Gruppe 2 im Cluster 2/2-1. Von 18 Gelenken der Gruppe 3 befanden sich 5 im Cluster 2/1-1 und 13 im Cluster 2/2-1. Die zwölf Gelenke der Gruppe 4 verteilen sich zu zehnt auf den Cluster 2/2-1, zwei Gelenke wurden dem Cluster 2/1-1 zugeordnet. Die zwei Gelenke der Gruppe 5 wurden beide dem Cluster 2/2-1 zugeordnet.

Tab.16: Kreuztabelle der Clusteranalyse zur Verteilung der Gelenke nach den Einteilungen Variante 1 und Variante 2 auf zwei Cluster

Gruppe V1	Cluster		Gesamt	Gruppe V2	Cluster		Gesamt
	2/1-1	2/2-1			2/1-1	2/2-1	
1	0	8	8	1	2	21	23
2	2	13	15				
3	5	13	18				
4	2	10	12	2	7	23	30
5	0	2	2	5	0	2	2
Gesamt	9	46	55		9	46	55

Bei der Einteilung V2 waren 23 von 55 Gelenken Gelenke der Gruppe 1 zugeordnet worden, 30 Gelenke der Gruppe 2 und zwei Gelenke der Gruppe 5. Die 23 Gelenke der Gruppe 1 gemäß Einteilung V2 verteilten sich zweimal auf den Cluster 2/1-1 und 21mal auf den Cluster 2/2-1. Von 30 Gelenken der Gruppe 2 gemäß Einteilung V2 fanden sich sieben Gelenke im Cluster 2/1-1 und 23 Gelenke im Cluster 2/2-1 wieder. Beide Gelenke der Gruppe 5 wurden dem Cluster 2/2-1 zugeordnet.

Deskriptive Statistik mit zwei Clustern auf der Basis der Messwerte

Die Beschreibung der Variablen auf der Grundlage dieser zwei Cluster aus den Messwerten und die Ergebnisse der statistischen Tests sind der Tabelle 17 zu entnehmen. Es traten bei den mittleren Konzentrationen von Eiweiß, Peroxidase, NAG, Interleukin-6 und Interleukin-1 β durchweg höhere Werte im Cluster 2/1-1 gegenüber dem Cluster 2/2-1 auf. Lediglich bei Kollagenase lag der Mittelwert von Cluster 2/2-1 über dem im Cluster 2/1-1 erreichten Wert. Die Standardabweichungen zeigten analoge Daten zu den Mittelwerten. Bei den spezifischen Aktivitäten lagen die höheren Mittelwerte und Standardabweichungen bei allen Parametern im Cluster 2/2-1.

Der t-Test lieferte signifikante Ergebnisse für die Messwerte zu Eiweiß, NAG, Interleukin-1 β und Kollagenase sowie für die spezifische Aktivität von Peroxidase, NAG, Interleukin-6, Interleukin-1 β und Kollagenase. Bei Peroxidase und Interleukin-6 erreichten die Differenzen zwischen den beiden Clustern nicht das Signifikanzniveau. Mit Hilfe des U-Testes wurden zwischen den Gruppen signifikante Gruppenunterschiede für Peroxidase, Eiweiß, NAG, Interleukin-1 β , Kollagenase und für die spezifische Aktivität von Peroxidase, NAG, Interleukin-6 und Kollagenase ermittelt.

Tab.17: Deskriptive Statistik und Ergebnisse statistischer Tests der Clusteranalyse für zwei Cluster

Variable	Cluster	n	MW	s	t-Test		U-Test	
					t	p	z	p
EW	2/1-1	9	954,50	117,39	19,438	<0,001	-4,709	<0,001
	2/2-1	46	109,33	119,63				
PER	2/1-1	9	334,60	108,55	1,266	0,211	-2,161	0,031
	2/2-1	46	266,85	152,58				
NAG	2/1-1	9	16,89	7,30	2,936	0,005	-2,844	0,004
	2/2-1	46	10,32	5,92				
IL-6	2/1-1	9	61,25	72,86	1,759 ^{*)}	0,116	-1,593	0,111
	2/2-1	46	18,49	7,20				
IL-1 β	2/1-1	9	2,67	2,02	2,829 ^{*)}	0,021	-3,413	0,001
	2/2-1	46	0,74	0,75				
KOL	2/1-1	9	0,77	0,15	-2,398	0,020	-2,503	0,012
	2/2-1	46	0,98	0,25				
SPEZPER	2/1-1	9	0,36	0,12	-6,844 ^{*)}	<0,001	-4,482	<0,001
	2/2-1	46	4,51	4,11				
SPEZNAG	2/1-1	9	0,018	0,009	-7,363 ^{*)}	<0,001	-4,505	<0,001
	2/2-1	46	0,161	0,130				
SPEZIL-6	2/1-1	9	0,0642	0,0711	-2,941	0,005	-3,708	<0,001
	2/2-1	46	0,2965	0,2334				
SPEZIL-1 β	2/1-1	9	0,00268	0,00187	-3,726 ^{*)}	<0,001	-1,638	0,101
	2/2-1	46	0,01218	0,01676				
SPEZKOL	2/1-1	9	0,00083	0,00023	-8,965 ^{*)}	<0,001	-4,709	<0,001
	2/2-1	46	0,01636	0,01174				

^{*)} t-Test für ungleiche Varianzen gemäß Levene-Test

Für die spezifische Aktivität von Interleukin-1 β wies der U-Test nur eine Tendenz aus. Somit wurden die Ergebnisse des t-Tests in weiten Teilen durch den U-Test bestätigt. Abweichungen ergaben sich bei Peroxidase, wo der U-Test auf einen signifikanten Unterschied zwischen den Clustern hinwies, und für die spezifische Konzentration von Interleukin-1 β , wo die durch den t-Test aufgezeigte höchst signifikante Differenz durch den U-Test nicht bestätigt werden konnte.

Diskriminanzanalyse auf der Basis der Messwerte

Die Ergebnisse der Diskriminanzanalyse für die Cluster 2/1-1 gegen 2/2-1 auf der Basis der Messwerte (ohne Nitrotyrosin) sind der Tabelle 18 zu entnehmen. Die Gruppentrennung erfolgte ausschließlich auf der Basis der Eiweißkonzentrationen, die zwischen den beiden Clustern eine besonders hohe Differenz aufwiesen.

Tab. 18: Diskriminanzanalyse auf der Basis der Messwerte für zwei Cluster

vorgegeben	Messwerte		Messwerte plus spezifische Aktivitäten	
Kriterien	p(in)=0,05 / p(out)=0,10 und p(in)=0,10 / p(out)=0,20; Mahalanobis-Abstand			
ausgewählt	EW	gebildete Funktionen: 1	EW SPEZKOL KOL	gebildete Funktionen: 1
Signifikanztest		Funktion 1		Funktion 2
	CQ	110,009	CQ	121,078
	p	<0,001	p	<0,001
standardisierte Koeffizienten	EW	1,000	EW KOL SPEZKOL	1,234 -0,389 0,633
Gruppenzentroide	Cluster 2/1-1	5,825	Cluster 2/1-1	6,839
	Cluster 2/2-1	-1,159	Cluster 2/2-1	-1,338
Kreuzvalidierung	100 % richtig zugeordnet		100 % richtig zugeordnet	
Verschiebung von D(i) in Richtung ... bewirkt Zuordnung zu →	höhere Werte EW → Cluster 2/1-1 kleinere Werte EW → Cluster 2/2-1		höhere Werte EW → Cluster 2/1-1 höhere Werte KOL → Cluster 2/2-1 höhere Werte SPEZKOL → Cluster 2/1-1	

Der sehr hohe Wert für χ^2 belegte eine eindeutige Trennung der beiden Cluster. Diese Diskrimination durch die Eiweißkonzentration ist so stark, dass auch bei Senkung des Signifikanzniveaus auf p(in) = 0,10 / p(out) = 0,20 nicht zur Heranziehung weiterer Variablen aus der Lavageflüssigkeit führte. Somit existieren zwei Gelenkgruppen, die sich einzig und allein anhand des Gehalts an löslichem Eiweiß höchst signifikant unterscheiden. Das wurde auch durch den großen relativen Abstand der Gruppenzentroide für die beiden Cluster dokumentiert. Hohe Eiweißkonzentrationen in der Lavageflüssigkeit bewirkten

dabei eine Zuordnung zu Cluster 2/1-1, niedrige Eiweißkonzentrationen sind typisch für Cluster 2/2-1. Das Ergebnis der Klassifizierung mittels Kreuzvalidierung ist Tabelle 19 zu entnehmen. Alle 9 Gelenke des Clusters 2/1-1 wie auch alle 46 Gelenke des Clusters 2/2-1 wurde richtig zugeordnet, so dass die Genauigkeit der Zuordnung 100% betrug.

Nach Erweiterung der vorgegebenen Variablen um die spezifischen Konzentrationen bzw. Aktivitäten der untersuchten Komponenten in der Lavageflüssigkeit wurden zusätzlich die spezifische Aktivität der Kollagenase und die Originalaktivität der Kollagenase für die Diskrimination herangezogen. Der Wert von Chi-Quadrat erhöhte sich aber nur noch wenig und die Gruppenzentroide rücken etwas weiter auseinander. Die Reklassifizierung nach Kreuzvalidierung ergab ebenfalls 100% richtige Zuordnung. Höhere Aktivitäten der Kollagenase bewirken eine Zuordnung zu Cluster 2/2-1, höhere spezifische Aktivitäten der Kollagenase aber zu Cluster 2/1-1. Insgesamt belegte auch diese Analyse die überragende Rolle der Konzentration von löslichem Eiweiß bei der Diskrimination der beiden Cluster.

Tab 19: Klassifizierungsergebnisse nach Kreuzvalidierung für zwei Cluster

	Cluster	Vorhergesagte Gruppenzugehörigkeit		Gesamt
		1	2	
Anzahl	2/1-1	9	0	9
	2/2-1	0	45	45
%	2/1-1	100	0	100
	2/2-1	0	100	100

B: Clusteranalyse mit zwei Clustern auf der Basis der spezifischen Konzentrationen

In die Analyse gingen alle spezifischen Aktivitäten außer Nitrotyrosin ein. Es wurde eine Einteilung in zwei Cluster vorgegeben. Die Tabelle 20 zeigt die Verteilung auf zwei Cluster im Vergleich zu den klinischen Gruppen gemäß der Einteilung V1. Von acht zur Gruppe 1 gehörenden Gelenken wurden sieben dem Cluster 2/1-2 und ein Gelenk dem Cluster 2/2-2 zugeordnet. Alle fünfzehn Gelenke der Gruppe 2 fanden wir im Cluster 2/1-2. Die achtzehn Gelenke der Gruppe 3 verteilten sich zu fünfzehn Gelenken auf den Cluster 2/1-2 und zu drei Gelenken auf den Cluster 2/2-2. Die zwei Gelenke der Gruppe 5 waren mit je einem Gelenk in jedem Cluster vertreten. Der Chi-Quadrat-Test ergab mit $\chi^2=5,698$ und $p=0,223$ keine Signifikanz der Verteilung der zwei Cluster auf die fünf Gelenkgruppen, d.h. die Verteilung ist ungeordnet.

Tab. 20: Kreuztabelle der Clusteranalyse zur Verteilung der Gelenke nach der Einteilung Variante1 auf zwei Cluster auf der Basis der spezifischen Konzentrationen

Gruppen V1	Cluster		Gesamt
	2/1-2	2/2-2	
1	7	1	8
2	15	0	15
3	15	3	18
4	11	1	12
5	1	1	2
Gesamt	49	6	55

Deskriptive Statistik für zwei Cluster auf der Basis der spezifische Konzentrationen

Die Beschreibung der Variablen auf der Grundlage der Bildung dieser zwei Cluster ist der Tabelle 21 zu entnehmen. Es traten bei den mittleren Konzentrationen von Eiweiß, NAG und Interleukin-6 höhere Werte im Cluster 2/1-2 gegenüber dem Cluster 2/2-2 auf. Bei Peroxidase und Kollagenase lagen die Mittelwerte im Cluster 2/2-2 über denen des Clusters 2/1-2. Die Mittelwerte von Interleukin-1 β waren mit 1,052 pg/ml im Cluster 2/1-2 und 1,076 pg/ml im Cluster 2/2-2 fast gleich. Die Standardabweichungen verhielten sich analog zu den Mittelwerten. Bei den spezifischen Aktivitäten lagen die höheren Mittelwerte und Standardabweichungen bei allen Parametern im Cluster 2/2-2. Der t-Test lieferte signifikante Unterschiede für Eiweiß, Peroxidase und NAG sowie für die spezifischen Aktivitäten von Peroxidase, NAG und Kollagenase. Eine Tendenz zur Signifikanz trat bei der spezifischen Aktivität von Interleukin-6 auf. Der U-Test bestätigte im Wesentlichen die Aussagen des t-Testes. Auch hier traten Signifikanzen bei Eiweiß und Peroxidase auf, außerdem bei den spezifischen Aktivitäten von Peroxidase, NAG, Interleukin-6 und Kollagenase. Eine unterschiedliche Aussage ergab sich jedoch für die Aktivität von NAG, da hier der U-Test keinerlei Signifikanzen auswies und damit das Ergebnis des t-Tests nicht bestätigt werden konnte.

Tab.21: Deskriptive Statistik und Ergebnisse statistischer Tests für zwei Cluster

Variable	Cluster	n	MW	S	t-Test		U-Test	
					t	p	z	p
EW	2/1-2	49	273,00	348,82	4,613 ^{*)}	<0,001	-2,970	0,002
	2/2-2	6	4,05	18,41				
PER	2/1-2	49	251,60	122,71	-4,369	<0,001	-3,186	<0,001
	2/2-2	6	493,01	168,58				
NAG	2/1-2	49	11,71	6,85	2,106 ^{*)}	0,050	-0,702	0,501
	2/2-2	6	8,76	2,45				
IL-6	2/1-2	49	26,26	34,76	0,493	0,620	-0,297	0,782
	2/2-2	6	19,19	7,77				
IL-1 β	2/1-2	49	1,05	1,29	-0,043	0,970	-0,122	0,906
	2/2-2	6	1,07	1,03				
KOL	2/1-2	49	0,94	0,25	-0,399	0,691	-0,486	0,645
	2/2-2	6	0,98	0,17				
SPEZPER	2/1-2	49	2,67	2,08	-6,302 ^{*)}	<0,001	-3,969	<0,001
	2/2-2	6	13,26	4,05				
SPEZNAG	2/1-2	49	0,120	0,130	-2,141	0,037	-2,403	0,014
	2/2-2	6	0,240	0,097				
SPEZIL-6	2/1-2	49	0,22	0,17	-2,428	0,057	-2,727	0,004
	2/2-2	6	0,59	0,37				
SPEZIL-1 β	2/1-2	49	0,00802	0,01030	-1,809 ^{*)}	0,129	-1,296	0,205
	2/2-2	6	0,01890	0,03210				
SPEZKOL	2/1-2	49	0,0119	0,0099	-3,843	<0,001	-2,916	0,002
	2/2-2	6	0,0299	0,0176				

^{*)}t-Test für ungleiche Varianzen gemäß Levene-Test

Diskriminanzanalyse für zwei Cluster auf der Basis der spezifischen Konzentrationen

Die Ergebnisse der Diskriminanzanalyse mit der Gruppeneinteilung anhand dieser zwei Cluster sind in Tabelle 22a/b dargestellt. Die Diskriminanzanalyse wurde zunächst allein für die spezifischen Aktivitäten und anschließend für die normalen und die spezifischen Aktivitäten zusammen durchgeführt. Für die Trennbarkeit der Gruppen wurden bei den spezifischen Aktivitäten als geeignete Variablen Peroxidase und NAG ausgewählt. Der Wert für χ^2 belegt eine sehr starke Trennung dieser beiden Cluster. Sie wurden zu einer kanonischen Diskriminanzfunktion zusammengefasst. Mit Hilfe der Diskriminanzfunktionskoeffizienten wurde ein gemeinsamer Funktionswert aus den spezifischen Konzentrationen von Peroxidase und NAG berechnet. Die Gruppen-Zentroide zeigten einen deutlichen Abstand zwischen den Zentren der beiden Cluster.

Tab. 22a/b: Diskriminanzanalyse für zwei Cluster

(a) spezifische Aktivitäten

vorgegeben:	SPEZPER, SPEZNAG, SPEZIL-6, SPEZIL-1 β , SPEZKOL	
Kriterien	p(in)=0,05 / p(out)=0,10;	Mahalanobis-Abstand
ausgewählt	SPEZPER, SPEZNAG	gebildete Funktionen: 1
		Funktion 1
Signifikanztest	CQ	66,671
	p	<0,001
standardisierte Koeffizienten	SPEZPER	1,243
	SPEZNAG	-0,578
Gruppenzentroide	Cluster2/1-2	-0,554
	Cluster2/2-2	4,527
Kreuzvalidierung	98,2 % richtig zugeordnet	
Verschiebung von D(i) in Richtung ... bewirkt Zuordnung zu \rightarrow	Höhere Werte: SPEZPER \rightarrow Cluster 2/2-2, SPEZNAG \rightarrow Cluster 2/1-2	
	Geringere Werte: SPEZPER \rightarrow Cluster 2/1-2, SPEZNAG \rightarrow Cluster 2/2-2	

(b) Messwerte plus spezifische Aktivitäten

vorgegeben:	EW, PER, NAG, IL-1 β , IL-6, KOL, SPEZPER, SPEZNAG, SPEZIL-6, SPEZIL-1 β , SPEZKOL	
Kriterien	p(in)=0,05 / p(out)=0,10;	Mahalanobis-Abstand
ausgewählt	SPEZPER, SPEZNAG, EW	gebildete Funktion: 1
		Funktion 1
Signifikanztest	CQ	70,712
	p	<0,001
standardisierte Koeffizienten	SPEZPER	1,353
	SPEZNAG	-0,442
	EW	0,428
Gruppenzentroide	Cluster 2/1-2	-0,590
	Cluster2/2-2	4,816
Kreuzvalidierung	100 % richtig zugeordnet	
Verschiebung von D(i) in Richtung ... bewirkt Zuordnung zu \rightarrow	Höhere Werte: SPEZPER \rightarrow Cluster 2/2-2, SPEZNAG \rightarrow Cluster 2/1-2, EW \rightarrow Cluster 2/2-2	
	Geringere Werte: SPEZPER \rightarrow Cluster 2/1-2, SPEZNAG \rightarrow Cluster 2/2-2, EW \rightarrow Cluster 2/1-2	

Für die Trennbarkeit der Cluster bei gemeinsamer Einbeziehung der normalen und der spezifischen Konzentrationen wurden Eiweiß sowie die spezifischen Aktivitäten von Peroxidase und NAG ausgewählt. Bei der Zusammenfassung der kanonischen Diskriminanzfunktionen wurde nur eine Funktion analysiert. Der Chi-Quadrat-Test ergab

mit $\chi^2=70,71$ eine höchst signifikante Trennung. Mit Hilfe der kanonischen Diskriminanzfunktionskoeffizienten für die ausgewählten Parameter wurde ein gemeinsamer Funktionswert errechnet. Die Klassifizierungsergebnisse sind in Tabelle 23 dargestellt. Für die spezifischen Konzentrationen allein ermittelten wir eine korrekte Klassifizierung von 98,2%. Von 48 Fällen des Clusters 2/1-2 wurden 47 auch dem Cluster 2/1-2 zugeordnet und nur ein Fall befand sich im Cluster 2/2-2. Die sechs Fälle des Clusters 2/2-2 wurden alle richtig eingeordnet.

Die Klassifizierung anhand der Messwerte von Eiweiß sowie der spezifischen Aktivitäten von Peroxidase und NAG ergab: Von 49 zum Cluster 2/1-2 und sechs zum Cluster 2/2-2 gehörenden Fällen wurden alle Gelenke richtig zugeordnet. Die Kontrolle mittels Kreuzvalidierung bestätigte die korrekte Klassifizierung zu 100%.

Tab. 23: Klassifizierungsergebnisse für zwei Cluster für spezifische Aktivitäten

		Vorhergesagte Gruppenzugehörigkeit		
Spezifische Konzentrationen				
kreuzvalidiert	Cluster	2/1-2	2/2-2	gesamt
Anzahl	2/1-2	48	1	49
	2/2-2	0	6	6
%	2/1-2	98	2	100
	2/2-2	0	100	100
Messwerte und spezifische Konzentrationen				
Anzahl	2/1-2	49	0	49
	2/2-2	0	6	6
%	2/1-2	100	0	100
	2/2-2	0	100	100

4.2 Clusteranalyse mit vier Clustern

Clusteranalyse auf der Basis der Messwerte

Diese Aufteilung in vier Cluster wurde mit einer hierarchischen Clusteranalyse anhand der Messwerte für Gesamteiweiß, Peroxidase, NAG, Interleukin-1 β , Interleukin-6 und Kollagenase vorgenommen. Eine weitere Clusteranalyse, bei der diese Messwerte durch die spezifischen Aktivitäten von Peroxidase, NAG, Interleukin-1 β , Interleukin-6 und Kollagenase ergänzt wurden, ergab eine völlig identische Aufteilung der Gelenke auf die vier Cluster. Die Messwerte spielten somit die dominierende Rolle bei der Herausbildung der vier Cluster. Die Verteilung der 55 Gelenke auf die vier Cluster ist Tabelle 24 zu entnehmen. Bei Vorgabe von vier Clustern waren von 55 Gelenken neun Gelenke in

Cluster 1, die meisten, nämlich 33 Gelenke in Cluster 2, vier Gelenke in Cluster 3 und neun Gelenke in Cluster 4 zu finden. Die acht nach der Einteilung V1 zur Gruppe 1 gehörenden Gelenke traten alle im Cluster 2 auf. Von fünfzehn Gelenken der Gruppe 2 wurden elf dem Cluster 2, zwei dem Cluster 1 und je ein Gelenk den Clustern 3 und 4 zugeordnet. Cluster 2 enthielt somit den größten Teil der nach klinischen Kriterien gar nicht oder nur schwach geschädigten Gelenke. Von den achtzehn Gelenken der Gruppe 3 verteilten sich noch sieben auf den Cluster 2, fünf auf den Cluster 1, zwei auf den Cluster 3 und vier Gelenke auf den Cluster 4. Die zwölf Gelenke der Gruppe 4 wurden zur Hälfte, nämlich in sechs Fällen, in den Cluster 2 eingeordnet, zwei Fälle in den Cluster 1, drei Fälle in den Cluster vier und ein Fall in den Cluster 3. Von den zwei Gelenken der Gruppe 5 fand sich eines im Cluster 2 und das andere im Cluster 4 wieder. Der Chi-Quadrat-Test nach Pearson wies mit $\chi^2=12,899$ und $p=0,378$ keine signifikante Verteilung der Gelenkgruppen auf die vier Cluster aus.

Tab. 24: Kreuztabelle der Clusteranalyse zur Verteilung der Gelenke nach Einteilung Variante1(V1) auf vier Cluster

Gruppe V1	Cluster				gesamt
	4/1	4/2	4/3	4/4	
1	0	8	0	0	8
2	2	11	1	1	15
3	5	7	2	4	18
4	2	6	1	3	12
5	0	1	0	1	2
Gesamt	9	33	4	9	55

Deskriptive Statistik für vier Cluster auf der Basis der Messwerte

Die mittleren Konzentrationen bzw. Aktivitäten für die vier Cluster sind Tabelle 25 zu entnehmen, ebenso die Ergebnisse der Varianzanalyse und des Kruskal-Wallis-Testes. Bei den Variablen Eiweiß, Peroxidase, NAG, Interleukin-6 und Interleukin-1 β waren die Mittelwerte im Cluster 4/2 am kleinsten, bei Kollagenase waren sie hier am zweitgrößten. Die höchsten Mittelwerte traten bei Eiweiß, NAG Interleukin-6 und Interleukin-1 β im Cluster 4/1 auf. Bei Eiweiß lag der Mittelwert im Cluster 4/1 mit 954,50 mg/l weit höher als in den anderen drei Clustern, jedoch war mit 117,39 mg/l auch die größte Standardabweichung im Cluster 4/1 zu verzeichnen. Der kleinste Mittelwert für Eiweiß mit 63,13 mg/l und die kleinste Standardabweichung mit 25,38 mg/l wurde im Cluster 4/2 gefunden. Bei Peroxidase traten der höchste Mittelwert mit 531,77 U/l und die größte

Standardabweichung mit 107,30 U/l im Cluster 4/4 auf, der kleinste Mittelwert mit 202,16 U/l und die geringste Standardabweichung mit 69,21 U/l wurden auch hier im Cluster 4/2 ermittelt.

Bei NAG fanden wir den größten Mittelwert mit 16,89 U/l im Cluster 4/1 und den kleinsten Mittelwert mit 9,59 U/l im Cluster 4/2. Auch bei Interleukin-6 und Interleukin-1 β traten die höchsten Werte im Cluster 4/1 und die niedrigsten Mittelwerte im Cluster 4/2 auf. Bei Interleukin-6 betrug der Mittelwert 61,25 pg/l im Cluster 4/1 und 17,11 pg/l im Cluster 4/2.

Tab. 25: Deskriptive Statistik und Ergebnisse statistischer Tests für vier Cluster

Variable	Cluster	n	MW	s	Varianzanalyse		K-W-Test	
					F	p	CQ	p
EW	gesamt	55	247,63	336,95	409,7	<0,001	30,66	<0,001
	4/1	9	945,50	117,39	Duncan-Test:		U-Test:	
	4/2	33	63,13	25,38	2,4<3<1		1>2, 1>3, 1>4	
	4/3	4	439,04	43,95	2<4		2<3, 2=4	
	4/4	9	132,21	115,98			3>4	
PER	gesamt	55	277,94	147,60	39,1	<0,001	30,44	<0,001
	4/1	9	334,60	108,55	Duncan-Test:		U-Test:	
	4/2	33	202,16	69,21	2,3<1<4		4>1,4>2,4>3	
	4/3	4	204,50	75,14			1>2,1>3	
	4/4	9	531,77	107,30			2=3	
NAG	gesamt	55	11,39	6,57	3,93	0,013	11,63	0,009
	4/1	9	16,89	7,30	Duncan-Test:		U-Test:	
	4/2	33	9,59	5,79	2<1		1>2,1>3,1>4	
	4/3	4	15,11	7,35	2,4<3		3>2,3>4	
	4/4	9	10,84	5,36	4<3,1		2=4	
IL-6	gesamt	55	25,49	32,93	5,41	0,003	8,15	0,040
	4/1	9	61,25	72,86	Duncan-Test:		U-Test:	
	4/2	33	17,11	6,79	2,4,3<1		3<1,3>2,3>4	
	4/3	4	27,07	6,48			1>2,1>4	
	4/4	9	19,74	6,69			2=4	
IL-1 β	gesamt	55	1,05	1,26	10,08	<0,001	16,05	<0,001
	4/1	9	2,67	2,02	Duncan-Test:		U-Test:	
	4/2	33	0,57	0,62	2,3,4<1		1>2,1>3,1>4	
	4/3	4	0,80	0,89			4>2,4>3	
	4/4	9	1,31	0,89			2=3	
KOL	gesamt	55	0,94	0,24	2,55	0,066	8,48	0,040
	4/1	9	0,77	0,15	Duncan-Test:		U-Test:	
	4/2	33	0,98	0,27	1<3		3>1,3>2,3>4	
	4/3	4	1,09	0,09	1<2,4		2>1,2>4	
	4/4	9	0,90	0,17			4>1	

K-W-Test = Kruskal-Wallis-Test

Für Interleukin-1 β ermittelten wir im Cluster 4/1 einen Mittelwert von 2,67 pg/ml, aber im Cluster 4/2 betrug er nur 0,57 pg/ml. Bei Kollagenase lag der höchste Mittelwert der

relativen Aktivität mit $E = 1,09$ im Cluster 4/3, wobei die Standardabweichung hier am geringsten ausfiel. Der kleinste Mittelwert der relativen Kollagenaseaktivität trat mit $E = 0,77$ im Cluster 4/1 auf. Durch die Varianzanalyse wurden bei den Messwerten signifikante Unterschiede zwischen den vier Clustern für Eiweiß, Peroxidase, NAG, Interleukin-6 und Interleukin-1 β aufgezeigt. Der Duncan-Test präziserte diese Aussage dahingehend, dass die Eiweißkonzentrationen in Cluster 4/1 signifikant größer waren als in Cluster 4/3 und bei Cluster 4/3 wiederum signifikant größer waren als bei den Clustern 4/2 und 4/4. Darüber hinaus waren die Konzentrationen in Cluster 4/4 in der Tendenz größer als in Cluster 4/2. Die in der Varianzanalyse ausgewiesenen signifikanten Unterschiede für Peroxidase zwischen den Clustern präziserte der Duncan-Test im Ergebnis wie folgt: Die Konzentrationen waren in Cluster 4/4 signifikant größer als in Cluster 4/1 und in Cluster 4/1 wiederum signifikant größer als in den Clustern 4/2 und 4/3, in denen fast gleiche Mittelwerte auftraten. Auch für NAG wies die Varianzanalyse signifikante Unterschiede aus, der Duncan-Test zeigte dann, dass die Aktivitäten der NAG im Cluster 4/1 signifikant höher und im Cluster 4/2 signifikant niedriger waren als in den Clustern 4/3 und 4/4, wobei im Cluster 4/3 dann noch eine Tendenz zu höheren Aktivitäten gegenüber Cluster 4/4 auftrat. Bei Interleukin-6 erweiterte der Duncan-Test die Aussage der Varianzanalyse dahingehend, dass die Konzentrationen im Cluster 4/1 signifikant höher lag als in den Clustern 4/2, 4/3 und 4/4. Der Cluster 4/3 zeigte darüber hinaus gegenüber den Clustern 4/2 und 4/4 eine Tendenz zu höherer Aktivität. Für Interleukin-1 β zeigte der Duncan-Test ein ähnliches Ergebnis wie für Interleukin-6. Der Cluster 4/1 hob sich mit signifikant höheren Konzentrationen von den Clustern 4/2, 4/3 und 4/4 ab. Der Cluster 4/4 zeigte weiterhin gegenüber den Clustern 4/2 und 4/3 eine Tendenz zu höheren Konzentrationen. Für Kollagenase wies die Varianzanalyse insgesamt eine Tendenz zu Unterschieden zwischen den Clustern aus. Der Duncan-Test präziserte einen signifikanten Unterschied zwischen den Clustern 4/1 und 4/3 mit höheren Aktivitäten für Cluster 4/3 sowie eine Tendenz zu höheren Aktivitäten in Cluster 4/2 gegenüber Cluster 4/1.

Der Kruskal-Wallis-Test wies signifikante Ergebnisse für Eiweiß, Peroxidase, NAG und Interleukin-1 β sowie Interleukin-6 und Kollagenase aus. Somit war bei allen untersuchten Komponenten der Lavageflüssigkeit mit Mittelwertdifferenzen zwischen den Clustern zu rechnen. Der U-Test bestätigte dann für Eiweiß wie auch für NAG, Interleukin-1 β und Interleukin-6 die höchsten Werte bei Cluster 4/1 und die kleinsten Werte für Cluster 4/2. Für Peroxidase wurden mit diesem Test die höchsten Werte für Cluster 4/4 und die geringsten Werte für die Cluster 4/2 und 4/3 ermittelt, für die relative Aktivität der

Kollagenase wies der U-Test die höchsten mittleren Aktivitäten für Cluster 4/3 aus sowie die geringsten Aktivitäten für Cluster 4/2.

Deskriptive Statistik für vier Cluster auf der Basis der spezifischen Aktivitäten

Die Beschreibung der spezifischen Konzentrationen bzw. Aktivitäten für diese vier Cluster ist Tabelle 26 zu entnehmen, ebenso die Ergebnisse der Varianzanalyse und des Kruskal-Wallis-Testes. Bei den spezifischen Aktivitäten fanden wir für Peroxidase den höchsten Mittelwert und die größte Standardabweichung im Cluster 4/4

Tab. 26: Deskriptive Statistik der spezifischen Aktivitäten sowie Ergebnisse der statistischen Tests für vier Cluster

Variable	Cluster	n	MW	s	Varianzanalyse		Kruskal-Wallis-Test	
					F	p	CQ	p
SPEZPER	gesamt	55	277,94	147,60	8,843	<0,001	31,23	<0,001
	4/1	9	0,355	0,117	Duncan-Test:		U-Test:	
	4/2	33	4,077	3,000	1,3<2<4		4>2,3,1	
	4/3	4	0,460	0,149			2>3,1	
	4/4	9	7,888	6,085			3=1	
SPEZNAG	gesamt	55	11,39	6,57	5,745	0,002	26,96	<0,001
	4/1	9	0,0183	0,0094	Duncan-Test:		U-Test:	
	4/2	33	0,1790	0,1330	1,3<4,2		2>4,3,1	
	4/3	4	0,0335	0,0125			4>3,1	
	4/4	9	0,1510	0,1250			3>1	
SPEZIL-6	gesamt	55	25,49	32,93	5,455	0,002	22,76	<0,001
	4/1	9	0,0641	0,07100	Duncan-Test:		U-Test:	
	4/2	33	0,3380	0,24538	3,1<2 3,1<4		2>4,1,3	
	4/3	4	0,0626	0,01920			4>1,3	
	4/4	9	0,2500	0,16790			1=3	
SPEZIL-1B	gesamt	55	1,05	1,26	2,120	0,109	7,005	0,072
	4/1	9	0,0027	0,00187	Duncan-Test:		U-Test:	
	4/2	33	0,0117	0,01690	3<4 1<4		4>2,1,3	
	4/3	4	0,0017	0,00175			2>1,3	
	4/4	9	0,0185	0,18300			1>3	
SPEZKOL	gesamt	55	0,94	0,24	9,657	<0,001	30,66	<0,001
	4/1	9	0,00083	0,000226	Duncan-Test:		U-Test:	
	4/2	33	0,01890	0,011500	1,3<4,2		2>4,3,1	
	4/3	4	0,00200	0,000355			4>3,1	
	4/4	9	0,01300	0,010700			3>1	

Im Cluster 4/1 traten der kleinste Mittelwert und die geringste Standardabweichung auf. Bei NAG lagen der größte Mittelwert und die größte Standardabweichung im Cluster 4/2 und die geringsten Werte im Cluster 4/1. Bei Interleukin-6 lag der größte Mittelwert im Cluster 4/2, der niedrigste Mittelwert lag im Cluster 4/1, wobei die Standardabweichung

mit 0,071 pg/mg EW ebenfalls am geringsten war. Bei Interleukin-1 β lag der größte Mittelwert im Cluster 4/4, der kleinste Mittelwert trat im Cluster 4/3 auf. Bei der Kollagenase lieferte Cluster 4/2 den höchsten Mittelwert und den niedrigsten Wert fanden wir im Cluster 4/1. Die Varianzanalyse wies auf signifikante Unterschiede bei den spezifischen Aktivitäten von Peroxidase, NAG, Interleukin-6 und Kollagenase hin. Der nachgeschaltete Duncan-Test zeigte dann, dass sich die Cluster 4/1 und 4/3 von den Clustern 4/2 und 4/4 bei Peroxidase, NAG, Interleukin-6, Interleukin-1 β und Kollagenase unterscheiden. Diese Unterschiede sind größtenteils signifikant, zum kleineren Teil aber auch nur als Tendenz zu erkennen. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 26 summarisch eingearbeitet und im Anhang Tabelle A1 im Einzelnen wiedergegeben. Der Kruskal-Wallis-Test wies signifikante Ergebnisse für die spezifischen Aktivitäten von Peroxidase, NAG, Interleukin-6 und Kollagenase aus. Bei der spezifischen Konzentration von Interleukin-1 β ergab sich eine Tendenz zu Unterschieden zwischen den Clustern. Der nachgeschaltete U-Test bestätigte dann die Aussagen aus dem Duncan-Test über die Beziehungen zwischen den vier Clustern. Einzelheiten dieser Testergebnisse sind Tabelle 27 zu entnehmen.

Um nach dem Kruskal-Wallis-Test festzustellen, wo die Unterschiede zwischen den Gruppen liegen, wurden die vier Cluster auch mittels U-Test in Kombinationen gegeneinander getestet. Die Ergebnisse für die Messwerte wie auch die spezifischen Konzentrationen bzw. Aktivitäten sind Tabelle 27 zu entnehmen. Beim Test des Clusters 4/1 gegen den Cluster 4/2 fanden wir für die Konzentrationen bzw. Aktivitäten bei Eiweiß, Peroxidase, NAG, Interleukin-1 β und Kollagenase sowie für die spezifischen Konzentrationen bzw. Aktivitäten bei Peroxidase, NAG, Interleukin-6 und Kollagenase signifikante Unterschiede. Eine Tendenz zur Signifikanz bestand bei der Konzentration von Interleukin-6 sowie der spezifischen Konzentration von Interleukin-1 β . Der Cluster 4/1 und der Cluster 4/3 ließen sich anhand von Eiweiß, Interleukin-1 β und Kollagenase sowie den spezifischen Aktivitäten von NAG und Kollagenase signifikant unterscheiden. Der Cluster 4/1 und der Cluster 4/4 unterschieden sich signifikant bezüglich Eiweiß, Peroxidase und NAG sowie anhand der spezifischen Aktivitäten von Peroxidase, NAG, Interleukin-6 und Kollagenase. Für die Aktivität der Kollagenase und die spezifische Aktivität von Interleukin-1 β wurde hier eine schwache Tendenz nachgewiesen. Beim Test des Clusters 4/2 gegen den Cluster 4/3 fanden wir signifikante Unterschiede bei Eiweiß und Interleukin-6 sowie den spezifischen Aktivitäten von Peroxidase, NAG, Interleukin-6 und Kollagenase.

Für die Aktivität von NAG sowie die spezifische Aktivität von Interleukin-1 β konnte eine schwache Tendenz aufgezeigt werden.

Tab. 27: Ergebnisse des U-Tests für den Vergleich der vier Cluster

Variable	Clustervergleich											
	4/1 : 4/2		4/1 : 4/3		4/1 : 4/4		4/2 : 4/3		4/2 : 4/4		4/3 : 4/4	
	z	p	z	p	z	p	z	p	z	p	z	p
EW	-4,552	<0,001	-2,777	0,003	-3,578	<0,001	-3,228	<0,001	-1,272	0,213	-2,777	0,003
PER	-3,602	<0,001	-1,697	0,106	-2,958	0,002	-0,196	0,869	-4,552	<0,001	-2,777	0,003
NAG	-3,050	0,001	-0,463	0,710	-1,987	0,050	-1,761	0,082	-1,027	0,318	-0,926	0,414
IL-6	-1,672	0,098	-0,309	0,825	-1,192	0,258	-2,595	0,006	-0,844	0,414	-1,852	0,076
IL-1 β	-3,694	<0,001	-2,160	0,034	-1,369	0,190	0,587	0,587	-2,100	0,035	-0,850	0,414
KOL	-2,253	0,023	-2,623	0,006	-1,722	0,094	-0,734	0,493	-0,996	0,333	-2,006	0,050
SPEZPER	-4,552	<0,001	-1,234	0,260	-3,576	<0,001	-3,228	<0,001	-1,793	0,075	-2,777	0,003
SPEZNAG	-4,491	<0,001	-2,160	0,034	-3,311	<0,001	-2,984	0,001	-0,843	0,414	-1,697	0,106
SPEZIL-6	-3,908	<0,001	-0,617	0,604	-2,782	0,004	-3,033	<0,001	-1,119	0,275	-2,315	0,020
SPEZIL-1 β	-1,793	0,075	0,926	0,414	-1,722	0,094	-1,712	0,092	-1,088	0,289	-1,543	0,148
SPEZKOL	-4,552	<0,001	-2,777	0,003	-3,576	<0,001	-3,228	<0,001	-1,517	0,135	-2,315	0,020

Für die signifikante Trennung der Cluster 4/2 und 4/4 waren nur Peroxidase und Interleukin-1 β geeignet, eine Tendenz zur Signifikanz lag bei der spezifischen Aktivität von Peroxidase vor. Die Cluster 4/3 und 4/4 waren anhand von Eiweiß, Peroxidase und Kollagenase sowie anhand der spezifischen Aktivität von Peroxidase, Interleukin-6 und Kollagenase signifikant unterscheidbar. Eine Tendenz wurde für Interleukin-6 ausgewiesen. In der Summe aller Tests bestanden zwischen den Clustern 4/1 und 4/2 die stärksten Unterschiede. Demgegenüber zeigten die Cluster 4/2 und 4/4 die geringsten Unterschiede.

Diskriminanzanalyse für vier Cluster auf der Basis der Messwerte

Die Diskriminanzanalyse wurde auf der Basis aller Messwerte außer Nitrotyrosin durchgeführt. Die Ergebnisse sind der Tabelle 28 zu entnehmen. Für eine Trennung der Gruppen wurden nur Eiweiß und Peroxidase herangezogen. In der Analyse wurde Eiweiß im ersten Schritt verarbeitet, in einem zweiten Schritt wurde die Kombination aus Eiweiß und Peroxidase zwischen den Clustern 4/2 und 4/3 sowie zwischen den Clustern 4/2 und 4/4 betrachtet. Hiermit wurden zwei Diskriminanzfunktionen gebildet, die beide einen signifikanten Beitrag zur Trennung der vier Cluster leisten, wie die Werte mit $\chi^2=225,89$ ($p<0,001$) für Funktion 1 sowie $\chi^2=57,625$ ($p<0,001$) für Funktion 2 belegen.

Tab. 28: Diskriminanzanalyse auf der Basis der Messwerte für vier Cluster

vorgegeben	PER, NAG, IL-1, IL-6, KOL		
Kriterien	p(in)=0,05 / p(out)=0,10; Mahalanobis-Abstand		
ausgewählt	EW, PER gebildete Funktionen: 2		
		Funktion 1+2	Funktion 2
Signifikanztest	CQ	225,89	57,625
	p	<0,001	<0,001
		Funktion 1	Funktion 2
standardisierte Koeffizienten	EW	1,016	-0,094
	PER	0,294	0,977
Gruppenzentroide	4/1	10,577	-0,298
	4/2	-2,957	-0,635
	4/3	2,552	-1,118
	4/4	-0,802	3,123
Kreuzvalidierung	98,2 % richtig zugeordnet		
Verschiebung von D(i) in Richtung ... bewirkt Zuordnung zu →	Höhere Werte: EW→4/1 (Fkt. 1), →4/3,4/2,4/1 (Fkt.2); PER→4/1 (Fkt. 1), →4/4 (Fkt. 2)		
	Geringere Werte: EW→4/2,4/4, (Fkt. 1), →4/4 (Fkt. 2); PER→4/2,4/4 (Fkt. 1), →4/4,4/2,4/3 (Fkt. 2)		

Mit Hilfe der kanonischen Diskriminanzfunktionskoeffizienten für Eiweiß und Peroxidase wurden zwei gemeinsame Funktionswerte errechnet, welche die Lage jedes Gelenkes und jedes Cluster-Zentroids im xy-Koordinatensystem festlegen. Der gegenseitige Abstand der Gruppen-Zentroide der Cluster 4/1 bis 4/4 ist in Abb. 15 dargestellt. Es ist zu ersehen, dass sich Cluster 4/1 anhand Funktion 1 von den Clustern 4/2, 4/4 und 4/3 abgrenzen lässt, während sich Cluster 4/4 anhand Funktion 2 von den anderen drei Clustern 4/3, 4/2 und 4/1 trennen lässt. Die Cluster 4/2 und 4/3 nehmen eine Mittelstellung ein. Unter Berücksichtigung der Achsenskalierung ergibt sich, dass sich Cluster 4/1 am stärksten von den anderen Clustern abgrenzen lässt; der Abstand des Clusters 4/4 ist dagegen nicht so groß. Die Ergebnisse der Klassifizierung mittels Kreuzvalidierung sind Tabelle 29 zu entnehmen. Von 55 gruppierten Gelenken wurden neun in den Cluster 4/1 eingeordnet, 33 Gelenke in den Cluster 4/2, vier Gelenke in den Cluster 4/3 und neun Gelenke in den Cluster 4/4. Den Clustern 4/1 bis 4/3 wurden alle Fälle richtig zugeordnet, in Cluster 4/4 wurden acht von neun Fällen dem Cluster 4/4 und einer dem Cluster 4/3 zugeordnet. Die Kreuzvalidierung ergab eine korrekte Klassifizierung der vorhergesagten Gruppen bezüglich der tatsächlichen Gruppen von 98,2 %. Insgesamt ergab sich somit, dass Gesamtprotein und Peroxidase die bestimmenden Variablen sind, die zur biochemischen Differenzierung der Gelenke herangezogen wurden.

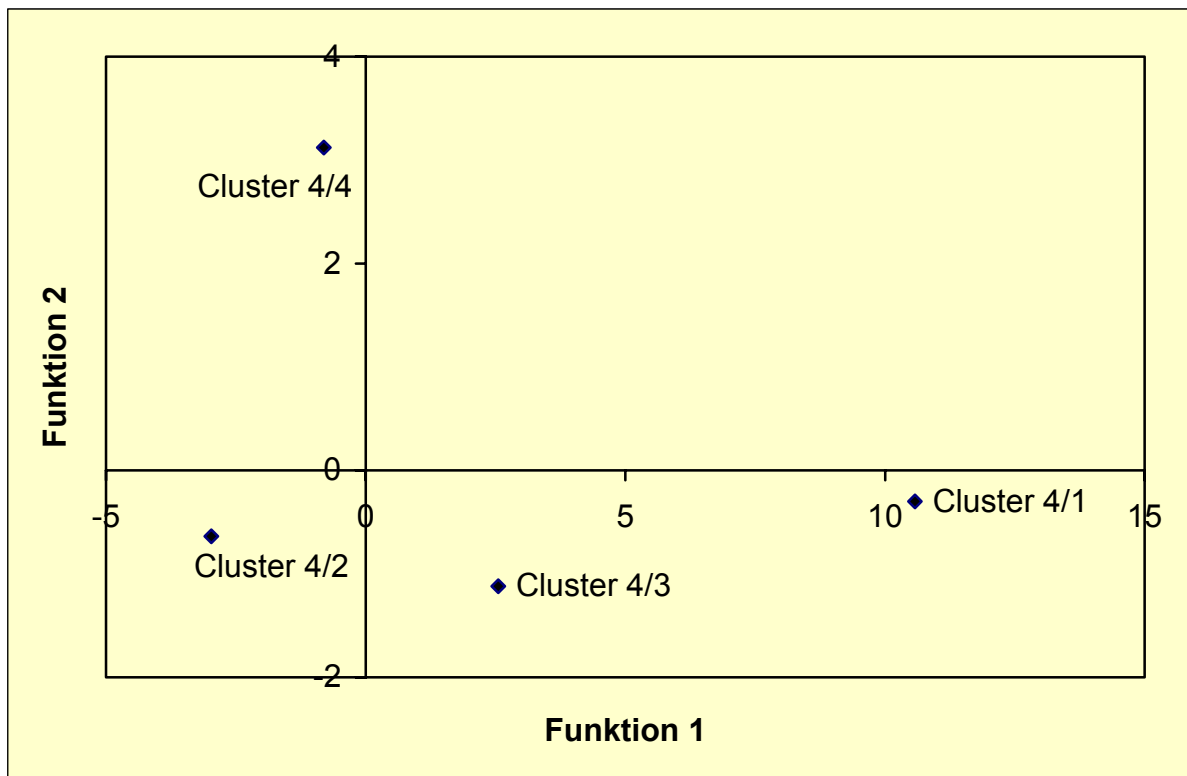


Abb. 9: Lage der Gruppenzentroide der vier Cluster gemäß Diskriminanzanalyse 3 anhand der 2 Diskriminanzfunktionen aus Eiweiß und Peroxidase

Tab. 29: Klassifizierungsergebnisse nach Kreuzvalidierung für vier Cluster

	Cluster	Vorhergesagte Gruppenzugehörigkeit				gesamt
		1	2	3	4	
Anzahl	1	9	0	0	0	9
	2	0	33	0	0	33
	3	0	0	4	0	4
	4	0	0	1	8	9
%	1	100	0	0	0	100
	2	0	100	0	0	100
	3	0	0	100	0	100
	4	0	0	11,1	88,9	100

Bei zusätzlicher Eingabe von spezifischen Aktivitäten wurden auch nur die Messwerte von Eiweiß und Peroxidase ausgewählt, die Diskriminanzanalyse verlief identisch. Auf ihre Darstellung wurde deshalb verzichtet.

5. Diskussion

Schon Helkimo (1979) stellte fest, dass wegen des Fehlens von einheitlich definierten wissenschaftlichen Kriterien für Cranio-Mandibuläre-Dysfunktionen unterschiedliche Klassifikationen existieren, woraus Unzuverlässigkeiten in der Diagnose sowie teilweise völlig verschiedene Therapiekonzepte resultieren. In einer Untersuchung von Emshoff u. Rudisch (2001) wurden klinische und radiologische Befunde von Kiefergelenken mit Cranio-Mandibulären-Dysfunktionen und Osteoarthritis miteinander verglichen. Im Ergebnis wurde eine schlechte Übereinstimmung erzielt, die verwendete Klassifizierung erwies sich als zu unzuverlässig. Einige der als wichtig angesehenen klinischen Anzeichen (Schmerz bei Palpation, Gelenkgeräusche) sind nur bedingt reproduzierbar. Auch Lohmander (1990) beklagte das Fehlen von pathobiochemischen Routinemethoden für die Diagnose präklinischer Stadien und die Erfassung voranschreitender Gelenkerkrankungen. In der vorliegenden Untersuchung sollte deshalb der Frage nachgegangen werden, ob eine biochemische Analyse der Lavageflüssigkeit, die bei der Arthroskopie zwangsläufig anfällt, zur Differentialdiagnose Cranio-Mandibulärer-Dysfunktionen beitragen kann. Der arthroskopischen Lavage wurde in einer Studie durch von Lindern (2000) eine gute diagnostische Wertigkeit zugesprochen. Allerdings gibt es für den Umgang mit Lavageproben sowie die Analyse der Synovialflüssigkeit keine wissenschaftlich einheitlichen Standards (Shmerling 1994). Korger-Najary (2003) führte einen Vergleich von Befunden aus transkranieller Röntgenaufnahme, MRT und Arthroskopie unter Berücksichtigung der Befunde aus klinischer Untersuchung durch. Mit Hilfe von Elementarsätzen und nachfolgender Auswertung mit dem Kappa-Übereinstimmungstest konnten sowohl die Patientenbefunde innerhalb der einzelnen Verfahren verglichen als auch die Stärken und Schwächen der verschiedenen Verfahren herausgestellt werden. Die ermittelten Befunde aus der Arthroskopie waren aus diagnostischer Sicht mit denen aus der offenen Gelenkchirurgie vergleichbar. Im Vergleich zum MRT sind Form- und Lageveränderungen des Diskus mittels Arthroskopie besser zu beurteilen.

Alle Lavageproben der vorliegenden Untersuchung wurden im Rahmen eines arthroskopischen Eingriffs am Kiefergelenk gewonnen. Die Ursache für Blutanteile in den Proben liegt in der zwangsläufigen Verletzung während des operativen Vorgehens beim Punktieren des oberen Gelenkspaltes. Es ließen sich in einer Voruntersuchung aber keine Zusammenhänge zwischen der Stärke der Verfärbung der Proben durch Hämoglobin und den gemessenen Lavageflüssigkeitsparametern herstellen. Auch zum Symptom Schmerz

konnte keine statistisch relevante Verbindung gefunden werden. Zardeneta et al. (1997) fanden jedoch Hämoglobin in erkrankten Kiefergelenken, welches sich nachweislich schon vor der Arthrocentese in der Synovialflüssigkeit befand.

Peroxidase

Die Untersuchungsergebnisse für den Parameter Peroxidase ließen eine Differenzierung der stärker und schwächer geschädigten Gelenke erkennen. Ein Gewebeschaden, ausgelöst durch unterschiedliche Noxen führt zu einer vermehrten Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies und freien Radikalen durch aktivierte Phagozyten, Austritt von Übergangsmetallen aus deren Speichern und aus dem Hämoglobin und Enzymaktivierung (Halliwell, 1995). Letztere wäre eine Erklärung für die vermehrte Anwesenheit von Peroxidase in der Synovialflüssigkeit stärker geschädigter Kiefergelenke. In der Diskriminanzanalyse auf der Basis der Einteilung V1 stellte sich Peroxidase zusammen mit Eiweiß als geeigneter Parameter für eine Gruppentrennung heraus, wobei hohe Peroxidasewerte eine Zuordnung zur Gruppe 3 und niedrige Peroxidasewerte eine Zuordnung zur Gruppe 1 bewirkten. Man kann also vermuten, dass die in der Gruppe 3 befindlichen, stärker geschädigten Gelenke durch einen hohen Peroxidasespiegel einen ausgeprägteren Entzündungszustand repräsentieren. Allerdings ergab die Überprüfung der Ergebnisse mittels Kreuzvalidierung eine Richtigkeit der Zuordnung der Gelenke von nur 65 %, so dass keine klinische Verwertbarkeit vorliegt. Gemäß dem Einteilungsschema V2, in dem die klinisch schwächer geschädigten Gelenke den deutlich stärker geschädigten gegenübergestellt wurden, fanden sich hier bei der deskriptiven Statistik für die Gruppe 2 höhere Werte als für die Gruppe 1. Auch die statistischen Tests und die Diskriminanzanalyse belegten mit signifikanten Werten bei den normalen Aktivitäten eine Gruppentrennung durch Peroxidase. Wie Tabelle 15 zu entnehmen ist, wurden durch die Peroxidase die gar nicht oder wenig geschädigten Gelenke zu 73,9 % richtig zugeordnet. Dagegen wurden die nach klinischen Gesichtspunkten stärker geschädigten Gelenke nur zu 43,3 % richtig zugeordnet, d.h. der größere Teil dieser Gelenke wurde anhand der Peroxidaseaktivität den schwächer geschädigten Gelenken zugerechnet. Auch die Clusteranalysen belegten eine Trennung der Gelenke anhand von Peroxidase. In der Diskriminanzanalyse auf der Basis von zwei Clustern wurden die spezifischen Aktivitäten von Peroxidase und N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase für eine Trennung der Cluster ausgewählt. Hohe Werte der spezifischen Aktivität von Peroxidase bewirkten eine Zuordnung zum Cluster 2/2, d.h. zur Gruppe mit den stärker geschädigten Gelenken. Dieses Ergebnis kann als relevant angesehen werden, da eine Richtigkeit der Zuordnung durch die

Kreuzvalidierung mit 100% bestätigt wurde. Die Untersuchungsergebnisse der Varianzanalyse und des Kuskal-Wallis-Testes auf der Grundlage der Bildung von vier Clustern waren für die normale und für die spezifische Aktivität der Peroxidase signifikant. Der U-Test sagte aus, dass mit Hilfe der normalen und der spezifischen Aktivität der Peroxidase eine Abgrenzung der Cluster 4/1 und 4/2, 4/1 und 4/4, 4/2 und 4/4 sowie 4/3 und 4/4 möglich ist. Anhand der spezifischen Aktivität lassen sich auch noch die Cluster 4/2 und 4/3 trennen. Die Diskriminanzanalyse belegte, dass Peroxidase zusammen mit Eiweiß geeignet ist, die vier Cluster zu trennen. In der Summe der Ergebnisse werden jedoch vor allem die Cluster 4/1 und 4/4 voneinander getrennt. Die Zuordnung der Cluster ergab nach der Kreuzvalidierung eine Richtigkeit von 98,2 %, wie Tabelle 29 zu entnehmen ist. Nach diesen Ergebnissen kann man davon ausgehen, dass stärker geschädigte Gelenke einen höheren Peroxidasespiegel aufweisen.

Eiweiß

Auch die Untersuchungsergebnisse von Eiweiß erlaubten Rückschlüsse auf eine Einteilung in stärker und schwächer geschädigte Gelenke anhand dieses Parameters.

Gemäß der Gruppeneinteilung VI konnten für Eiweiß keine signifikanten Ergebnisse mit Hilfe der statistischen Tests nachgewiesen werden. Bei der Diskriminanzanalyse jedoch wurde Eiweiß in Kombination mit Peroxidase als geeignete Größe für eine Gruppentrennung ausgewählt. Höhere Eiweißkonzentrationen führten zu einer Verschiebung der Zuordnung zur Gruppe 3, also zu den stärker geschädigten Gelenken, niedrigere Eiweißwerte bewirkten eine Verschiebung in Richtung Gruppe 1. Es lässt sich vermuten, dass anhand erhöhter Eiweißwerte Gelenke mit einer stärkeren Entzündung erkennbar sind, jedoch ist eine Richtigkeit von nur 65% nicht klinisch verwertbar. Stärker noch als bei der Gruppeneinteilung zeichneten alle Clusteranalysen Eiweiß für eine Eignung zur Trennung der Cluster aus, so dass man nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen davon ausgehen kann, dass Kiefergelenke mit stärkerer Schädigung hohe Eiweißkonzentrationen in der Synovialflüssigkeit aufweisen.

In den Untersuchungen von Zardeneta et al. (1997) war Serumalbumin das prominenteste Protein. Der Autor konnte eine Korrelation zwischen der α -Hämoglobin-Konzentration und der Schmerzintensität nachweisen. Außerdem gelang es, hohe Proteinwerte in Kiefergelenken mit Cranio-Mandibulärer-Dysfunktion durch Arthrocentese des oberen Gelenkspaltes zu senken. Takahashi et al. (1999) untersuchten die Lavageflüssigkeit von Patienten mit Kiefergelenkdysfunktionen, wobei 2 ml Saline zehnmal aspiriert und erneut injiziert wurden. Im Vergleich der Patienten mit und ohne Schmerzangabe traten höhere

Proteinwerte bei denen mit Schmerzen auf. Die großen Unterschiede innerhalb dieser Gruppe (0,56-5,36 mg/ml) zeigen, dass offensichtlich verschiedene Gruppen in dieser Gruppe mit Schmerzen enthalten waren, die nicht näher differenziert wurden, ähnlich wie in der vorliegenden Arbeit. Suzuki et al. (1999) untersuchten das Auftreten des knochenbildenden Proteins 2 (bone morphogenetic protein-2/ BMP-2) an Patienten mit CMD. Es zeigte sich eine prädominante Lokalisation von BMP-2 in den Chondrozyten rund um die zerstörten Diskusflächen. Ratcliffe et al. (1996) analysierten die Synovialflüssigkeit aus Schultergelenken von 96 Patienten auf biochemische Marker, um Frühstadien einer Osteoarthritis zu identifizieren. Es wurden neben erhöhten Glycosaminoglykanen und Keratansulfat hohe Proteinwerte in der Synovialflüssigkeit von Gelenken mit gemäßigter und fortgeschrittener Osteoarthritis gefunden. Die Untersuchung zeigte deutlich, dass klinisch gesehen nur eine Abgrenzung der gesunden Gelenken von Gelenken mit fortgeschrittener Osteoarthritis möglich war, während mit Hilfe der biochemischen Analyse auch Frühstadien der Osteoarthritis eindeutig zu identifizieren waren.

N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase

Die statistischen Tests der fünf klinischen Gruppen gemäß der Einteilung V1 zeigten für die Aktivität der N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase keine signifikanten Ergebnisse, auch nicht nach Ausschluss der zwei Gelenke aus der Gruppe 5. Beim Test der spezifischen Aktivitäten ließ sich die Gruppe 1 von den Gruppen 2, 3 und 4 deutlich trennen, gemäß der Einteilung V2 wiesen der t-Test und der U-Test die höheren Aktivitäten in der Gruppe 1, also der Gruppe mit den schwächer geschädigten Gelenken, zu. Dies steht nicht im Einklang mit den Ergebnissen von Kamada et al. (1993). Aus deren Studienergebnissen wurde geschlussfolgert, dass die N-Acetyl- β -D-Glucosaminidaseaktivität in der Synovialflüssigkeit den Grad der Dysfunktion des Kiefergelenkes widerspiegelt, d.h., dass erkrankte Gelenke höhere N-Acetyl- β -D-Glucosaminidasewerte aufwiesen. Die Testergebnisse belegten bei der Untersuchung der Synovialflüssigkeit erkrankter Kiefergelenke signifikant höhere N-Acetyl- β -D-Glucosaminidaseaktivitäten bei Gelenken mit Osteoarthritis gegenüber Gelenken mit Cranio-Mandibulären-Dysfunktionen. Unsere Clusteranalysen lieferten signifikante Ergebnisse für eine Trennung der Cluster anhand von N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase, bzw. anhand der Kombination von N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase und Peroxidase bzw. Eiweiß. Da sich aus diesen Ergebnissen aber keine Beziehung zu den klinischen Fällen hinsichtlich der Verteilung der klinischen Gruppen auf die Cluster herstellen lässt, bleibt nur folgende Aussage: Der Parameter N-Acetyl- β -D-

Glucosaminidase war nach den vorliegenden Untersuchungen sowohl bei der Analyse der klinischen Gruppen als auch bei den Clusteranalysen für eine Kennzeichnung erkrankter Gelenke mit einer Schädigung geringeren Ausmaßes nur bedingt geeignet.

Interleukin-1 β

In der Diskriminanzanalyse der Messwerte wurde Interleukin-1 β auf der Grundlage der spezifischen Aktivitäten gemeinsam mit N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase zu einer Diskrimination ausgewählt. Dabei bewirkten hohe Werte der spezifischen Aktivität von Interleukin-1 β eine Verschiebung zur Gruppe 3, also zu den stärker geschädigten Gelenken. Kaneyama et al. (2002) berichteten im Vergleich zu gesunden Gelenken über erhöhte spezifische Konzentrationen von Interleukin-1 β in der Synovialflüssigkeit Kiefergelenk-diskusdislokation mit Reposition. Bei Diskusdislokation ohne Reposition bzw. mit Osteoarthritis allerdings gelang ein Nachweis dieses Zytokins nur in 38 % der Gelenke. Nishimura et al. (2002) konnten dagegen keine Korrelation der spezifischen Konzentration von Interleukin-1 β mit dem Index der Synovitis oder anderen klinischen Indizes finden. Die Beziehungen dieses Zytokins zu den Kranio-Mandibulären-Dysfunktionen müssen somit als unklar angesehen werden. Auch in dieser Arbeit wurde bei der Diskriminanzanalyse einzelner Gruppenpaare der Einteilung V1 Interleukin-1 β nicht als geeignete Variable für eine Gruppentrennung ausgewählt. Gemäß dem Einteilungsschema V2 wies der t-Test für Interleukin-1 β ein signifikantes Ergebnis aus. Nach Alstergren et al. (1998 u. 1999) ist der Interleukin-1 β -Spiegel in der Synovialflüssigkeit von Kiefergelenken verbunden mit dem Grad von Gelenkschmerzen sowie auch indirekten klinischen Zeichen einer entzündlichen Erkrankung des Kiefergelenkes wie dem anterior offenen Biss. Interleukin-1 β scheint pathologische Gelenkzustände anzuzeigen, da in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit CMD mehr Interleukin-1 β gefunden wurde als in der Synovialflüssigkeit von Freiwilligen ohne Symptome (Kubota et al. 1997 u. 1998, Takahashi et al. 1998). Außerdem wurde eine Verbindung zwischen hohen Interleukin-1 β -Spiegeln und osteoarthritischen Veränderungen nachgewiesen. Die durchgeführte Clusteranalyse scheint diese Ergebnisse zu bestätigen, denn sie zeigte eine deutliche Trennung des Clusters 4/1, der vermutlich die stärker geschädigten Gelenke enthielt, von den Clustern 4/2, 4/3 und 4/4 sowie die Abgrenzung des Clusters 4/4 von den Clustern 4/1, 4/2 und 4/3.

Nordahl et al. (1997) beschrieben die Rolle von Interleukin-1 β bei Schädigungen des Kiefergelenkes aufgrund des induzierenden Effektes auf den Knochen- und Knorpelabbau und die stimulierende Wirkung auf Fibroblasten. Auch Kopp (1998) wies auf einen Zusammenhang zwischen hohen Interleukin-1 β -Spiegeln in der Synovialflüssigkeit von

Kiefergelenken und Kiefergelenkschmerzen sowie dem anterior offenen Biss als Zeichen einer Gelenkdestruktion hin. Saxne et al. (1988) dagegen sagten aus, dass es bezüglich des Knorpelstoffwechsels keine Beziehung zwischen der Aktivität von Interleukin-1 β in der Synovialflüssigkeit und der Freisetzung von Proteoglykanen gibt. Da die Gelenkoberfläche des Kiefergelenkes mit dichtem Fasergewebe bedeckt ist, während die meisten anderen Gelenke mit Hyalinknorpel bedeckt sind, könnten Unterschiede in der Reaktion zu anderen Gelenken bestehen. Deshalb sollte das Kiefergelenk mit dem Knie verglichen werden. Es bestand eine signifikante positive Korrelation zwischen der Konzentration an IL-1 β und der histologischen Bewertung der Arthritis, ebenso zwischen IL-1 β und der Pannusbildung. Es bestand keine signifikante Differenz der IL-1 β -Konzentration zwischen Kiefergelenk und Knie aber eine Korrelation zwischen IL-1 β und dem Schweregrad der Arthritis. Ähnliche Ergebnisse fanden sich auch bei klinischen Studien zu IL-1 β in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit rheumatoider Arthritis (Alstergren et al. 1998, Nordahl et al. 1998, Takahashi et al. 1998). Nach Kopp (1994) haben 30-50 % der Patienten mit rheumatoider Arthritis auch Symptome mit dem Kiefergelenk. Entzündungsmediatoren wie Zytokine, Matrix-Metalloproteinasen und andere Proteinasen, die den Knorpelabbau einleiten, scheinen hierbei eine Rolle zu spielen (Lark et al. 1997). Bei rheumatoider Arthritis korrelierten die IL-1 β -Konzentrationen in der Synovialflüssigkeit des Knies bei Mensch und Tier mit der lokalen Entzündungsaktivität wie auch dem Grad der Zerstörung (Henderson et al. 1998, Rooney et al. 1990)

Interleukin-6

Die Untersuchungen von Sandler et al. (1998) zeigten, dass die Anwesenheit von Interleukin-6 in der Synovialflüssigkeit von Kiefergelenken mit dem Grad akuter Sinusitis korreliert. Auch Georganas et al. (2000) fanden im Zusammenhang mit Gelenken, die aufgrund einer Rheumatoidarthritis entzündet und geschädigt waren, erhöhte Aktivitäten von Interleukin-6 und Interleukin-8. Die Untersuchungen von Fu et al. (1995) belegten, dass eine erhöhte Konzentration von Interleukin-6 in der Synovialflüssigkeit von Kiefergelenken möglicherweise mit dem akuten Stadium einer degenerativen Gelenkerkrankung oder einer Diskusdislokation in Verbindung gebracht werden kann. Nishimura et al. (2002) belegten bei Patienten mit Cranio-Mandibulärer-Dysfunktion bzw. Osteoarthritis eine signifikante positive Rangkorrelation der spezifischen Konzentration des Interleukin-6 in der Synovialflüssigkeit von Kiefergelenken mit einem Index, der die Schwere der Synovitis ausdrückte. Die Korrelation war mit $r=0,32$ / $p=0,02$ allerdings nicht allzu stark. Nach Kaneyama et al. (2002) traten bei Patienten, die an

Kiefergelenkdiskusdislokation mit und ohne Reposition oder an Osteoarthritis litten im Vergleich zu Gesunden signifikant erhöhte spezifische Konzentrationen von Interleukin-6 auf. Außerdem waren die Werte bei Osteoarthritis gegenüber beiden Formen der Diskusdislokation signifikant erhöht. Kubota (1998) fand Hinweise darauf, dass die Zytokine Interleukin-1 und Interleukin-6 als Induktoren der aktiven Formen von Metalloproteinasen (MMP-9 und MMP-2) potentielle katabolische Marker der Knorpelzerstörung im Kiefergelenk sind. Dabei wurden signifikante Unterschiede zwischen Interleukin-1 β bzw. Interleukin-6 in Gelenken mit Osteoarthritis und den Zytokinpiegeln in Gelenken mit Cranio-Mandibulären-Dysfunktionen gemessen. In einer Studie von Nishimura et al. (2004) wurde die Synovialflüssigkeit von Patienten mit diagnostizierter CMD nach Arthrocentese auf die Konzentrationen von Interleukin-1 β , Interleukin-6, Interleukin-8 und Tumornekrosefaktor- α untersucht. Bei den Patienten, bei denen die Arthrocentese als nicht erfolgreich eingestuft wurde, fanden sich signifikant erhöhte Werte von Interleukin-1 β und Interleukin-6. Segami et al. (2002) fanden in der Synovialflüssigkeit erkrankter Kiefergelenke mit nachgewiesenem Erguss signifikant höhere Konzentrationen an Gesamtprotein und Interleukin-6 gegenüber solchen Gelenken ohne Erguss. Da Interleukin-6 in den vorliegenden Untersuchungen lediglich bei den Clusteranalysen zur Abgrenzung der Cluster voneinander geeignet war, ließen die Ergebnisse keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen dem Grad der Dysfunktion der Kiefergelenke und der Aktivität von Interleukin-6 erkennen. In der Literatur werden die höchsten Werte des Interleukin-6 bei Patienten mit Osteoarthritis, also bei ausgeprägten Entzündungen angegeben. Die Clusteranalyse mit vier Clustern bestätigt möglicherweise diese Ergebnisse, denn sie führte zu einer Trennung des Clusters 4/1 von den Clustern 4/2, 4/3 und 4/4, wobei im Cluster 4/1 die stärker geschädigten Gelenke vermutet werden.

Nitrotyrosin

In der Literatur finden sich Hinweise auf eine Bedeutung des Nitrotyrosins bei entzündlichen Vorgängen im Organismus. So wiesen Haddad et al. (1994) anhand von Nitrotyrosin toxische Spiegel von Peroxinitrit bei Patienten mit akuten Lungenschäden nach. Ter-Steege et al. (1998) fanden erhöhte Nitrotyrosinwerte in Plasmaproben von Zöliakiepatienten, bei Kontrollproben war keine Erhöhung festzustellen. Nach glutenfreier Diät nahmen die Nitrotyrosinkonzentrationen ab, was als Zeichen für einen Zusammenhang mit Entzündungen im Darm gewertet wurde. Takahashi et al. (1999) konnten erhöhte Werte von Stickstoffmonoxid in der Synovialflüssigkeit mit der Pathogenese der Knorpeldegeneration des Kiefergelenkes in Zusammenhang bringen.

Die Untersuchung der Lavageproben auf die Konzentration von Nitrotyrosin brachte in der vorliegenden Studie keine verwertbaren Ergebnisse. In nur sechs von 55 Lavageproben konnte Nitrotyrosin nachgewiesen werden, darunter befanden sich Proben mit extrem hohem und mit extrem niedrigem Nitrotyrosingehalt. Da beide Phänomene nicht zu erklären waren und sich kein Bezug zu den vorliegenden klinischen Befunden herstellen ließ, wurde Nitrotyrosin in der statistischen Auswertung der Parameter weitgehend vernachlässigt.

Kollagenase

Nach einer Studie von Zardeneta et al. (1998), in der Lavageproben von Patienten mit Kiefergelenkerkrankungen auf die Aktivität der Metalloproteinase in der Synovialflüssigkeit untersucht wurden, ließen sich signifikant hohe Konzentrationen von aktiver Metalloproteinase nachweisen. Es fand sich jedoch keine Korrelation zwischen der von den Patienten angegebenen Schmerzintensität und der Proteaseaktivität. Bei den vorliegenden Untersuchungen fiel auf, dass sowohl bei Gelenken mit geringen als auch hohen Kollagenasewerten in der Lavageflüssigkeit von den Patienten überwiegend keine Schmerzen angegeben wurden. Das könnte darauf hinweisen, dass Kollagenase Schädigungen im Gelenk anzeigt, jedoch nicht mit akuten Entzündungsprozessen korreliert. Mizui et al. (2001) untersuchten die Aktivität von Matrix-Metalloproteinase in der Synovialflüssigkeit von 86 Patienten mit Kiefergelenkerkrankungen sowie zehn gesunden Patienten. Die Erkrankten wurden in eine Gruppe mit Osteoarthritis und eine mit sonstigen Schädigungen unterteilt. Es zeigte sich, dass eine Korrelation zwischen dem Grad der Schädigung und der MMP-Aktivität vorlag, wobei die Werte der Matrix Metalloproteinase in der Gruppe mit Osteoarthritis am höchsten waren. Srinivas et al. (2001) fanden in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit leichten Cranio-Mandibulären-Dysfunktionen höhere Kollagenaseaktivitäten als bei Patienten mit schweren Störungen. Es wurde vermutet, dass die hohen Spiegel in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit geringer CMD möglicherweise die aktive Phase der Zerstörung des Kiefergelenkes widerspiegeln. Kubota et al. (1998) wiesen in der Synovialflüssigkeit von Kiefergelenken verschiedene Kollagenasetypen nach. Vignon et al. (1989) untersuchten die Synovialflüssigkeit von 26 an Osteoarthritis oder Rheumatoidarthritis erkrankten Kniegelenken. Kollagenase in seiner totalen Form wurde in 80,7 % und Stromelysin in 69,2 % der osteoarthritischen Gelenke gefunden. In der aktiven Form wurde Kollagenase zu 53,8 % bei Osteoarthritis und zu 90% bei Rheumatoidarthritis nachgewiesen. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung ließen dagegen keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen dem Grad der Dysfunktion

der Kiefergelenke und der Aktivität von Kollagenase erkennen. So ließen sich lediglich nach dem U-Test die schwach geschädigten Gelenke der Gruppe 1 von den stärker geschädigten der Gruppe 3 trennen. In den Clusteranalysen ergaben sich für Kollagenase bedeutsamere Ergebnisse als bei den Messwerten. Bei der Diskriminanzanalyse von zwei Clustern auf der Basis der Messwerte begünstigten hohe Konzentrationen von Kollagenase eine Zuordnung zum Cluster 2/2. Die Klassifizierung war zu 100% korrekt. Auch in der Clusteranalyse mit vier Clustern trat Kollagenase mit signifikanten Testergebnissen in Erscheinung. Der Duncan-Test zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den Clustern 4/1 und 4/3 sowie zwischen 4/2 und 4/1. Der U-Test bestätigte ebenfalls eine Trennung der Cluster. Der Cluster 4/3 ließ sich signifikant von den Clustern 4/1, 4/2 und 4/4 trennen, der Cluster 4/2 unterschied sich von den Clustern 4/1 und 4/4 und der Cluster 4/4 vom Cluster 4/1. Auch bei den spezifischen Aktivitäten ließen sich die Cluster anhand des Duncan-Tests und des U-Testes deutlich abgrenzen. Der U-Test der vier Cluster in Kombination gegeneinander zeigte, dass anhand von Kollagenase die Cluster 4/1 und 4/2, 4/1 und 4/3, 4/1 und 4/4 sowie 4/3 und 4/4 trennbar waren. Die Abgrenzung der Cluster 4/2 und 4/4 war nur anhand der spezifischen Aktivität der Kollagenase möglich.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die untersuchten Parameter anhand der klinischen Gruppeneinteilung nur beschränkte Aussagen hinsichtlich der Schädigung der Kiefergelenke zulassen. Auch durch das Phänomen Schmerz ließ sich die klinische Zuordnung der untersuchten Gelenke nicht untermauern. Die Schmerzangabe wies mit keinem der untersuchten biochemischen Parameter einen Zusammenhang auf. Nun ist gerade der Schmerz eine sehr subjektive Empfindung, die sich auf wissenschaftlicher Basis kaum auf Richtigkeit überprüfen lässt, denn Messungen sind nur bedingt reproduzierbar (DeBoever, 1979). In den vorliegenden Untersuchungen ging das Symptom nur mit einer ja-oder nein-Antwort in die Anamnese ein. Eine gewisse Differenzierung von Zuständen individueller Missempfindung bis zu starken Schmerzen wäre durch die Verwendung einer Schmerzskala, auf der die Patienten ihre Schmerzintensität einordnen, gegeben. Ebenso schwierig ist der zurückliegende Zeitraum bestehender Schmerzen einzuschätzen. Gerade, wenn die Beschwerden schon länger bestehen, sind die Patienten sich bei ihren Angaben häufig unsicher. Bei dieser Problematik ist auch zu berücksichtigen, dass Cranio-Mandibuläre-Dysfunktionen multifaktoriell bedingt sind und dass bestimmte ätiologische Faktoren schon lange vorhanden gewesen sein können, ehe der Patient Schmerzen empfindet.

Die vorgegebenen klinischen Gruppen ließen sich anhand der untersuchten Lavageflüssigkeitsparameter nicht ausreichend stark unterscheiden, um den Parametern eine diagnostische Verwertbarkeit zuzuschreiben. Immerhin waren aber bei N-Acetyl- β -D-glucosaminidase, Interleukin-1 β , Peroxidase, Eiweiß und Kollagenase die Gruppen 1 und 3 voneinander trennbar, d.h. die Gruppe 3 mit den stärker geschädigten Gelenken hob sich von der Gruppe 1 mit den schwach geschädigten Gelenken ab. Leider trat dieses Ergebnis für die einzelnen Parameter nur bei verschiedenen Einteilungsvarianten und bei unterschiedlichen Tests auf, so dass keine Einheitlichkeit nachweisbar war.

Ein Abgleich der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit denen von Großkopf (2005) ,der Lavageflüssigkeitsanalysen am Tiermodell für das Kiefergelenk des Schweins vornahm, lieferte nachstehende Aussagen: Zunächst ist zu beachten, dass die Lavageflüssigkeitsproben von Großkopf um den Faktor 2,5-10 stärker verdünnt wurden als die Proben dieser Arbeit. In der Summe ließen sich für Gesamteiweiß und Peroxidaseaktivität gleichartige biochemische Veränderungen ermitteln, während sich für N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase und Interleukin-1 β unterschiedliche Veränderungen ergaben. Diese Unterschiede könnten eventuell darauf zurückzuführen sein, dass in der vorliegenden Arbeit Spülungen am Gelenk vorgenommen wurden, die schon über mehrere Monate bzw. Jahre eine Symptomatik aufwiesen und auf verschiedenste Weise therapiert wurden, während in der Arbeit von Großkopf vergleichsweise kurzfristige Veränderungen der Gelenke innerhalb von maximal acht Wochen untersucht wurden.

Jede biochemische Analyse zur Unterscheidung von verschieden geschädigten Gelenken setzt voraus, dass ein „Goldstandard“ für die klinische Einteilung vorhanden ist. Es muss in Betracht gezogen werden, dass die anhand rein klinischer Kriterien erfolgte Einstufung nicht ausreichend genau unterscheidbare Gruppen liefert. Daher wurde die Beweisführung umgekehrt und mit der Clusteranalyse versucht, unter den untersuchten Gelenken Gruppen zu finden, die sich anhand der biochemischen Parameter deutlich voneinander unterscheiden. Die Clusteranalysen lieferten insgesamt interessantere Werte, wobei die Clusteranalyse mit vier Clustern für alle sechs Parameter signifikante Ergebnisse für eine Trennung der Cluster brachte. Am deutlichsten wurde der Cluster 4/1, der offensichtlich stärker geschädigte Gelenke repräsentiert, abgegrenzt. Für eine Diskriminierung wurden nur Eiweiß und Peroxidase ausgewählt, d.h. die Clusterbildung erfolgt einzig auf der Grundlage dieser beiden Parameter. Bei N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase waren die Unterschiede so schwach, dass sie nur anhand der Kombination mit Eiweiß und Peroxidase für eine Diskriminierung ausreichten. Es muss nach unseren Untersuchungen davon

ausgegangen werden, dass Eiweiß und Peroxidase Gelenke mit entzündlichen Veränderungen anzeigen. Diese waren ausschließlich im Cluster 2/1 bzw. 4/1 zu finden. Die meisten der Gelenke aus dem Cluster 1 entstammten der klinischen Gruppe 3, wo die stark geschädigten Gelenke eingeordnet waren. Eine hinterher geschaltete Diskriminanzanalyse sollte Aufschluss darüber geben, welche Parameter für die Clusterbildung die stärkste Bedeutung haben. Die mit Abstand höchste Bedeutung erlangte Eiweiß bei einer richtigen Zuordnung von 95-100 %. Somit kann man anhand der Lavageflüssigkeit feststellen, welche Gelenke sich tatsächlich in einer Phase der akuten Entzündung befinden und welche nichtentzündliche Veränderungen aufweisen, so dass auch entsprechende therapeutische Maßnahmen getroffen werden können.

Die Bestimmung von löslichem Eiweiß ist eine relativ einfache Methode. Mit dieser einfachen und kostengünstigen Methode allein könnten nach der vorliegenden Studie akut entzündete Gelenke herausgefiltert werden, was die diagnostische Bedeutung der Lavageflüssigkeituntersuchung betont.

Anhand der einfachen Korrelation zwischen dem arthroskopischen Befund und den ermittelten biochemischen Lavageparametern ließ sich nicht direkt auf den Status des Gelenkes schließen. Dies könnte damit erklärt werden, dass die funktionellen Veränderungen am Kiefergelenk, die arthroskopisch erfasst werden können, nicht mit den biochemischen zellulären Veränderungen in Umfang und Stärke korrelieren.

Das heißt, ein schlecht funktionierendes Kiefergelenk muß nicht immer auch in gleichem Maße aus biochemischer Sicht bzw. auf zellulärer Ebene geschädigt sein. Das könnte so interpretiert werden, dass einer funktionellen Erkrankung des Kiefergelenkes erst nach unterschiedlich langer Zeit eine manifeste zelluläre bzw. biochemisch mit unseren heutigen Methoden messbare Erkrankung nach sich zieht.

Für die Darstellung des zeitlichen Verlaufes einer Kiefergelenkerkrankung müsste eine sehr große Patientenzahl untersucht werden, um zu möglichst vielen Zeitpunkten der Gelenkerkrankung Messwerte zu ermitteln. Dies konnte mit der vorliegenden Untersuchung nicht geleistet werden.

Eine Schlussfolgerung für die Arthroskopie ist, dass die deskriptive Beschreibung der sichtbaren Synoviaoberfläche zu subjektiv und zu ungenau ist, um bei oft nur geringem Ausmaß der synovialen Reizung eine Klassifizierung nach dem Grad der entzündlichen Veränderungen vornehmen zu können. Besser wäre es, durch Entwicklung eines geeigneten Meßsystems die Lage des Diskus articularis rekapitulierbar zu bestimmen, denn eine

genaue arthroskopische Klassifikation anhand der Position des Diskus in Relation zum Tuberkulum könnte ein weiterer Fortschritt für die Kiefergelenkdiagnostik darstellen.

Aus heutiger Sicht wäre ein Ansatz dazu, mit Hilfe eines chirurgischen Navigationssystems die Diskusposition objektiv zu bestimmen.

Umgekehrt zeigt aber die in der vorliegenden Studie beschriebene Aufarbeitung der Lavageflüssigkeitsparameter durch Clusterbildung eine Gruppenbildung mit guter retrospektiver Zuordnungsgenauigkeit und mit signifikanten Gruppenunterschieden. Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass es zumindest für den Entzündungsgrad sinnvoller ist, das Ausmaß der zellulären Veränderungen bzw. der Gelenkerkrankung durch biochemische Parameter zu klassifizieren als nur allein durch die deskriptive Beschreibung der funktionellen Veränderungen. Dies trifft zumindest solange zu, bis es gelingt, eine besser rekapitulierbare makroskopische Klassifikation von Kiefergelenkarthroskopiefunden zu erreichen. Diese könnte vielleicht auch durch digitale fotografische Dokumentation oder computergesteuerter Analyse und Vermessung der Synoviaoberfläche erreicht werden. Für die Beurteilung der Kiefergelenkfunktion ist jedoch die Arthroskopie zum momentanen Zeitpunkt kaum zu ersetzen und steigt weiter in Ihrer Bedeutung, wenn sich mit der arthroskopischen Diagnostik minimalinvasiv arthroskopische Gelenkoperationen zur Verbesserung oder Wiederherstellung von Form und Funktion des Gelenkes verbinden lassen.

6 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war es, festzustellen, ob moderne biochemische Analysen von Lavageflüssigkeitsproben, die bei einer Kiefergelenkarthroskopie ohne zusätzliches Operationstrauma gewonnen werden können, zur Differentialdiagnose und zum besseren Verständnis der Pathogenese von Kiefergelenkerkrankungen beitragen können. Dazu wurde die Lavageflüssigkeit von 28 Patienten mit Kiefergelenkerkrankungen biochemisch untersucht. Die meisten Patienten (26) litten an Kiefergelenkdiskusdislokationen und Bandelongationen (Cranio-Mandibulären-Dysfunktionen), eine der häufigsten Kiefergelenkerkrankung. Nur 2 Patienten wurden auf Grund einer posttraumatischen Diagnose arthroskopiert und zunächst in die Studie mit einbezogen. Unmittelbar nach Punktion des oberen Gelenkspaltes erfolgte die Lavageprobenentnahme vor jeder anderen arthroskopischen Manipulation des betroffenen Kiefergelenkes. Alle untersuchten Kiefergelenklavageproben wurden nach der Schwere des arthroskopischen Befundes der Kiefergelenke anhand des OP-Berichtes (ein Operateur) einmal in fünf Gruppen und einmal in drei Gruppen eingeteilt. Die Lavageflüssigkeitsproben konnten dann anhand der Parameter Peroxidase, Gesamteiweiß, Interleukin-1 β , Interleukin-6, N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase, Nitrotyrosin und Kollagenase untersucht werden. Die Untersuchungsergebnisse wurden statistisch aufbereitet und mit der klinischen Gruppeneinteilung verglichen bzw. korreliert. Keine der ausgewerteten Einteilungsvarianten und Gruppenkombinationen brachte eine Übereinstimmung mit der Zuordnung zu den festgelegten klinischen Gruppen. Immerhin waren aber bei N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase, Interleukin-1 β , Peroxidase, Eiweiß und Kollagenase die Gruppen 1 und 3 voneinander trennbar, d.h. die Gruppe 3 mit den stärker geschädigten Gelenken hob sich von der Gruppe 1 mit den schwach geschädigten Gelenken ab. Leider trat dieses Ergebnis für die einzelnen Parameter nur bei verschiedenen Einteilungsvarianten und bei unterschiedlichen Tests auf, so dass keine Einheitlichkeit nachweisbar war. Deshalb wurde unabhängig von klinischen Vorgaben mit Hilfe der Clusteranalyse auf der Basis von zwei und vier Clustern versucht, Gruppen mit vergleichbarer biochemischer Reaktivität zu finden. Die Analyse von vier Clustern lieferte für alle sechs Parameter signifikante Ergebnisse für eine Trennung der Cluster. Am deutlichsten wurde der Cluster 4/1, der die aus arthroskopischer Sicht stärker geschädigten Gelenke repräsentierte, abgegrenzt. Die Clusterbildung erfolgte einzig auf der Grundlage der Parameter Eiweiß und Peroxidase. Es muss nach den vorliegenden Untersuchungen davon ausgegangen werden, dass die Parameter Eiweiß und Peroxidase am besten geeignet sind, subakut chronische

Entzündungen im Kiefergelenk zu beschreiben und anzuzeigen. Damit ist aus unserer Sicht die diagnostische Bedeutung der Lavageflüssigkeit gegeben, denn man muß bei Patienten mit CMD davon ausgehen, dass es nach einer entsprechend langen Manifestationsphase zu subakut chronischen Veränderungen im Kiefergelenk kommt.

In der Summe belegten die Clusteranalysen eine signifikante Trennung der Gelenke in zwei große Gruppen, Kiefergelenke mit bereits nachweisbarer Erkrankung auf biochemisch zellulärer Ebene und Gelenke, bei denen mit unseren heutigen labortechnischen Möglichkeiten noch keine biochemische Veränderung, die mit der Cranio-Mandibulären-Dysfunktion einhergingen, diagnostiziert werden konnten.

Da sich keine Korrelation zwischen den Lavageparametern und den oftmals mit diesem Erkrankungsbild einhergehenden Schmerzen fand, müssen die Gelenkbeschwerden nach unserem bisherigen Wissensstand gegebenenfalls auch nur mit einer Überreizung der Mechanorezeptoren des Bandapparates, mit Muskelkontraktionen und Myogelosen erklärt werden.

Ebenso ließ sich anhand der einfachen Korrelation zwischen dem arthroskopischen Befund und den ermittelten biochemischen Lavageparametern nicht direkt auf den Status des Gelenkes schließen. Dies könnte damit erklärt werden, dass die funktionellen Veränderungen am Kiefergelenk, die arthroskopisch erfasst werden können, nicht mit den biochemischen zellulären Veränderungen in Umfang und Stärke korrelieren.

Das heißt, ein schlecht funktionierendes Kiefergelenk muß nicht immer auch in gleichem Maße aus biochemischer Sicht bzw. auf zellulärer Ebene geschädigt sein, was bedeuten würde, dass einer funktionellen Erkrankung des Kiefergelenkes erst nach unterschiedlich langer Zeit eine manifeste zelluläre bzw. biochemisch mit unseren heutigen Methoden messbare Erkrankung nach sich zieht.

Für die detaillierte Darstellung des zeitlichen Verlaufes einer Kiefergelenkerkrankung müsste eine weitaus größere Anzahl von Lavageflüssigkeitsproben bei entsprechend großer Patientenzahl untersucht werden, um zu möglichst vielen Zeitpunkten der Gelenkerkrankung Messwerte zu ermitteln. Dies konnte mit der vorliegenden Untersuchung nicht geleistet werden und ist nur durch eine umfangreiche Multizenterstudie möglich.

Eine Schlussfolgerung für die Arthroskopie ist, dass die deskriptive Beschreibung der Synoviaoberfläche zu subjektiv und ungenau ist, um bei oft nur geringem Ausmaß der synovialen Reizung (wie in der vorliegenden Studie festgestellt) eine Klassifizierung nach dem Grad der entzündlichen Veränderungen vornehmen zu können. Besser wäre es, durch

Entwicklung eines geeigneten Meßsystems die Lage des Diskus articularis in Relation zum Tuberkulum articulare rekapitulierbar zu bestimmen, was bisher noch nicht gelungen ist.

Aus heutiger Sicht wäre ein Ansatz dazu, mit Hilfe eines chirurgischen Navigationssystems die Diskusposition objektiv zu bestimmen.

Umgekehrt zeigt aber die in der vorliegenden Studie beschriebene Aufarbeitung der Lavageflüssigkeitsparameter durch Clusterbildung eine Trennung in zwei Patientengruppen mit guter retrospektiver Zuordnungsgenauigkeit und signifikanten Gruppenunterschieden. Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass es zumindest für den Entzündungsgrad sinnvoller ist, das Ausmaß der zellulären Veränderungen bzw. der Gelenkerkrankung durch biochemische Parameter zu klassifizieren als nur allein durch die deskriptive Beschreibung. Dies trifft zumindest solange zu, bis es gelingt, eine besser rekapitulierbare makroskopische Klassifikation von Kiefergelenkarthroskopiefunden zu erreichen.

Für die Beurteilung der Kiefergelenkfunktion ist jedoch die Arthroskopie zum momentanen Zeitpunkt kaum zu ersetzen und steigt weiter in Ihrer Bedeutung, wenn sich mit der arthroskopischen Diagnostik minimalinvasiv arthroskopische Gelenkoperationen zur Verbesserung oder Wiederherstellung von Form und Funktion des Gelenkes verbinden lassen.

7. Literatur

Alstergren, P.; Ernberg, M.; Kvarnstrom, M.; Kopp, S. (1998): Interleukin-1 β in synovial fluid from the arthritic temporomandibular joint and its relation to pain, mobility and anterior open bite. *J Oral Maxillofac Surg* 56: 1059-1065.

Alstergren, P.; Kopp, S.; Theodorsson E. (1999): Synovial fluid sampling from the temporomandibular joint: sample quality criteria and levels of interleukin-1 β and serotonin. *Acta Odontol Scand* 57: 16-22.

Alstergren, P. (2000): Cytokines in temporomandibular joint arthritis. *Oral Dis* 6: 331-334.

Alstergren, P.; Benavente, P.; Kopp, C. (2003): Interleukin-1, interleukin-1 receptor antagonist, and interleukin-1 soluble receptor II in temporomandibular joint synovial fluid from patients with chronic polyarthritides. *J Oral Maxillofac Surg* 61: 1171-1178.

Arend, W.P.; Dayer, J.M. (1990): Cytokines and cytokine inhibitors or antagonists in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 33: 305-315.

Arend, W.P. (2001): Cytokine imbalance in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: the role of interleukin-1 receptor antagonist. *Semin Arthrit Rheum* 37: 644-652.

Berge, S.; Conrad, R.; Lindern, J.-J von; Niederhagen, B.; Appel, T.; Reich, R.H. (2000): Diagnostik von Kiefergelenkerkrankungen: Stellenwert der Epi-FFE-Gradienten-sequenz. *Dtsch Zahnärztl Z* 55: 282-284.

Cohen, A.S.; Brandt, K.D.; Krey, P.R. (1975): Synovial Fluid. In: Cohen A.S. (ed.): *Laboratory diagnostic procedure in the rheumatic diseases*, ed. 2. Little, Brown, Boston: 1-62.

Curran, S.; Murray, G. (2000): Matrix metalloproteinases: molecular aspects of their roles in tumour invasion and metastasis. *Eur J Cancer* 36: 1621-1630.

Dalström, L.; Widmark, G.; Carlsson, S. (2000): Changes in function and in pain-related and cognitive-behavioral variables after arthroscopy of temporomandibular joints. *Eur J Oral Sci* 108: 14-21.

DeBoever, J.A. (1979): Etiology and differential diagnosis. In: Zarb, G.A., Carlsson, G.E. (eds): *Temporomandibular joint. Function and dysfunction.* Copenhagen: Munksgaard, 1979: 171-187

Deby-Dupont, G.; Deby, C.; Lamy, M. (1999): Neutrophil myeloperoxidase revisited: its role in health and disease. *Intensivmedizin und Notfallmedizin* 36: 500-513.

Dinarello, C.A. (1989): Interleukin-1 and its biologically related cytokines. *Adv Immunol* 44: 153-205.

Eiserich, J.P.; Hristova, M.; Cross, C.E.; Jones, A.D.; Freeman, B.A.; Halliwell, B.; van der Vliet, A. (1998): Formation of nitric oxide-derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. *Nature* 391: 393-397.

Emshoff, R.; Rudisch, A. (2001): Validity of clinical diagnostic criteria for temporomandibular disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 91: 50-55.

Fu, K.; Ma, X.; Zhang, Z.; Pang, X.; Chen, W. (1995): Interleukin-6 in synovial fluid and HLA-DR expression in synovium from patients with temporomandibular disorders. *J Orofacial Pain* 9: 131-137.

Gaa, H.U. (1988): Physikalische und mikroanatomische Untersuchungen zur Strukturbiologie des Diskus artikularis. *Med. Diss., Tübingen.*

Gemsa, D.; Resch, K. (1997): Entzündung. In: Gemsa, D.; Kalden, J.R.; Resch, K.: *Immunologie.* 4. Aufl.; Georg-Thieme-Verlag: Stuttgart, New York: S. 135-158.

Georganas, C.; Liu, H.; Perlman, H.; Hoffmann, A.; Thimmapaya, B.; Pope, R.M. (2000): Regulation of IL-6 and IL-8 expression in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts: the dominant role for NF- κ B but not C/EBP- β or c-Jun. *J Immunol* 165: 7199-7206.

Gernet, W.; Rammelsberg, P. (2000): Kiefergelenkerkrankungen und Funktionsstörungen. In: Schwenzer, N.; Ehrenfeld, M.: Zahn-Mund- und Kieferheilkunde. Bd. 3; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, New York: S. 263-308.

Greiling, H.; Gressner, A.M. (1995): Lehrbuch der klinischen Chemie und Pathobiochemie. Schattauer-Verlag: Stuttgart, New York; S. 1115-1130

Großkopf, Frank (2005): Lavageflüssigkeitsuntersuchungen nach arthroskopischer Kiefergelenkchirurgie. Eine experimentelle Studie am Tiermodell. Med. Diss., Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

Gundlach, K. (1992): Kopf- und Gesichtsschmerz aus zahnärztlich-kieferchirurgischer Sicht. In: Naumann, H.H; Helms, J.; Heberhold, C.; Kastenbauer, E. (1992): Nase, Nasennebenhöhlen, Gesicht, Mundhöhle und Pharynx, Kopfspeicheldrüsen. Georg-Thieme-Verlag: Stuttgart, New York: S. 424-426.

Halliwell, B. (1995): How to characterize an antioxidant: an update *Biochem. Soc. Symp.* 61: 73-101.

Hallmann, L. (1980): Klinische Chemie und Mikroskopie. 11. Aufl.; Thieme Verlag: Stuttgart, New York: S. 130, 606.

Hambrock, H. (2001): Struktur-Funktionsbeziehungen der extrazellulären Calciumbindenden Proteine SC1/ Hevin und TSC-36 FRP. Inaugural-Diss., Universität Köln

Helkimo, M. (1985): Epidemiologische Untersuchungen der Funktionsstörungen des Kau-systems. In: Zarb, G.A.; Carlsson, G.E. (eds.): Physiologie und Pathologie des Kiefergelenks. Grundlagen und Praxis von Diagnose und Therapie. Quintessenz: Berlin: 197-215.

Helmy, M.; Shohayeb, M.; Helmy, M.H.; El-Bassiouni, E.A. (2001): Antioxidants as adjuvant therapy in rheumatoid disease. A preliminary study. Universität Alexandria/Egyp, Arzneimittel-Forschung 51: 293-298.

Henderson, B.; Rowe, F.M.; Bird, C.R.; Gearing, A.J.H. (1998): Production of interleukin-1 in the joint during the development of antigen-induced arthritis in the rabbit. Clin Exp Immunol 74: 371-376.

Holmlund, A. (1992): Diagnostic TMJ arthroscopy. Oral Surg Oral Diagn 3: 13-18.

Hori, M.; Okaue, M.; Harada, D.; Ono, M.; Goto, T.; Tada, Y.; Kamogawa, D.; Matsumoto, M.; Tanaka, H. (1999): Releasing severe adhesions around the eminence and the synovial portion of the TMJ: a clinical study of combined treatment using hydraulic lavage, arthroscopic surgery and rehabilitive therapy. J Oral Sci 41: 61-66.

Howard, A.; Israel, H.A. (1989): Synovial fluid analysis. Oral Maxillofac Surg Clin North Amer 1: 85-92

Indresano, A.T. (2001): Surgical athroscopy as the preferred treatment for internal derangements of the temporomandibular joint. J Oral Maxillofac Surg 59: 308-312.

Irwin, C.R.; Myrillas, T.; Smyth, M.; Doogan, J.; Rice, C.; Schor, S.L. (1998): Regulation of fibroblast-induced collagen gel concentration by interleukin-1 β . J Oral Pathol Med 27: 255-259.

Kaduk, W.M.H.; Stengel, B.; Pöhl, A.; Nizze, H.; Gundlach, K.K.H. (1999): Hydro-jet cutting: a method for selective surgical dissection of nerve tissue. J Cranio-Maxillofac Surg 27: 327-330.

Kaduk, W.M.H.; Metelmann, H.-R.; Gundlach, K.K.H. (2003): Das Landschwein als Modell für Ausbildung, wissenschaftliche Untersuchungen und Entwicklung neuer arthroskopischer Operationsmethoden am Kiefergelenk. Mund Kiefer GesichtsChir 4: 235-240.

Kaduk, W.M.H.; Wolf, E.; Metelmann, H.-R. (2005): Arthroskopische dorsale Kiefergelenkbandstraffung mittels Wasserstrahlskalpell. Eine experimentelle Studie am Landschwein. *Mund Kiefer Gesichtschir* 9: 29-35.

Kamada, A.; Fujita, A.; Kakudo, K.; Okazaki, J; Ida, M.; Sakaki, T. (1993): Changes in synovial fluid N-acetyl-beta-glucosaminidase activity in the human temporomandibular joint with dysfunction. *J Osaka Dent Univ* 27: 107-111.

Kaneyama, K.; Segami, N.; Nishimura, M.; Suzuki, T.; Sato, J. (2002): Importance of proinflammatory cytokines in synovial fluid from 121 joints with temporomandibular disorders. *Br J Oral Maxillofac Surg* 40: 418-423.

Kaneyama, K.; Segami, N.; Nishimura, M.; Sato, J.; Fujimura, K.; Yoshimura, H. (2004): The ideal volume for removing bradykinin, interleukin-6 and protein from temporomandibular joint by arthrocentesis. *J Oral Maxillofac Surg* 62: 657-661.

Keil, B.; Šormova, Z. (1965): *Laboratoriumstechnik für Biochemiker.* Akad. Verlagsges. Geest & Portig: Leipzig: S. 557

Kishimoto, T.; Akira, S.; Taga, T. (1992): Interleukin-6 and its receptor: A paradigm for cytokines. *Science* 258: 593-7.

Kleensiek, K.; Backertz, D.; Greiling, H. (1984): Pathobiochemische Mechanismen bei chronisch-entzündlichen Gelenkerkrankungen. In: Lang, H.; Greiling, H. (Hrsg.): *Pathobiochemie der Entzündung.* Springer-Verlag, Berlin: S. 203-225.

Klebanoff, S.J. (1992): Myeloperoxidase: occurrence and biological function. In: Everse, J.; Everse, K.; Grisham, M.B. (eds.): *Peroxidases in chemistry and biology.* CRC Press: Boca Raton, Fl: 1-35.

Klett R. (1986): Zur Biomechanik des Kiefergelenkknackens. *Dtsch Zahnärztl Z* 40: 206-210.

Koeck, B. (1995): Funktionsstörungen des Kauorgans, 3.Aufl.; Urban & Schwarzenberg: München, Wien, Baltimore: S. 169.

Kolb, J.K. (2003): Zytokinexpression und Arthrose am Modell der STR/ort Maus. Med. Diss. FU Berlin.

Kopp, S.; Wenneberg, B.; Clemensson, E. (1983): Clinical, microscopical and biochemical investigation of synovial fluid from temporomandibular joints. Scand J Dent Res 91: 33-41.

Kopp, S. (1994): Rheumatoid Arthritis. In: Zarb, G.A.; Carlsson, G.E.; Sessle, B.J.; Mohl, N.D. (eds.): Temporomandibular joint and masticatory muscle disorders. Munksgaard: Copenhagen: 346-366.

Kopp, S.; Wenneberg, B.; Haraldson, T.; Carlsson, G.E. (1985): The short term effect of intra-articular injections of sodium hyaluronat and corticosteroids on temporomandibular joint pain and dysfunction. J Oral Maxillofac Surg 43: 429-435.

Kopp, S. (1998): The influence of neuropeptides, serotonin and interleukin-1 β on temporomandibular joint pain and inflammation. J Oral Maxillofac Surg 56: 189-191.

Kordass, B. (2002): Computer-assisted instrumental functional diagnostics - state of development, possibilities, and limits. Int J Comput Dent Oct; 5(4): 249-69

Korger-Najary, M. (2003): Vergleichende Studie zur diagnostischen Wertigkeit von transkranieller Röntgenaufnahme, Magnetresonanztomogramm (MRT) und Kiefergelenk-arthroskopie unter Berücksichtigung des klinischen Befundes, kontrolliert durch offene Gelenkchirurgie. Med. Diss., Philipps-Universität Marburg.

Kubota, E.; Kubota, T.; Matsumoto, J.; Shibata, T.; Murakami, K. (1998): Synovial fluid cytokines and proteases as markers of temporomandibular joint disease. *J Oral Maxillofac Surg* 56: 192-198.

Kubota, T.; Kubota, E.; Matsumoto, A.; Kawai, Y.; Saito, H.; Mikuni-Takagaki, Y.; Sato, S. (1998): Identification of matrix metalloproteinases (MMPs) in synovial fluid from patients with temporomandibular disorder. *Eur J Oral Sci* 106: 992-998.

Kubota, E.; Imamura, H.; Kubota, T.; Shibata, T.; Murakami, K. (1997): Interleukin-1 β und stromelysin (MMP3) activity of synovial fluid as possible markers of osteoarthritis in the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 55: 20-27.

Langer, E. (2002): [www.tiz-info.de/info/biologische Therapie/was sind Zytokine/-18k](http://www.tiz-info.de/info/biologische%20Therapie/was%20sind%20Zytokine/-18k)

Lark, M.W.; Bayne, E.K.; Flanagan, J.; Harper, C.F.; Hoerner, L.A.; Hutchinson, N.I.; Singer, H.; Donatelli, S.A.; Weidner, J.R.; Williams, H.R.; Mumford, R.A.; Lohmander, L.S. (1997): Aggrecan degradation in human cartilage. Evidence for both matrix metalloproteinases and aggrecanase activity in normal, osteoarthritic, and rheumatoid joints. *J Clin Invest* 100: 93-106.

Lindern, J.J. von (2000): Die diagnostische und therapeutische Wertigkeit der arthroskopischen Lavage bei Patienten mit Kiefergelenkerkrankungen. *Med. Diss., Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.*

Lohmander, L.S. (1990): Osteoarthritis: man, models and molecular markers. In: Maroudas, A.; Kuettner, K. (eds.): *Methods in cartilage research.* Academic Press: London: 337-340.

Lohmander, L.S. (1991): Markers of cartilage metabolism in arthrosis. *Acta Orthop Scand* 62: 623-632.

Lotzmann, U.; Bumann, A.; (2000): Diagnose und Klassifikationen. In: Hrsg. Rateischak, K.H.; Wolf, H.F.: Funktionsdiagnostik und Therapieprinzipien. Farbatlanten der Zahnmedizin. Thieme: Stuttgart, New York: S. 269-300.

Lowry, O.H.; Roseborough, N.J.; Farr, A.L.; Randall, R.J. (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 193: 265-275.

Löffler, G. (1999): Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie. 3.Aufl.; Springer: Berlin, Heidelberg, New York; S. 663-673

Löffler, G.; Petrides, P.E. (2001): Biochemie und Pathobiochemie. 6. Aufl., Springer: Berlin, Heidelberg, New York: S. 512-517.

Maini, R.N.; Elliott, M.J.; Brennan, F.M.; Williams, R.O.; Chu, C.Q.; Palleolog, E.; Charles, P.J.; Taylor, P.C.; Feldmann, M. (1995): Monoclonal anti-TNF- α antibody as a probe of pathogenesis and therapy of rheumatoid disease. Immunol Rev 144: 195-223.

Mansson-Rahemtulla, B.; Baldone, D.C.; Pruitt, K.M. et al. (1986): Specific assays for peroxidases in human saliva. Arch Oral Biol 31: 661-668

Mantovani, A.; Locati, M.; Vecchi, A.; Sozzani, S.; Allavena, P. (2001): Decoy receptors: A strategy to regulate inflammatory cytokines and chemokines. Trends Immunol 22: 328-336.

McCain, J.P.; Sanders, B.; Koslin, M.G.; Quinn, J.D.; Peters, P.B.; Indresano, T. (1992): Temporomandibular joint arthroscopy: A 6-year multicenter retrospective study of 4831 joints. J Oral Maxillofac Surg 50: 926-930.

Meyer, G. (1993): Praxisgerechte instrumentelle Funktionsdiagnostik. In: Akademie, Praxis und Wissenschaft in der DGZMK (Hrsg.): [Red. Hahn, W.] Funktionslehre: Aktueller Stand und praxisgerechte Umsetzung. Carl Hanser Verlag: München, Wien: 59-65.

Milam, S.B.; Zardeneta, G.; Schmitz, J.P. (1998): Oxidative stress and degenerative temporomandibular joint disease. A proposed hypothesis J Oral Maxillofac Surg 56: 214-223.

Mizui, T.; Ishimaru, J.; Miyamoto, K; Kurita, K. (2001): Matrix metalloproteinase-2 in synovial lavage fluid of patients with disorders of the temporomandibular joint. Br J Oral Maxillofac Surg. 39: 310-314.

Montgomery, M.T.; Sickels, J.E. van; Harms, S.E.; Trash, W.J. (1989): Arthroscopic TMJ surgery: effects of signs, symptoms and disc position. J Oral Maxillofac Surg 47: 1263-1271.

Mosby, E.L (1993): Efficacy of temporomandibular joint arthroscopy: a retrospective study. J Oral Maxillofac Surg 51: 17-21.

Moses, J.J.; Sartoris, D.; Glass, R.; Tanaka, T.; Poker, I. (1989): The effect of arthroscopic surgical lysis and lavage of the superior joint space on TMJ disc position and mobility. J Oral Maxillofac Surg 47: 674-678.

Murakami, K.-I.; Segami, N.; Fujimura, K.; Iizuka, T. (1991): Correlation between pain and synovitis in patients with internal derangement of the temporomandibular joint. J Oral Maxillofac Surg 49: 1159-1161.

Murakami, K.-I.; Segami, N.; Moriya, Y.; Iizuka, T. (1992): Correlation between pain and dysfunction and intra-articular adhesions in patients with internal derangement of the temporomandibular joint. J Oral Maxillofac Surg 50: 705-708.

Murakami, K.; Moriya, Y.; Goto, K.; Segami, N. (1996): Four-year follow-up study of temporomandibular joint arthroscopic surgery for advanced stage internal derangements. J Oral Maxillofac Surg 54: 285-291.

Nagase, H.; Suzuki, K.; Itoh, Y. et al. (1996): Involvement of tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) during matrix metalloproteinase activation. *Adv Exp Med Biol* 389: 23-31.

Nishimura, M.; Segami, N.; Kaneyama, K.; Suzuki, T.; Miyamura, M. (2002): Proinflammatory cytokines and arthroscopic findings of patients with internal derangement and osteoarthritis of the temporomandibular joint. *Br J Oral Maxillofac Surg* 40: 68-71.

Nishimura, M., Segami, N.; Kaneyama, K.; Sato, J.; Fujimura, K. (2004): Comparison of cytokine level in synovial fluid between successful and unsuccessful cases in arthrocentesis of the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 62: 287-288.

Nitzan, D.W.; Dolwick, F.; Heft, M.W. (1990): Arthroscopic lavage and lysis of the temporomandibular joint: A change in perspective. *J Oral Maxillofac Surg* 48: 798-801.

Nordahl, S.; Alstergren, P.; Appelgren, E.; Appelgren, B.; Eliasson, S; Kopp, S. (1997): Pain, tenderness, mandibular mobility, and anterior open bite in relation to radiographic erosions in temporomandibular joint disease. *Acta Odontol Scand* 55: 18-22.

Nordahl, S.; Alstergren, P.; Eliasson, S.; Kopp, S. (1998): Interleukin-1 β in plasma and synovial fluid in relation to radiographic changes in arthritic temporomandibular joints. *Eur J Oral Sci* 106: 559-563.

Oesser, S.; Seifert, J. (2003): Stimulation of type-2 collagen biosynthesis and secretion in bovine chondrocytes cultured with degraded collagen. *Cell Tiss Res* 311: 393-399.

Ohrbach, R. (1979): Overview of patient evaluation. In: Zarb, G.A., Carlsson, G.E. (eds): *Temporomandibular joint. Function and dysfunction.* Copenhagen: Munksgaard: 391-405.

Ratcliffe, A.; Flatow, E.L.; Roth, N.; Saed-Nejad, F.; Bigliani, L.U. (1996): Biochemical markers in synovial fluid identify early osteoarthritis of glenohumeral joint. *Clin Orthop Related Res* 330: 45-53.

Reich, R.H.; Dolwick, M.F. (1984): Kiefergelenkbeschwerden bei Patienten mit Form- und Lageveränderungen des Diskus articularis. Überlegungen zur Diagnostik und chirurgischen Therapie. Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir 8: 317-326.

Reich, R.H.; Bothe, K.J. (1990): Der Schmerz als Indikation für die funktionelle Kiefergelenkchirurgie. Dtsch Zahnärztl Z 45: 55-57.

Reich, R.H. (1995): Chirurgische Maßnahmen bei Myoarthropathien in: Hupfauf (Hrsg.): Praxis der Zahnheilkunde. Bd.8. Urban & Schwarzenberg: München-Wien: S. 343-359.

Reich, R.H. (2003): Beitrag der Mund-Kiefer-und Gesichtschirurgie zur Behandlung von Funktionsstörungen des Kiefergelenkes. Webseite der Med. Hochschule Hannover.

Reiter, C.D.; Teng, R.J.; Beckmann J.S. (2000): Superoxide reacts with nitric oxide to nitrate tyrosine at physiological pH via peroxynitrite. J Biol-Chem. Oct 20; 275(42): 32460-32466

Roeb, E.; Rose-John, S. (1996): Cytokines: biology and therapeutic relevance. Dtsch Med Wochenschr 121: 803-809.

Rohen, J.W. (1994): Anatomie für Zahnmediziner; Anatomisches Institut der Universität Erlangen-Nürnberg, 3. Aufl., Schattauer Stuttgart, New York: S. 112-113.

Rooney, M; Symons, J.A.; Duff, G.W. (1990): Interleukin1 beta in synovial fluid is related to local disease activity in rheumatoid arthritis. Rheumatol Int 10: 217-219.

Sampson, J.B.; Yao, Z.Y.; Rosen, H.; Beckmann, J.S. (1998): Myeloperoxidase and horseradish peroxidase catalyse tyrosin nitration in proteins from nitrite and hydrogen peroxide. Arch Bioch Biophys 356: 207-213.

Sander, M.; Siegert, R.; Gundlach, K.K.H. (1989): Krankengymnastische Behandlung von Patienten mit kaumuskulären Funktionsstörungen. Dtsch Zahnärztl Z 44: S12-S14.

Sandler, N.A.; Buckley, M.J.; Cillo, J.E.; Braun, T.W. (1998): Correlation of inflammatory cytokines with arthroscopic findings in patients with temporomandibular joint internal derangement. *J Oral Maxillofac Surg* 56: 534-543.

Saxne, T.; Di Giovine, F.S.; Heinegard, D.; Duff, G.W.; Wollheim, F.A. (1988): Synovial fluid concentrations of interleukin-1 β and proteoglycans are inversely related. *J Autoimmunity* 1: 373-380.

Schickinger, B.; Gstoettner, W.; Cerny, C.; Kornfehl, J. (1998): Variant petrotympanic fissure as possible cause of an ontologic complication during TMJ arthroscopy: a case report. *Int J Maxillofac Surg* 27: 17-19.

Schiller, J.; Arnhold, J.; Gründer, W.; Arnold, K. (1994): The action of hypochlorous acid on polymeric components of cartilage. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 375: 167-172.

Schliephake, H.; Redecker, K.; Schmelzeisen, R.; Maschek, H. (1997): Zytokine und Zytokinrezeptoren in der Mundschleimhaut immunsupprimierter Patienten. *Mund-Kiefer-Gesichtschir* 1: 111-114.

Schuhmacher, G.H. (1996): Repititorium Anatomie für Zahnmediziner, Urban & Schwarzenberg: München, Wien, Baltimore: S. 134-139.

Sebald, W.G. (1999): Systematik einer differenzierten Therapie der CMD, Zbay Online 1999-2001, Bayrische Landeszahnärztekammer München, Online Präsentation durch die Quintessenz Verlags-GmbH

Segami, N.; Miyamaru, M.; Nishimura, M.; Suzuki, T.; Kaneyama, K.; Murakami, K-I. (2002): Does joint effusion on T2 magnetic resonance images reflect synovitis? Part2. Comparison of concentration levels of proinflammatory cytokines and total protein in synovial fluid of the temporomandibular joint with internal derangements and osteoarthritis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 94: 515-521.

Shmerling, R.H. (1994): Synovial fluid analysis. *Rheum Dis Clin North Am* 20: 503-512.

Siebert, G.K. (1995): Atlas der zahnärztlichen Funktionsdiagnostik. Hauser: München: S. 10-43.

Siegert, R.; Gundlach, K.K.H. (1989): Stabilisierungsschiene versus Entspannungsbehelf zur Behandlung myofazialer Schmerzen. Dtsch Zahnärztl Z 44: S17-S19.

Srinivas, R.; Sorsa, T.; Tjäderhane, L.; Niemi, E.; Raustia, A.; Pernu, H.; Teronen, O.; Salo, T. (2001): Matrix metalloproteinases in mild and severe temporomandibular joint internal derangement synovial fluid. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 91: 517-525.

Stiebitz, R.; Leber, J.; Müller, H.J. (1980): Über die klinisch-radiologische Diagnose „Arthropathia deformans“ des Kiefergelenkes. In: Schuchardt, K.; Schwenger, N. (Hrsg.): Fortschritte der Kiefer- und Gesichtschirurgie. Bd.2. Thieme: Stuttgart: S. 46-49.

Sümnick, W.; Thomaschewski, B. (1990): Untersuchungen über epidemiologische Zusammenhänge zwischen mandibulären Dysfunktionen und Parafunktionen. Zahn-Mund-Kieferheilkd Zentralbl 78: 241-245

Sugisaki, M.; Ikai, A.; Tanabe, H. (1995): Dangerous angels and depths for middle ear and middle cranial fossa injury during arthroscopy of the temporomandibular joint. J Oral Maxillofac Surg. 53: 803-810.

Suzuki, T.; Segami, N.; Nishimura, M.; Nojima, T. (2001): Co-expression of interleukin-1 β and tumor necrosis factor α in synovial tissues and synovial fluids of temporomandibular joint with internal derangement: comparison with histological grading of synovial inflammation. J Pathol Med 31: 549-557.

Szekanecz, Z.; Szegedi, G.; Koch, E.A. (1998): Angiogenesis in rheumatoid arthritis: pathogenic and clinical significance. J Investig Med 46: 27-41.

Takahashi, T.; Nagai, H.; Seki, H.; Fukuda, M. (1999): Relationship between joint effusion, joint pain and protein levels in joint lavage fluid of patients with internal derangement and osteoarthritis of the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 57: 1187-1193

Takahashi, T.; Kondoh, T.; Ohtani, M.; Homma, H.; Fukuda, M. (1999): Association between arthroscopic diagnosis of temporomandibular joint osteoarthritis and synovial fluid nitric oxide levels. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 88: 129-136.

Takahashi, T.; Kondoh, T.; Fukuda, M.; Yamazaki, Y.; Suzuki, R. (1998): Proinflammatory cytokines detectable in synovial fluid from patients with temporomandibular disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 85: 135-141.

Tarro, A.W. (1988): Arthroscopic diagnosis and surgery of the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 46: 282-289.

ten Cate, A.R. (1994): Gross and micro anatomy. In: Zarb, G.A.; Carlsson, G.E.; Sessle, B.J.; Mohl, N.D. (eds.): Temporomandibular joint and masticatory muscle disorders. 2nd ed. Chapter 2. Munksgaard: Copenhagen; S. 48-66.

Ter-Steege, J.-C.; Koster-Kamphuis, L.; van Straaten, E.A.; Forget, P.P.; Buurman, W.A. (1998): Nitrotyrosine in plasma of celiac disease patients as detected by a new sandwich ELISA. *Free Radic Biol Med* 25: 953-963.

Tominaga, K.; Alstergreen, P.; Kurita, H.; Matsukawa, A.; Fukuda, J.; Kopp, S. (2001): Interleukin-1 β in antigen-induced arthritis of the rabbit temporomandibular joint. *Arch Oral Biol* 46: 539-544.

Tominaga, K.; Habu, M.; Sakedai, M.; Hirota, Y.; Takahashi, T.; Fukuda, J. (2004): IL-1 β , IL-1-receptor antagonist and soluble type II IL-1 receptor in synovial fluid of patients with temporomandibular disorders. *Arch Oral Biol* 49: 493-499.

Tsuyama, M.; Kondoh, T.; Seto, K.; Fukuda, J. (2000): Complications of temporomandibular joint arthroscopy: a retrospective analysis of 301 lysis and lavage procedures performed using the triangulation technique. *J Oral Maxillofac Surg.* 58: 500-505; discussion 505-506.

van der Vliet, A; Eiserich, J.P.; Marelich, G.P.; Halliwell, B.; Cros, C.E. (1997): Reactive nitrogen species during peroxidase-catalyzed oxidation of nitrite. *J Biol Chem* 272: 7617-7625.

Vignon, E.; Mathieu, P.; Couprie, N; Cloppet, H.; Herbage, D.; Louisot, P.; Richard, M. (1989): Effects of tiaprofenic acid on interleukin 1, phospholipase A2 activity, prostaglandins, neutral protease, and collagenase activity in rheumatoid synovial fluid. *Semin Arthritis Rheum* 18(3 Suppl 1): 11-15.

Villiger, P.M.; Brühlmann, P. (1999): Rheumatoide Arthritis In: *Innere Medizin*, Georg Thieme Verlag; Stuttgart, New York: 1622-1627.

White, R.D. (2001): Arthroscopic lysis and lavage as the preferred treatment for internal derangement of the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 59: 313-316.

Wu, W.; Chen, Y.; Hazen, S.L. (1999): Eosinophil peroxidase nitrates protein tyrosyl residues. Implications for oxidative damage by nitrating intermediates in eosinophilic inflammatory disorders. *J Biol Chem.* 274: 25933-25944.

Yoshihara, Y.; Nakamura, H.; Obata, K. et al. (2000): Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 59: 455-461.

Zardeneta, G.; Milam, S.B.; Lee, T.; Schmitz, J.P. (1998): Detection and preliminary characterization of matrix metalloproteinase activity in temporomandibular joint lavage fluid. *Int J Oral Maxillofac Surg* 27: 397-403.

Zardeneta, G.; Milam, S.B.; Schmitz, J.P. (1997): Elution of proteins by continuous temporomandibular joint arthrocentesis. J Oral Maxillofac Surg 55: 709-16.

Zardeneta, G.; Milam, S.B.; Schmitz, J.P. (1997): Presence of denatured hemoglobin deposits in diseased temporomandibular joints. J Oral Maxillofac Surg 55: 1242-1248.

Ziegler, C.M.; Steveling, H.; Umstadt, H.E.; Mühling, J. (1999): Arthroskopische Lysis und Lavage des Kiefergelenks zur Therapie von Diskusverlagerungen. Arthroskopie Bd.12; Nr.6: 318-322.

8. Anhang

Abkürzungsverzeichnis

bzw.	beziehungsweise
ca.	cirka
CaCl ₂	Kalziumchlorid
CMD	Cranio-Mandibuläre-Dysfunktion
CQ	Chi-Quadrat
D	Funktionswert der Diskriminanzfunktion
d. h.	das heißt
DGZMK	Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
DTNB	Dithiobis-(2-Nitrobenzoesäure)
EW	Eiweiß
f	Freiheitsgrad des t - Testes
F	Freiheitsgrad der Varianzanalyse
g	Gramm
Gr	Gruppe
HCl	Salzsäure
IL _{1β}	Interleukin-1β
IL-6	Interleukin6
PER	Peroxidase
K ₂ HPO ₄	Dikaliumhydrogenphosphat
KOL	Kollagenase
KSCN	Kaliumthiozyanat
l	Liter
M.	Musculus
Max	Maximum
mg	Milligramm
ml	Milliliter
Min	Minimum
MSH	Mercaptoethanol
MW	Mittelwert

n	Menge
NaCl	Natriumchlorid, Kochsalz
NAG	N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase
NBS	Nitrobenzeosäure
nm	Nanometer
NTYR	Nitrotyrosin
p	Signifikanz
pg	Picogramm
s	Standardabweichung
SKD	Schneidekantendistanz
SPEZIL-1 β	Spezifische Aktivität von Interleukin-1 β
SPEZIL-6	Spezifische Aktivität von Interleukin-6
SPEZKOL	Spezifische Aktivität von Kollagenase
SPEZNAG	Spezifische Aktivität von N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase
SPEZPER	Spezifische Aktivität von Peroxidase
TNF α	Tumornekrosefaktor α
U	Unit, (Einheit der Enzymaktivität in μ mol Substratumsatz pro Minute)
u. a.	unter anderem
v. a.	vor allem
z. B.	zum Beispiel
μ l	Mikroliter

Verzeichnis der Tabellen	Seite
Tab.1 Häufigkeit der Gruppenkombinationen	29
Tab.2 Übersicht über die nach unterschiedlichen klinischen Gesichtspunkten gebildeten Kiefergelenkgruppen	30
Tab.3 Deskriptive Statistik der Lavageflüssigkeitsuntersuchungsparameter ohne Aufteilung der Patienten in Gruppen	40
Tab.4 Deskriptive Statistik für fünf klinische Gruppen gemäß Einteilung Variante 1	42
Tab.5 Ergebnisse der statistischen Tests für die Originalwerte auf der Grundlage der Gruppeneinteilung Variante 1	44
Tab.6 Ergebnisse der statistischen Tests für die Originalwerte auf der Grundlage der Gruppeneinteilung Variante 1, aber ohne zwei Gelenke der Gruppe 5	45
Tab.7 Deskriptive Statistik der spezifischen Aktivitäten für die klinischen Gruppen 1 bis 5 gemäß Einteilung Variante 1	46
Tab.8 Ergebnisse der statistischen Tests für die spezifischen Aktivitäten auf der Grundlage der Gruppeneinteilung Variante 1	48
Tab.9 Duncan-Test für die spezifische Aktivität von N-Acetyl- β -D-glucosaminidase (SPEZNAG)	48
Tab.10 Ergebnisse der statistischen Tests gemäß Einteilung Variante 1 mit spezifischen Aktivitäten ohne Gruppe 5	49
Tab.11 Diskriminanzanalyse auf der Basis der spezifischen Aktivitäten für die Gruppen 1 bis 4	51
Tab.12 Klassifizierungsergebnisse nach Kreuzvalidierung für die Gelenkgruppen 1 bis 4	52
Tab.13 Deskriptive Statistik und Ergebnisse statistischer Tests gemäß Einteilung Variante 2	53
Tab.14 Ergebnisse der Diskriminanzanalyse gemäß Gruppeneinteilung Variante 2	54
Tab.15 Klassifizierungsergebnisse nach Kreuzvalidierung gemäß Gruppeneinteilung Variante 2	54

Tab.16	Kreuztabelle der Clusteranalyse zur Verteilung der Gelenke nach den Einteilungen Variante 1 und Variante 2 auf zwei Cluster	55
Tab.17	Deskriptive Statistik und Ergebnisse statistischer Tests der Clusteranalyse 1 für zwei Cluster	56
Tab.18	Diskriminanzanalyse auf der Basis der Messwerte für zwei Cluster	57
Tab.19	Klassifizierungsergebnisse nach Kreuzvalidierung für zwei Cluster	58
Tab.20	Kreuztabelle der Clusteranalyse zur Verteilung der Gelenke nach der Einteilung Variante 1 auf zwei Cluster auf der Basis der spezifischen Konzentrationen	59
Tab.21	Deskriptive Statistik und Ergebnisse statistischer Tests für zwei Cluster	60
Tab. 22	Diskriminanzanalyse für zwei Cluster (a) spezifische Konzentrationen (b) Messwerte plus spezifische Konzentrationen/Aktivitäten	62
Tab.23	Klassifizierungsergebnisse für zwei Cluster für spezifische Aktivitäten	63
Tab.24	Kreuztabelle der Clusteranalyse zur Verteilung der Gelenke nach Einteilung Variante 1 auf vier Cluster	64
Tab.25	Deskriptive Statistik und Ergebnisse statistischer Tests für vier Cluster	65
Tab.26	Deskriptive Statistik der spezifischen Konzentrationen sowie Ergebnisse der statistischen Tests für vier Cluster	68
Tab.27	Ergebnisse des U-Tests für den Vergleich der vier Cluster	69
Tab.28	Diskriminanzanalyse auf der Basis der Messwerte für vier Cluster	70
Tab.29	Klassifizierungsergebnisse nach Kreuzvalidierung für vier Cluster	71

Verzeichnis der Abbildungen	Seite
Abb.1 Klassifizierung von Funktionsstörungen des kranio-mandibulären Systems	7
Abb.2 Arthroskopisches Vorgehen am Kiefergelenk	26
Abb.3 Arthroskopischer Blick auf den dorsalen Bandapparat des humanen Kiefergelenkes	27
Abb.4 Altersverteilung im Patientenkollektiv	28
Abb.5 Häufigkeitsverteilung der Gelenke in den Gruppen 1 bis 5	29
Abb.6 Streuung der Einzelmesswerte, getrennt nach Gruppen, für Protein, Peroxidase, NAG, Interleukin-6, Interleukin-1 β und Kollagenase	43
Abb.7 Streuung der Einzelwerte der spezifischen Konzentrationen/ Aktivitäten, getrennt nach Gruppen	47
Abb.8 Gruppenzentroide für die Gelenkgruppen 1 bis 4 bei Diskrimination anhand der spezifischen Aktivitäten von NAG und IL-1 β	51
Abb.9 Lage der Gruppenzentroide der vier Cluster gemäß Diskriminanzanalyse 3 anhand der 2 Diskriminanzfunktionen aus Eiweiß und Peroxidase	71

Tab. A1: Patientendaten

Pat.-Nr.	Gelenknr.	Schmerz	SKD	Alter (Jahre)	Geschlecht	Schiene	Visuelle Einstufung des Blutanteils in den Proben
1	1	ja	28	56	w	ja	3
	2	ja					2
2	3	ja	38	45	w	ja	1
	4	nein					2
3	5	ja	29	47	w	nein	1
	6	nein					0
4	7	nein	18	62	w	nein	1
	8	ja					1
5	9	nein	19	62	w	ja	2
	10	nein					2
6	11	ja	40	51	w	nein	0
	20	nein					0
7	12	ja	40	58	m	ja	1
	13	ja					2
8	14	nein	30	25	w	nein	2
	15	nein					2
9	16	nein	42	55	w	nein	3
	17	nein					2
10	18	nein	37	27	w	ja	0
	19	ja					1
11	21	nein	20	35	w	ja	0
	22	nein					1
12	23	nein	22	53	w	nein	1
	24	nein					1
13	25	nein	21	58	m	nein	2
	26	ja					1
14	27	nein	18	46	m	nein	2
	28	nein					1
15	29	nein	30	22	w	ja	2
	30	ja					2
16	31	ja	23	26	w	nein	1
	32	ja					1
17	33	ja	24	43	w	nein	0
18	34	nein	25	19	w	ja	1
	35	ja					1
19	36	nein	28	56	w	ja	3
	37	ja					2
20	38	nein	35	44	w	ja	2
	39	ja					3
21	40	ja	38	19	w	ja	1
	41	ja					2
22	42	ja	30	18	w	nein	2
	43	ja					2
23	44	nein	40	31	w	ja	1
	45	nein					1
24	46	nein	12	61	w	nein	0
	47	nein					1
25	48	nein	21	54	w	ja	1
	49	nein					1
26	50	ja	30	21	w	ja	2
	51	nein					1
27	52	nein	25	32	m	nein	2
	53	nein					2
28	54	ja	k. A.	20	w	ja	2
	55	ja					2

Tab. A2: Einzelmesswerte

Pat.-Nr.	Gelenknr.	EW (mg/l)	PER (U/l)	NAG (U/l)	NTYR (mmol/l)	IL_-6 (pg/ml)	IL_-1β (pg/ml)	KOL (E)
1	1	990,304	233,054	16,045	0	32,326	2,76	0,888
	2	91,147	118,839	20,114	0	33,057	0,306	1,042
2	3	90,075	114,390	5,312	0	15,172	0,617	1,114
	4	56,205	176,252	5,452	0	11,517	0,011	0,666
3	5	45,372	114,564	11,510	0	14,998	0,177	0,550
	6	80,235	86,555	7,834	0	14,125	1,181	0,998
4	7	93,027	221,449	5,761	0	14,823	1,515	0,720
	8	1101,456	450,227	9,799	0	7,551	5,484	0,786
5	9	956,018	349,013	16,828	0	24,014	2,195	0,851
	10	1025,512	245,182	25,575	0	219,050	3,350	0,644
6	11	84,599	114,651	3,255	0	25,450	0,309	1,191
	20	70,295	223,369	2,819	0	21,696	0,104	1,437
7	12	41,961	217,174	7,271	0	12,037	0,608	0,816
	13	60,818	355,732	7,574	0	13,600	0,662	0,460
8	14	41,302	222,583	10,529	0	12,384	0,350	0,828
	15	1000,627	237,242	10,696	0	12,380	6,240	0,807
9	16	72,097	333,308	12,351	0	17,980	0,381	0,794
	17	37,833	174,768	10,359	4,323	35,258	0,084	1,292
10	18	93,244	121,893	2,927	51,715	0,095	0,073	1,399
	19	401,484	159,237	10,216	0	35,995	0,005	1,038
11	21	116,562	113,429	5,640	0	16,223	0	1,469
	22	60,157	174,419	6,052	0	18,509	0,018	1,344
12	23	104,655	164,909	26,314	1750	17,980	0,041	0,843
	24	40,798	163,076	7,441	1680	18,157	0,199	1,308
13	25	45,134	208,186	15,331	0	20,986	0,407	1,052
	26	420,774	122,504	10,009	0	26,346	0,630	1,159
14	27	995,650	268,129	18,753	0	147,110	0,866	0,518
	28	51,178	469,423	9,554	0	23,657	0	1,214
15	29	29,851	357,041	9,164	0	32,691	0,011	0,854
	30	95,149	212,462	10,052	0	17,804	0,410	0,513
16	31	33,582	158,888	9,381	0	14,823	0,416	1,220
	32	77,180	191,172	7,333	2,761	18,157	0,306	1,003
17	33	194,138	507,029	3,747	0	31,961	0,142	1,034
18	34	70,896	198,501	15,820	0	14,823	2,056	0,938
	35	67,164	202,079	9,530	0	14,998	0,898	0,866
19	36	321,788	495,599	14,548	0	19,039	1,099	0,830
	37	87,687	552,314	22,679	0	23,478	2,081	0,848
20	38	37,313	196,320	7,088	0	10,997	0,684	1,009
	39	316,203	366,464	10,504	0	24,909	1,842	0,935
21	40	31,716	195,884	6,321	0	19,569	0,407	1,044
	41	734,636	294,044	13,119	0	46,073	0,917	0,713
22	42	999,521	543,588	10,213	0	12,906	1,301	0,722
	43	93,284	278,862	15,049	0	13,253	1,137	0,591
23	44	33,582	213,771	24,808	0	16,223	1,691	0,677
	45	57,836	229,302	13,620	60,913	13,602	2,264	1,117
24	46	66,802	266,995	3,886	0	10,651	0	1,091
	47	44,776	260,887	6,392	0	14,823	0,104	1,049
25	48	18,657	289,681	4,276	0	18,157	1,521	1,162
	49	502,249	262,284	25,683	0	25,447	2,081	1,000
26	50	786,765	390,895	31,008	0	49,871	0,910	1,022
	51	431,650	273,975	14,520	0	0,073	0,488	1,172
27	52	25,795	496,471	10,464	0	14,648	1,320	0,901
	53	51,507	765,212	7,979	0	12,211	0,872	0,798
28	54	66,042	580,235	11,151	0	13,776	2,730	0,961
	55	75,523	553,186	6,903	0	13,950	1,735	0,602

Tab. A3: Spezifische Konzentrationen

Pat.-Nr.	Gelenknr.	SPEZPER	SPEZNAG	SPEZNTYR	SPEZIL_6	SPEZIL_1	SPEZKOL
1	1	0,235	0,016	0	0,033	0,0030	0,0009
	2	1,304	0,220	0	0,363	0,0030	0,0110
2	3	1,269	0,059	0	0,170	0,0070	0,0120
	4	3,136	0,097	0	0,205	0,0002	0,0120
3	5	2,525	0,254	0	0,330	0,0040	0,0120
	6	1,078	0,098	0	0,176	0,0150	0,0120
4	7	2,380	0,062	0	0,159	0,0160	0,0085
	8	0,408	0,009	0	0,007	0,0050	0,0007
5	9	0,365	0,018	0	0,025	0,0020	0,0009
	10	0,239	0,025	0	0,214	0,0030	0,0006
6	11	1,355	0,038	0	0,301	0,0040	0,0140
	20	5,175	0,173	0	0,287	0,0140	0,0190
7	12	5,849	0,124	0	0,224	0,0100	0,0080
	13	5,389	0,255	0	0,300	0,0080	0,0200
8	14	0,237	0,010	0	0,012	0,0060	0,0008
	15	4,623	0,171	0	0,249	0,0050	0,0110
9	16	4,619	0,274	0	0,932	0,0020	0,0342
	17	1,307	0,031	0,0464	0,001	0,0008	0,0150
10	18	0,396	0,025	0,129	0,090	1,23103E-05	0,0026
	19	3,177	0,040	0	0,309	0,001	0,0204
11	21	0,973	0,050	0	0,140	0	0,0126
	22	2,899	0,100	0	0,308	0,0003	0,0223
12	23	1,576	0,251	16,722	0,172	0,0004	0,0080
	24	3,997	0,182	41,120	0,445	0,0050	0,0320
13	25	4,613	0,340	0	0,465	0,0090	0,0233
	26	0,291	0,024	0	0,063	0,0010	0,0027
14	27	0,269	0,019	0	0,148	0,0009	0,0005
	28	2,233	0,106	0	0,187	0,0040	0,0054
15	29	4,731	0,280	0	0,441	0,0120	0,0363
	30	2,477	0,095	0	0,235	0,0040	0,0130
16	31	2,612	0,019	0	0,165	0,0007	0,0053
	32	2,780	0,223	0,0390	0,209	0,0290	0,0132
17	33	3,008	0,142	0	0,223	0,0130	0,0129
18	34	1,540	0,045	0	0,059	0,0030	0,0026
	35	6,299	0,259	0	0,267	0,0240	0,0097
19	36	5,261	0,190	0	0,295	0,0180	0,0270
	37	1,159	0,033	0	0,079	0,0060	0,0029
20	38	6,176	0,199	0	0,617	0,0130	0,0329
	39	0,400	0,018	0	0,063	0,0010	0,00095
21	40	0,544	0,010	0	0,013	0,0010	0,0007
	41	2,990	0,161	0	0,142	0,0120	0,0063
22	42	6,365	0,739	0	0,483	0,0500	0,0202
	43	3,965	0,2350	0	0,235	0,0390	0,0193
23	44	3,997	0,058	0	0,159	0	0,0163
	45	5,826	0,143	1,360	0,331	0,0020	0,0234
24	46	0,522	0,051	0	0,050	0,0040	0,0020
	47	0,497	0,039	0	0,063	0,0010	0,0013
25	48	0,635	0,034	0	0,047	0,0010	0,0027
	49	7,325	0,091	0	0,185	0,0230	0,0080
26	50	9,172	0,187	0	0,463	0	0,0237
	51	11,960	0,307	0	1,095	0,0004	0,0286
27	52	15,527	0,229	0	0,973	0,0810	0,0623
	53	19,247	0,406	0	0,568	0,0510	0,0349
28	54	14,856	0,155	0	0,237	0,0170	0,0155
	55	8,785	0,170	0	0,209	0,0410	0,0145

Tab. A4: Zugehörigkeit der Gelenke zu klinischen Gruppen und Clustern

Pat.-Nr.	Gelenknr.	Variante 1	Variante 2	2Clu-alleW.	2Clu-spez.A.	4Clu-alle W.	4Clu-Messw.	4Clu-spez.A.
1	1	3	2	1	1	1	1	1
	2	4	2	2	1	2	2	1
2	3	3	2	2	1	2	2	1
	4	2	2	2	1	2	2	1
3	5	4	2	2	1	2	2	1
	6	2	2	2	1	2	2	1
4	7	2	2	2	1	2	2	1
	8	4	2	1	1	1	1	1
5	9	2	2	1	1	1	1	1
	10	4	2	1	1	1	1	1
6	11	5	5	2	1	2	2	1
	20	3	2	2	1	2	2	1
7	12	1	1	2	1	2	2	2
	13	2	2	2	1	2	2	2
8	14	1	1	2	1	1	2	2
	15	3	2	1	1	2	1	1
9	16	4	2	2	1	2	2	2
	17	2	2	2	1	2	2	2
10	18	1	1	2	1	3	2	1
	19	3	2	2	1	2	3	1
11	21	1	1	2	1	2	2	1
	22	4	2	2	1	2	2	1
12	23	1	1	2	1	2	2	1
	24	2	2	2	1	2	2	2
13	25	2	2	2	1	2	2	2
	26	4	2	2	1	3	3	1
14	27	3	2	1	1	1	1	1
	28	5	5	2	1	2	2	1
15	29	1	1	2	1	2	2	2
	30	2	2	2	1	2	2	1
16	31	2	2	2	1	4	4	1
	32	4	2	2	1	2	2	1
17	33	3	2	2	1	2	2	1
18	34	1	1	2	1	4	4	1
	35	3	2	2	1	4	4	2
19	36	2	2	2	1	2	2	2
	37	4	2	2	1	4	4	1
20	38	2	2	2	1	2	2	2
	39	4	2	2	1	1	1	1
21	40	3	2	2	1	1	1	1
	41	2	2	1	1	2	2	1
22	42	3	2	1	1	2	2	2
	43	3	2	2	1	2	2	2
23	44	1	1	2	1	2	2	2
	45	3	2	2	1	2	2	2
24	46	4	2	2	1	3	3	1
	47	2	2	2	1	1	1	1
25	48	3	2	2	1	3	3	1
	49	3	2	2	1	4	4	2
26	50	3	2	1	2	4	4	3
	51	2	2	2	2	2	2	3
27	52	4	2	2	2	2	2	4
	53	3	2	2	2	4	4	4
28	54	3	2	2	2	4	4	4
	55	3	2	2	2	4	4	3

Tabellarischer Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Zimmer, geb. Richter
Vorname: Silke
Geburtsdatum: 17.05.1964
Geburtsort: Güstrow
Nationalität: deutsch
Familienstand: verheiratet
Kinder: 1 Sohn 16 Jahre, 1 Tochter 11 Jahre

1970-1978 Polytechnische Oberschule Mühl-Rosin
1978-1982 Erweiterte Oberschule Güstrow
1982 Abitur
1982-1983 Praktikum im Kreiskrankenhaus Güstrow
1983-1988 Studium der Zahnmedizin an der Universität Rostock
1988 Diplom und Staatsexamen
1988 Approbation als Zahnärztin
1988-1993 Tätigkeit als Assistenz Zahnärztin an der Poliklinik für Stomatologie des Kreiskrankenhauses Ribnitz-Damgarten
1993-1994 Tätigkeit als niedergelassene Zahnärztin in Rostock
seit 1996 Tätigkeit als niedergelassene Zahnärztin in Laage

Danksagung

Es ist mir ein Bedürfnis, Herrn Professor Dr. med. Dr. med. dent. W. Kaduk für die Überlassung des Promotionsthemas sowie seine hilfreiche Unterstützung bei der Planung, Zusammenstellung und Korrektur der Dissertation zu danken.

Bei Herrn Privatdozent Dr. rer. nat. habil. R. Göcke bedanke ich mich herzlich für die umfassende Unterstützung bei der Durchführung der biochemischen Analysen und deren statistischen Auswertung sowie für seine wertvollen Ratschläge, die das Entstehen der Arbeit vielfältig gefördert haben.

Meiner Familie und meinen Eltern danke ich besonders für ihre Anteilnahme am Wachsen und Werden der Arbeit, für die moralische Begleitung und für die Unterstützung im Alltag, die mich in die Lage versetzten, diese Dissertation anzufertigen.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, die vorliegende Arbeit selbstständig, unter Verwendung der angegebenen Literatur angefertigt und weder vorher noch gleichzeitig bei einer anderen Fakultät eingereicht zu haben.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass keine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades vorliegt.