**Zeitschrift:** Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen

Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences

médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

Herausgeber: Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

**Band:** 35 (1979)

**Artikel:** Die chronische Polyarthritis ; Rolle der Polymorphkernigen Leukozyten

bei der Zerstoerung von Pannus-freiem Gelenkknorpel

**Autor:** Fehr, K. / Baici, A. / Velvart, M.

**DOI:** https://doi.org/10.5169/seals-309097

#### Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

#### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

#### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

**Download PDF: 25.11.2025** 

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

# DIE CHRONISCHE POLYARTHRITIS: ROLLE DER POLYMORPH-KERNIGEN LEUKOZYTEN BEI DER ZERSTOERUNG VON PANNUS-FREIEM GELENKKNORPEL\*

K. FEHR, A. BAICI, M. VELVART, M. KNÖPFEL, M. RAUBER, G. SOMMERMEYER, P. SALGAM, G. COHEN und A. BÖNI

## Zusammenfassung

Das Gelenkexsudat von Patienten mit chronischer Polyarthritis (cP) enthält grosse Mengen von polymorphkernigen Leukazyten (PMN). Granula von PMN besitzen mindestens 2 neutrale Enzyme (Elastase, Kathepsin G), welche Proteoglykane und natives Kollagen spalten, sowie 2 neutrale Kollagenasen. Verschiedene indirekte Befunde lassen vermuten, dass PMN
bei der Knorpeldestruktion der cP wichtig sind.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass das Gelenkexsudat von 19 cP Patienten weder freie Elastase noch freie Kollagenase enthält. PMN des Exsudats – und weniger Exsudat-Makrophagen – enthalten Elastase nebst  $\alpha_1$ -Antitrypsin und  $\alpha_2$ -Makroglobulin. Periphere PMN von Blutspendern enthalten Elastase, währenddem Blut-Monozyten nicht mit Anti-PMN-Elastase-Antikörpern reagieren. Beide peripheren Zelltypen enthalten kein  $\alpha_1$ -Antitrypsin und kein  $\alpha_2$ -Makroglobulin. Im oberflächlichen Pannus-freien cP-Gelenk-knorpel kann immunhistochemisch PMN-Elastase nachgewiesen werden. Diese Befunde sind vereinbar mit der Hypothese, dass die im cP-Gelenkraum anfallenden Enzyme durch physiologische Inhibitoren meist komplett blockiert und von den Phagozyten beseitigt werden. Die Enzym-Inhibitorschranke wird vermutlich während der "Frustrated Phagocytosis" umgangen, so dass PMN-Enzyme den Knorpel trotzdem schädigen können.

21

<sup>\*</sup> Projekt unterstützt durch Kredit Nr. 3.873–0.77 des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung sowie durch Kredit der Eidgen. Kommission zur Bekämpfung Rheumatischer Erkrankungen des Eidg. Gesundheitsamtes.

### Summary

The synovial fluid (SF) of RA patients contains large amounts of PMN which are well equipped with neutral enzymes to degrade articular cartilage: elastase and cathepsin G, which both destroy proteoglycans and native collagen, as well as 2 types of collagenases. Indirect evidence suggests that PMN might be important in the destruction of RA articular cartilage.

In 19 SF of RA patients no free elastase or collagenase was found. Using immune histochemical methods, we observed that PMN and macrophages of SF contain both elastase and  $\alpha_1$ -anti-trypsin and  $\alpha_2$ -macroglobulin. Peripheral PMN – but not monocytes – contain elastase, however both types of cells lack  $\alpha_1$ -antitrypsin and  $\alpha_2$ -macroglobulin. Elastase is demonstratable in the superficial layer of pannus free RA articular cartilage.

These findings suggest that neutral proteinases from PMN in RA SF are generally neutralized by physiologic inhibitors and removed by phagocytes. The enzyme-inhibitor interaction might be bypassed during "frustrated phagocytosis" so that enzymes like PMN elastase can damage RA articular cartilage.

Aus klinischen Beobachtungen geht hervor, dass die meisten Gelenkschübe bei chronischer Polyarthritis (cP) von einem entzündlichen Gelenkexsudat begleitet sind. Rund 80 % der Exsudatzellen sind polymorphkernige Leukozyten (PMN), welche infolge chemotaktischer Stimuli in den Gelenkraum einwandern und hier einer regen Phagozytosetätigkeit – insbesondere von Immunkomplexen – unterliegen. Die durchschnittliche Zahl der PMN pro mm beträgt in 40 eigenen Fällen rund 12'000 und die Gesamtzahl der PMN im entzündeten Kniegelenk erreicht nach BARRETT (1) sowie HOLLINGSWORTH et al. (2) oft mehr als 10<sup>8</sup>. Da die phagozytierenden PMN im Gelenk eine Halbwertszeit von 3 – 4 Std. haben (2), darf angenommen werden, dass im Kniegelenk pro Tag oft mehr als 5x10<sup>8</sup> PMN zerfallen und unter anderem auf diesem Wege ihren Enzymgehalt ausschütten.

Das in erster Linie durch PMN lädierbare Gewebe im Gelenkraum ist der Knorpel. Dieser exponiert seine mechanisch bedeutsamen Strukturelemente – also Proteoglykane und darin eingepackte Kollagenfasern – ungeschützt gegen den Gelenkraum hin. Enzym-haltige Zellen, welche diese Materialien zerstören können, sind deshalb potentiell wichtige Effektoren für die bei cP-Patienten auftretende Knorpelzerstörung.

In den folgenden Ausführungen werden 3 Fragenkomplexe diskutiert, nämlich:

- 1. Was für Enzyme besitzen die PMN, welche den Knorpel entscheidend schädigen können?
- 2. In welcher Weise können diese freigesetzten Enzyme der PMN die physiologischen Schutzwirkungen der Enzyminhibitoren umgehen?

Tabelle 1. Knorpelmatrix-zerstörende Enzyme in neutrophilen Granulozyten.

Name des Enzyms	pH-Optimum	Substrate der Knorpelmatrix Proteoglykan und natives Kollagen	
Elastase	neutral		
Kathepsin G	neutral		
Proteinase III	neutral	?	
Kollagenase 1**	neutral	natives Kollagen	
Kollagenase II**	neutral	natives und denaturiertes Kollagen	
Kathepsin B	sauer bis neutral	Proteoglykan und Kollagen	

<sup>\*</sup> Kathepsin D nicht aufgeführt, da sehr niedriges pH-Optimum

3. Welche indirekten und direkten Beweise liegen vor, dass PMN den Gelenkknorpel bei cP schädigen?

## Enzyme der PMN, welche die Knorpelgrundsubstanz in vivo entscheidend schädigen können.

Der pH des entzündlichen Gelenkexsudats liegt im allgemeinen höher als 6,7 (3) und dementsprechend kommen wahrscheinlich nur jene Enzyme für die Knorpeldestruktion in Frage, die oberhalb dieses pH-Wertes wirksam sind. Die in diese Gruppe fallenden PMN-Enzyme sind gemäss Tab. I die Elastase und Kathepsin G, Proteinase III, Kollagenase I und II sowie evt. Kathepsin B. Kathepsin D kommt wegen seines tiefen pH-Optimums für den hier besprochenen Typ der Knorpeldestruktion nicht in Frage.

Die Eigenschaften von Elastase und Kathepsin G hinsichtlich Knorpelmatrix wurden von STARKEY et al. (5) untersucht, währenddem der Effekt von Proteinase III gegenüber Knorpelmatrix bisher unbekannt ist (6). Elastase und Kathepsin G bauen zuerst die Proteoglykane und dann auch die Kollagenfibrillen ab. Im Gegensatz zu den klassischen Kollagenasen spalten sie die nicht-helikale Portion des Tropokollagens, in welcher die inter- und intramolekulären Cross-links vorkommen (5). In der Folge zerfallen die Kollagenfasern spontan und können weiter abgebaut werden.

Gemäss jüngster Befunde enthalten PMN nicht nur die von LAZARUS et al. (7) beschriebene Kollagenase mit MG von rund 60'000, sondern eine zweite Kollagenase mit MG von 150'000, die von COHEN et al. (4) erstmals weitgehend gereinigt wurde (Kollagenase II gemäss Tab. 1). Beide Enzyme liegen teilweise in inaktiver Form vor (4) und werden durch einen aus cP-Gelenkflüssigkeit isolierbaren Aktivator aktiviert (8). Dieser Aktivator ist für beide latenten Kollagenasen hochgradig spezifisch, konnte bislang keinem bekannten Enzym zugeordnet werden und seine zelluläre Herkunft ist unbekannt (4, 8). Die aktivierte gross-

<sup>\*\*</sup> Differenzierung gemäss Cohen et al. 1979 (4)

Tabelle 2. Enzymaktivitäten in Gelenkexsudaten von Patienten mit chronischer Polyarthritis.

Keine freie Elastase in 19 Punktaten (1.)

Keine freie Kollagenase in 19 Punktaten (2.)

Keine Elastase-Inhibitor-Komplexe in Lösung in 10 Punktaten bei Ueberschuss von  $\alpha_1$ -Antitrypsin und  $\alpha_2$ -Makroglobulin (3.)

- Elastase Substrat: Succinyl-Alanil-Prolil-Valylaminomethyl-Coumarin (in einigen Fällen wurde zudem Elastin als Substrat verwendet)
- 2. Radiomarkierte rekonstituierte Kollagenfibrillen aus Rattenhaut (4) als Substrat.
- Immunodiffusion mittels spezifischen Antikörpern gegen PMN-Elastase, α<sub>1</sub>-Antitrypsin und α<sub>2</sub>-Makroglobulin.

molekuläre Leukozytenkollagenase spaltet nicht nur natives, sondern auch denaturiertes Kollagen, d.h. sie besitzt gleichzeitig kollagenolytische und gelatinolytische Eigenschaften (4).

Insgesamt gesehen enthalten PMN also – nebst den sauren Proteinasen – 4 gut charakterisierte neutrale Enzyme, welche natives Kollagen spalten, wobei 2 dieser Enzyme auch neutrale Proteoglykanasen sind. Die doppelte Eigenschaft von Elastase und Kathepsin G als Proteoglykanase und Kollagenase erhebt diese Enzyme zu potentiell sehr wichtigen Kandidaten der cP-Knorpeldestruktion.

# 2. Physiologische Schutzmechanismen der Enzymwirkung im Gelenkraum und deren mögliche Durchbrechung.

OHLSSON und DELSHAMMAR (9) sowie BARRETT (1) haben berechnet, dass  $10^6$  PMN ca. 4  $\mu g$  Elastase und Kathepsin G enthalten. Unter den oben erwähnten Bedingungen würden demzufolge mindestens 2 mg dieser beiden Enzyme pro Tag im Kniegelenk freigesetzt. Diese Enzymmengen würden genügen, um den gesamten Kniegelenksknorpel in 1 Tag zu zerstören. Dass diese äusserst massive und schnelle Knorpeldestruktion nicht eintritt, ist in erster Linie den physiologischen Enzyminhibitoren zuzuschreiben, unter denen  $\alpha_1$ -Antitrypsin und  $\alpha_2$ -Makroglobulin die wichtigsten sind.

PICCINO et al. (10) fanden in rund 20 % entzündlich-rheumatischer Gelenkexsudate bei physiologischem pH freie proteolytische Aktivität gegenüber Casein, wobei die dafür verantwortlichen Proteinasen noch unbekannt sind. Mittels eines Elastase-spezifischen kleinmolekulären Substrates\*, welches kleinste Mengen freier Elastase nachweisen lässt, fanden wir gemäss Tab. 2 in 19 cP- und 35 weiteren Gelenkexsudaten keine freie Elastase. In den

<sup>\*</sup> Substrat freundlicherweise von Prof. Dr. M. Baggiolini, Bern, zur Verfügung gestellt.

Tabelle 3. Vorkommen von Elastase und physiologischen Inhibitoren in Phagozyten des Blutspender-Blutes und des Gelenkexsudats von Patienten mit chronischer Polyarthritis\*.

Quelle der	Polymorp	Polymorphkernige Leukozyten:		Monozyten/Makrophagen:	
Phagozyten	Blut	Gelenkexsudat	Blut	Gelenkexsudat	
Blutspender					
Elastase	+		neg		
a 1 - Antitrypsin	neg		neg		
a 2-Makroglobulin	neg		neg		
Patienten mit chronische	er				
Polyarthritis					
Elastase		**		+	
a 1-Antitrypsin		+		+	
a 2-Makroglobulin		+		+	

<sup>\*</sup> Peroxidase-Anti-Peroxidase Methode mit spezifischen Antikörpern; Methode nach Sternberger et al. (12).

gleichen 19 cP-Punktaten fand sich ebenfalls keine freie kollagenolytische Aktivität. Unter der Annahme, dass die Elastase durch physiologische Inhibitoren blockiert sei, wurde mittels spezifischer anti-Elastase-Antikörper vom Kaninchen\*\* versucht, gebundene Elastase durch Immunodiffusion nachzuweisen. 10 cP-Punktate waren auch mit dieser Methode negativ, hingegen zeigten alle a<sub>1</sub>-Antitrypsin und a<sub>2</sub>-Makroglobulin. (Antikörper von Cappel Lab., Inc., Downingtown, PA 19335 USA). Die Zugabe variabler Mengen von Trypsin zu einigen dieser Punktate ergab, dass grössere Mengen freier Enzyminhibitoren vorhanden waren. Zu einer ähnlichen Schlussfolgerung gelangte BARRETT, der in 20 cP-Exsudaten immer einen Ueberschuss freier Inhibitoren fand (1).

Da Enzym-Inhibitorkomplexe von phagozytierenden Zellen aufgenommen und eliminiert werden können (11), wurden mittels spezifischer Antikörper gegen Elastase sowie  $\alpha_1$ -Anti-trypsin und  $\alpha_2$ -Makroglobulin und unter Verwendung der Peroxidase-Anti-Peroxidase, Methode nach STERNBERGER et al. (12), die Exsudatzellen von cP-Patienten untersucht und diese mit Leukozyten von Blutspendern verglichen. Es ergaben sich folgende Befunde (Tab.3):

- Periphere PMN enthalten Elastase in kleinen Granula in Kernnähe, Blut-Monozyten aber reagieren nicht mit Anti-PMN-Elastase Antikörpern
- 2. Periphere PMN und Monozyten enthalten kein  $\alpha_1$ -Antitrypsin oder  $\alpha_2$ -Makroglobulin, wohl aber die PMN und Makrophagen des Exsudats

<sup>\*\*</sup> Elastase nach eigener Methode (13) aus menschlichen Blutleukozyten gereinigt und damit Kaninchen immunisiert. Anti-Elastase-Antikörper durch an Cyanobromid aktivierte Sepharose gekoppelte Elastase absorbiert und eluiert. Diese Antikörper sind spezifisch für PMN-Elastase (bisher nicht publiziert).

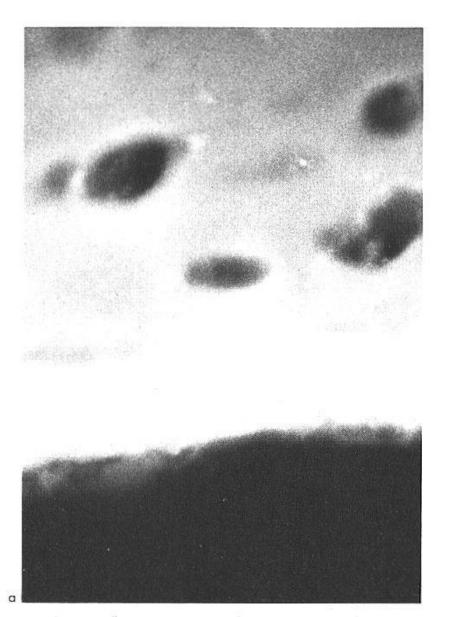
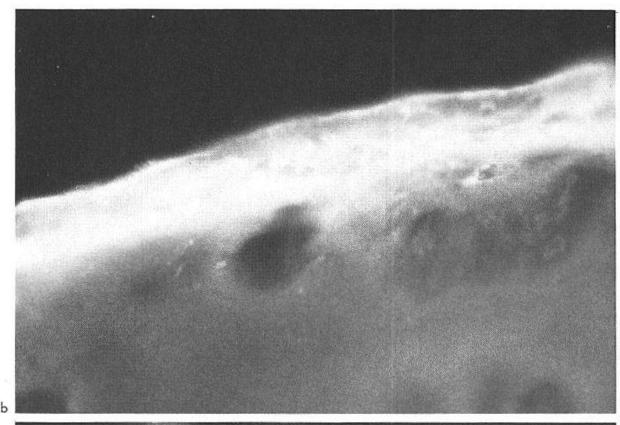
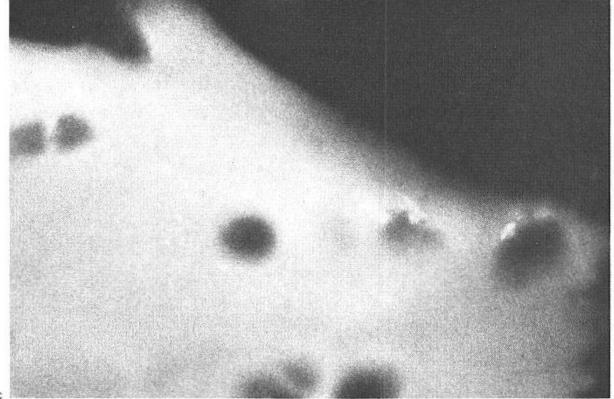


Fig. 1. Immunfluoreszenzuntersuchung von Pannus-freiem cP Gelenkknorpel mittels spezifischen Anti-PMN-Elastase Antikörpern vom Kaninchen.

- a) F\u00e4rbung mit FITC markierten Anti-Elastase Antik\u00f6rpern: die Elastase hat die oberfl\u00e4chliche Knorpelschicht penetriert und ist als deutliche Bande erkennbar.
- b) Indirekte F\u00e4rbung mit nicht markierten Anti-Elastase-Antik\u00f6rpern und FITC markiertem Anti-Kaninchen IgG. Die Elastase hat die oberfl\u00e4chliche Knorpelschicht penetriert und ist als deutliche Bande erkennbar.
- c) Die Elastase-Bande im Knorpel ist blockiert, wenn der Knorpel vorerst mit nicht markierten Anti-Elastase-Antikörpern und danach mit FITC markierten Anti-Elastase-Antikörpern inkubiert wird.





3. Exsudat-PMN enthalten Elastase diffus verteilt in grossen zytoplasmatischen Granula in gleicher Lokalisation wie beide Typen der Enzyminhibitoren und desgleichen enthalten Exsudat-Makrophagen Granula mit Elastase nebst Enzyminhibitoren

Die Interpretation dieser Befunde im Gelenkpunktat (Tab. 2 und 3) ist vereinbar mit der äusserst wahrscheinlichen Hypothese, dass im Gelenkraum freigesetzte neutrale Proteinasen durch physiologische Inhibitoren blackiert und als Enzym-Inhibitorkomplexe von den Phagozyten rasch beseitigt werden. Damit erscheint es unwahrscheinlich, dass diese Enzyme in der flüssigen Phase knorpelschädigend wirken und es erhebt sich die Frage, in welcher Weise die Blackade der Enzyminhibitoren durchbrochen werden kann.

Eine Durchbrechung der Inhibitor-Blockade wäre denkbar, wenn kurzfristig sehr grosse Mengen von Enzymen freigesetzt würden. Auf diese Möglichkeit weisen die klassischen Versuche von WEISSMANN et al. (14), wobei Lysosomenextrakt aus Kaninchen-Granulozyten ins Kniegelenk von Kaninchen injiziert und dabei massive Knorpelveränderungen festgestellt wurden. Eine derartige Situation könnte theoretisch bei cP-Patienten mit sehr hohen Zellzahlen im Exsudat eintreten. Von weitaus grösserer Bedeutung scheinen jedoch die von COOKE et al. (15) und ISHIKAWA et al. (16) erhobenen Befunde, dass cP-Knorpel in den oberflächlichen Schichten eingelagerte Immunkomplexe enthält.

Untersuchungen von JASIN (17) und ORONSKY et al. (18) mit tierischem Knorpel haben gezeigt, dass sich PMN am Knorpel mit oberflächlich eingelagerten Immunkomplexen ansammeln bzw. Proteoglykane daraus herauslösen. Der Prozess wurde von HENSON "frustrated phagocytosis" genannt (19), wobei Lysosomeninhalt in einer vom umgebenden Medium isolierten, gegen den Knorpel hin offenen Vakuole freigesetzt wird und dabei nicht mit Enzyminhibitoren in Kontakt zu kommen braucht. Dementsprechend könnte die Tatsache, dass die cP eine gelenkständige Immunkomplexkrankheit ist, dafür Anlass sein, dass der Knorpel für die Schädigung durch PMN prädisponiert ist.

#### 3. Indirekte und direkte Beweise für die Knorpelschädigung durch PMN bei cP

Obwohl die Knorpelschädigung durch PMN bei aP äusserst wahrscheinlich ist, konnten bis heute keine direkten Beweise dafür erbracht werden. Im allgemeinen wird angenommen, dass der von der Gelenkkapsel auswachsende Pannus den Knorpel zerstört und dass dabei die PMN keine wesentliche Rolle spielen. Neuerdings ist jedoch MOHR und WESSINGHAGE der Nachweis gelungen, dass auch im Pannus-Bereich die PMN mit grosser Wahrscheinlichkeit am Destruktionsprozess beteiligt sind (20).

<u>Indirekte Hinweise</u> für die Knorpeldestruktion durch PMN im Pannus-freien Bereich der cP sind:

- a) Tierversuche (LOWTHER und GILLARD (21): PMN reiches Exsudat bewirkt raschen Verlust der Knorpelproteoglykane nach Injektion von Carrageenin).
- b) Präsenz grosser Mengen von PMN im Exsudat bei cP
- c) Einlagerung von Immunkomplexen in cP-Knorpel, welche die "frustrierte Phagozytose" ermöglichen. In solchen Zonen lassen sich phagozytierende PMN nachweisen (22).
- d) Proteoglykanverlust aus cP-Knorpel im Pannus-freien Knorpel (JANIS und HAMERMAN (23); LAGIER und TAILLARD (24))
- e) Lokalisierte Zerstörung der freien Knorpeloberfläche bei cP: elektronenmikroskopische Befunde von KUMURA et al. (25).

Da die Elastase gemäss Untersuchungen von JANOFF et al. (26) nach Inkubation mit Kaninchenknorpel mittels Immunfluoreszenztechnik im Knorpel nachweisbar ist, haben wir untersucht, ob mit unseren spezifischen Anti-Elastase Antikörpern Elastase im Pannus-freien cP
Knorpel lokalisiert werden kann und damit direkte Hinweise für die Knorpelzerstörung bei
cP durch PMN gewonnen werden können.

Fig. 1 zeigt, dass unter Verwendung der direkten (Fig. 1a) und der indirekten Immunfluoreszenzmethode (Fig. 1b) PMN-Elastase in der oberflächlichen Knorpelzone eines cP-Kniegelenks nachweisbar ist. Das Enzym lässt sich in zahlreichen Schnittebenen in bandförmiger
Lokalisation feststellen, hat den Knorpel unterschiedlich tief penetriert und der Fluoreszenzbefund ist blockierbar durch nicht-markierte Antikörper (Fig. 1c). Nebst PMN-Elastase werden in denselben Knorpelschichten grosse Mengen von  $\alpha_1$ -Antitrypsin und Spuren von  $\alpha_2$ Makroglobulin gefunden.

Der Nachweis von PMN-Elastase im oberflächlichen Pannus-freien cP-Knorpel liefert unseres Erachtens ein erstes direktes Argument dafür, dass dieses Enzym für die Knorpelzerstörung von cP-Patienten bedeutsam ist. Es lässt sich deshalb vermuten, dass auch andere Enzyme von PMN an der Knorpelzerstörung beteiligt sind, deren Rolle durch zukünftige Forschungen genauer abgeklärt werden muss.

#### Verdankungen:

Wir danken Frl. E. Feller für die Hilfe bei der Fertigstellung des Manuskriptes und Herrn Prof. Dr. N. Gschwend für die Ueberlassung von Knorpelmaterial.

- Barrett A.J.: The possible role of neutrophil proteinases in damage to articular cartilage. Agents and Actions, 8, 11-17, 1978.
- Hollingsworth J.W., Siegel E.K. and Creasey W.A.: Granulocyte survival in synovial exudate of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory joint diseases. Yale J.Biol.Med., 39, 289–296, 1967.

- 3. Ward T.T. and Steigbigel R.T.: Acidosis of synovial fluid correlates with synovial fluid leucocytosis. Am.J.Med., <u>64</u>, 933–936, 1978.
- 4. Cohen G., Baici A., Fehr K. and Böni A.: Partial purification and characterization of the high molecular weight latent collagenase from human leucocytes. Scand. J. Rheumatol.: In press.
- Starkey P.M., Barrett A.J. and Burleigh M.C.: The degradation of articular collagen by neutrophil proteinases. Biochim. Biophys. Acta, 483, 386-397, 1977.
- Baggiolini M., Bretz U., Dewald B. and Feigenson M.E.: The polymorphonuclear leucocyte. Agents and Actions, 8, 3-10, 1978.
- Lazarus G.S., Daniels J.L. and Burleigh M.C.: Role of granulocyte collagenase in collagen degradation. Amer. J. Path. 68, 565-576, 1972.
- Kruze D., Salgam P., Cohen G., Fehr K. and Böni A.: Purification and some properties
  of collagenase proenzyme activator from rheumatoid synovial fluid. Z.Rheumatol., <u>37</u>,
  355–365, 1978.
- Ohlsson K. and Delshammar M.: Interactions between granulocyte elastase and the plasma proteinase inhibitors in vitro and in vivo, in: Dynamics of connective tissue macromolecules (Eds. P.M. Burleigh and A.R. Poole: North-Holland Publ.Co., Amsterdam, 1975), pp. 259-275.
- Piccino-Baenziger A.E., Micheli A. and Vischer T.L.: Free proteases in synovial fluid. Zitiert von: Vischer T.L.: The role of proteases in the maintenance of chronic inflammation: EULAR Monograph Series Nr. 1, 1977, edit. by K. Fehr/E.G. Huskisson/E. Wilhelmi, pp. 265-269.
- 11. Dolovich J., Debanne M.T. and Bell R.: The role of  $\alpha_1$ -antitrypsin and  $\alpha_2$ -macroglobulins in the uptake of proteinase by rabbit alveolar macrophages. Am. Rev. Respiratory Dis. 112, 521–525, 1975.
- Sternberger L.A., Hardy P.H., Cuculis J.J. and Meyer H.G.: The unlabeled antibody enzyme method of immunochemistry: Preparation and properties of soluble antigenantibody complex (Horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. J.Histochem.Cytochem. 18, 315-333, 1970.
- Kruze D., Menninger H., Fehr K. and Böni A.: Purification and some properties of a neutral protease from human leucocyte granules and its comparison with pancreatic elastase. Biochim.Biophys.Acta, 438, 503-513, 1976.
- Weissmann G., Spilberg J. and Krakauer K.: Arthritis induced in rabbits by lysates of granulocyte lysosomes. Arthritis Rheum. 12, 103-116, 1969.
- Cooke T.D., Hurd E.R., Jasin H.E., Bienenstock M. and Ziff M.: Identification of immunoglobulins and complement in rheumatoid articular collagenous tissues. Arthritis Rheum. <u>18</u>, 541–551, 1975.
- Ishikawa H., Smiley J.D. and Ziff M.: Electronmicroscopic demonstration of immunoglobulin deposition in rheumatoid cartilage. Arthritis Rheum. 18, 563-576, 1975.
- Jasin H.E.: Vortrag über Immunkomplexablagerung im Knorpel, gehalten am 23.11.78
   anlässlich "International Symposium on the Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis",
   Guy's Hospital, London.
- Oronsky A., Ignarro L. and Perper R.: Release of cartilage mucopolysaccharide-degrading neutral protease from human leucocytes. J.Exp.Med., 138, 461-472, 1973.
- Henson P.M.: The immunologic release of constituents from neutrophil leucocytes. II.Mechanisms of release during phagocytosis and adherence to nonphagocytosable surfaces. J. Immunol. 107, 1547–1557, 1971.
- Mohr W. and Wessinghage D.: The relationship between polymorphonuclear granulocytes and cartilage destruction in rheumatoid arthritis. Z.Rheumatol. 37, 81-86, 1978.
- Lowther D.A. and Gillard G.C.: Carrageenin-induced arthritis. The effect of intraarticular carrageenin on the chemical composition of articular cartilage. Arthritis Rheum. 19, 769-776, 1976.

- Ohno Osamu and Cooke T.D.: Electron microscopic morphology of immunoglobulin aggregates and their interactions in rheumatoid articular tissues. Arthritis Rheum. <u>21</u>, 516–527, 1978.
- Janis R. and Hamerman D.: Articular cartilage changes in early arthritis. Bull. Hosp. Joint. Dis. 30, 136-152, 1969.
- 24. Lagier R. and Taillard W.: Softening of the cartilage and arthritis of the rheumatoid type. Acta orthop. Scandinav. 40, 300–316, 1969.
- 25. Kimura H., Tateishi H. and Ziff M.: Surface ultrastructure of rheumatoid articular cartilage. Arthritis Rheum. 20, 1085–1098, 1977.
- 26. Janoff A., Feinstein G., Malemud C.J. and Elias J.M.: Degradation of cartilage proteoglycan by human leucocyte granule. Neutral protease – A model of joint injury. I. Penetration of enzyme into rabbit articular cartilage and release of 35\$04-labeled material from the tissue.

Korrespondenz an: Prof. Dr. med. K. Fehr, Rheumaklinik des Universitätsspitals, CH-8091 Zürich (Schweiz)