

Synovia-Analyse bei Gelenkpaaren mit unterschiedlicher histologischer Befundung

J. Schwierczena, D. Fischer¹, W. Küpper und
H. Greiling¹

Institut für Versuchstierkunde und experimentelle Chirurgie
der medizinischen Fakultät der RWTH Aachen und

¹ Institut für Biochemie und Pathobiochemie
der medizinischen Fakultät der RWTH Aachen

Einführung

Die bisherigen Untersuchungen über die Synovialflüssigkeit des Pferdes bezogen sich immer auf klinisch gesunde und klinisch kranke Pferde. Die Ergebnisse der Analysen wurden aufgrund der physiologischen Gegebenheiten in die Gruppen physiologisch gesund und physiologisch krank eingeteilt (Bolbol, 1985; gac, 1981; McIlwraith, 1980; van Pelt, 1974; Tew, 1983). Nur Bolbol (1985) und van Pelt (1974) haben gelenkspezifische Normalwerte für das Fesselgelenk des Pferdes festgelegt, und dies, obwohl Persson (1971) große Unterschiede gerade zwischen dem Fesselgelenk und anderen Gelenken fand.

Bisher schloß man meist aufgrund der Knorpelfragmente bzw. des makroskopischen Erscheinungsbildes des Gelenkknorpels auf seinen histologischen Zustand. Die Synoviaanalyse begleitende histologische Untersuchungen des Gelenkknorpels fanden nicht statt. Ebenso wurden bisher vergleichende Untersuchungen von Gelenkpaaren des gleichen Pferdes noch nicht durchgeführt.

Widersprüchliche Aussagen findet man zur Beziehung zwischen der Konzentration der Hyaluronsäure (Hyaluronan) und der Erkrankung des Gelenkes. So stellen Hilbert et al. (1985) eine Erniedrigung des Hyaluronangehalts im arthrotischen Gelenk fest, während Little et al. (1990) keine Beziehung zwischen Hyaluronan, Proteoglykananteil, der Synovialanalyse allgemein und dem Gelenkschaden bestätigen konnten. McIlwraith (1983) gibt an, daß der Proteoglykananteil der Synovialflüssigkeit zu Beginn der Gelenkschädigung erniedrigt ist, dagegen stellt Horselev-Peterson (1988) gerade eine Erhöhung dieses Proteoglykananteils bei Gelenkschäden fest, genauso wie Heinegard et al. (1991) in der Humanmedizin bei rheumatisch arthrotischen Gelenken.

Tew (1981) unterstellt einen direkten Zusammenhang zwischen der Viskosität und dem Hyaluronananteil, während Muir (1978) behauptet, daß die Schmierung nicht allein dem Hyaluronananteil zuzuschreiben ist, sondern von einer hochmolekularen Glykoproteinfraktion in sehr

Zusammenfassung

Von 4 klinisch fesselgelenkgesunden Pferden, bei denen aber die histologische Untersuchung eines Gelenkknorpels aus der Fovea articularis medialis des Fesselbeins eine einseitige Gelenkknorpeldegeneration zeigte (kontralaterale Seite unauffällig), wurden in der Synovialflüssigkeit folgende Parameter bestimmt: Viskosität (rotationsviskosimetrische Messung), Hyaluronan (RIA), Keratansulfat (ELISA), Zellzahl, Zelldifferenzierung, LDH, alpha HBDH, Cholinesterase, Natrium, Chlorid, Calcium, anorg. Phosphat, ges. Protein, ges. Bilirubin, Glukose. Beim Vergleich der erhaltenen Werte wurden keine Anhaltspunkte gefunden, die eine Einteilung in unauffällige und degenerierte Gelenke erlaubten, da sich die Spannweiten der beiden Gruppen überschneiden. Ebenso konnte ein oft unterstellter Zusammenhang zwischen Viskosität und Hyaluronangehalt nicht bestätigt werden. Aufgrund der Spannweite der Werte erscheint es fraglich, ob die bisherige Angabe der Normalwerte beibehalten werden kann oder ob man nicht eine größere physiologische Breite angeben muß.

Synovial fluid analysis on jointpairs with different histological state

From 4 clinical fetlockjoint sound horses, where the histological examination of the cartilage from the fovea articularis medialis of the fetlockbone showed a different histological state (one side normal, the other side degenerated), the concentration of the following parameters were determined: hyaluronate (RIA), keratansulfate (ELISA), LDH, alpha HBDH, cholinesterase, sodium, calcium, anorganic phosphate, total protein content (TPC), bilirubin and glucose. Moreover, WBC, celldifferentiation and viscosity (rotationviscosimetric) were determined. No significant differences in the synovial fluids of either the histological normal or the degenerated joints were detected. It should be discussed to determine a wider physiological range of viscosity and concentration of the parameters mentioned above instead of giving normal values.

geringer Menge bestimmt wird. Der Hyaluronananteil selbst schmiert nur die Synovialmembran und spielt eine wichtige Rolle bei der Aggregation der Proteoglykane, und auch Sander (1990) sieht keinen grundsätzlichen Zusammenhang zwischen der Viskosität und dem Hyaluronananteil.

Tew (1981) bewertet die Zahl und die Morphologie der frei in der Synovialflüssigkeit vorhandenen Knorpelfragmente sehr hoch, da er einen Zusammenhang mit dem Ausmaß des Gelenkknorpelschadens unterstellt. McIlwraith (1983) gewichtet die Knorpelfragmente ebenfalls sehr stark, gibt aber gleichzeitig an, daß auch bei 40 % der gelenkgesunden Pferde Knorpelfragmente in der Synovialflüssigkeit nachweisbar sind. Sander (1990), der sich mit Corpora libera im Tarsalgelenk beschäftigt, gibt dagegen in seinen Synovialanalysen keine Knorpelfragmente an.

Obwohl Rejnö schon 1976 zeigte, daß bei der Synovialflüssigkeit als nichtnewtonscher Flüssigkeit Kapillarviskosimeter nur eine sehr eingeschränkte Aussagekraft in bezug auf die Viskositätsmessung haben, werden dennoch in den meisten Untersuchungen andere Viskosimeter benutzt als das Rotationsviskosimeter, das als einziges eine zuverlässige Messung der Viskosität bei nichtnewtonschen Flüssigkeiten erlaubt.

Diese Widersprüche in der Bewertung der Synovialanalyse gaben Anlaß zu folgender Untersuchung.

Material und Methode

4 Reitpferde (Typ Deutsches Warmblut) im Alter von 5 bis 12 Jahren, die keine klinischen Symptome an den vorderen Fesselgelenken zeigten und deren eröffnete Fesselgelenke makroskopisch gesund erschienen, wurden in diese Untersuchung aufgenommen. Diese vier Gelenkpaare zeigten aber bei der histologischen Untersuchung einer Gelenkknorpelprobe aus der Fovea articularis medialis des Fesselbeins einen unterschiedlichen histologischen Befund. Während die Probe aus dem einen Gelenk histologisch ohne besonderen Befund war, war die aus dem kontralateralen Gelenk als degeneriert einzustufen.

Alle Pferde wurden einer klinischen Lahmheitsuntersuchung (Adspektion, Palpation, Vortraben auf hartem Boden, Beugeproben der Zehengelenke) unterzogen und zeigten dabei keine besonderen Befunde an diesen Gelenken. Anschließend wurden unter sterilen Kautelen die Fesselgelenke punktiert und die Synovia gewonnen. Die Synovia wurde dann in zwei Aliquots aufgeteilt. Der zur Zellzählung und Zelldifferenzierung benötigte wurde nativ belassen und auf 2–6° C gekühlt. Der andere, zur chemisch und physikalischen Analyse benötigte, wurde unmittelbar nach Gewinnung zentrifugiert und ebenso gekühlt. Nach der Tötung der Tiere wurde das Fesselge-

lenk eröffnet und jeweils aus der medialen Fovea articularis des Fesselbeins eine Knorpelprobe entnommen, welche bis zur histologischen Untersuchung, in 10%iger Formalinlösung fixiert, gekühlt aufbewahrt wurde. Aus der zentrifugierten Synovia wurde mittels Rotationsviskosimeters die Viskosität bestimmt, mittels RIA (Pharmacia, Uppsala) der Gehalt an Hyaluronan bzw. mittels eines ELISA der Keratansulfatgehalt ermittelt; nach Zusatz von Hyaluronidase diente er auch zur Bestimmung der Enzyme und Substrate.

Ergebnisse

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind aus Tabelle 1 ersichtlich, wobei aus Gründen der Übersichtlichkeit die jeweils histologisch unauffällige Seite des Beinpaars vorangestellt wurde. Nach diesen Ergebnissen kann man aufgrund der einzelnen Parameter keine Einteilung in histologisch unauffällige bzw. histologisch degenerierte Gelenke vornehmen, da die Streuung der Werte zu groß ist. Lediglich bei den Elektrolyten und den niedermolekularen Substraten ist eine relativ geringe Streuung vorhanden, was aufgrund des schnellen Austauschs zwischen Plasma und Synovialflüssigkeit für diese Substanzen auch nicht anders zu erwarten ist. Dagegen weichen sowohl bei der Zelldifferenzierung als auch bei den Zellzahlen die Werte des rech-

Tab. 1: Ergebnisse der Synovialanalyse, zugunsten der Übersichtlichkeit ist die histologisch unauffällige Seite stets vorangestellt

Probe	Alter Jahre	Menge ml	Histologie	Viskosität mPas	Hyaluronan g/l	Keratansulfat mmol/l	Zellzahl pro μ l
06 L	8	5	o. b. B.	75,0	6,9	0,54	460
06 R	8	5	degen.	42,2	12,0	0,56	720
10 R	12	8	o. b. B.	92,6	5,1	0,16	270
10 L	12	8	degen.	76,0	3,0	0,15	90
13 L	5	5	o. b. B.	10,1	21,2	0,12	250
13 R	5	5	degen.	160,1	16,5	5,16	350
14 R	10	8	o. b. B.	22,5	15,2	9,86	340
14 L	10	7	degen.	15,9	16,9	4,76	240

Probe	Monozyten	Lymphozyten	Knorpelzellen	LDH	alpha HBDH	Cholinesterase	Natrium
	%	%	%	U/l	U/l	U/l	mmol/l
06 L	63	34	1	326	127	259	139
06 R	34	63	0	204		222	139
10 R	73	25	0	273	75	343	140
10 L	64	33	0	1311	317	183	140
13 L	66	31	0	295	72	174	141
13 R	62	37	0	688	162	203	139
14 R	39	48	5	260	77	357	140
14 L	52	48	0	183		270	140

Probe	Kalium mmol/l	Ges. Protein g/l	Calcium mmol/l	anorg. Phosphat mmol/l	Kreatinin μ mol/l	Ges. Bilirubin μ mol/l	Glucose mmol/l
06 L	5,20	6	2,44	1,63		1	2,30
06 R	5,30	5	2,38	1,47		1	2,30
10 R	8,60	9	2,40	1,31		4	0,40
10 L	7,90	6	2,68	1,46	124	2	0,20
13 L	4,70	4	2,36	0,96	127	4	2,70
13 R	5,20	5	2,29	1,04	129	3	3,30
14 R	4,70	7	2,23	0,85	130	23	1,50
14 L	4,90	6	2,23	0,89	120	6	1,50
					123		

ten und linken Gelenkes unabhängig von ihrem histologischen Zustand sehr weit voneinander ab, da diese unter anderem spezifisch vom Zustand der jeweiligen Synovialmembran abhängen. Das gleiche trifft für die Keratansulfatkonzentration, die Hyaluronankonzentration und die Viskosität zu. Ebenso ist zumindest aus den vorliegenden Werten kein Zusammenhang zwischen der Viskosität und dem Hyaluronangehalt erkennbar. Die Streuung der Werte der einzelnen Gelenkpaare werden aus Tabelle 2 ersichtlich, in der jeweils die Differenz der histologisch gesunden gegen die histologisch degenerierte Seite ausgedrückt ist.

Nach den vorliegenden Werten scheint es, daß man selbst aus einer ausführlichen Synovialanalyse keine Anhaltspunkte für eine bestehende, unter Umständen subklinische Gelenkknorpeldegeneration erhalten kann. Ebenso kann kein Zusammenhang zwischen Hyaluronankonzentration und Viskosität bzw. zwischen Hyaluronan- oder Keratansulfatgehalt und Gelenkknorpelschaden festgestellt werden.

Bei der Interpretation der Synovialanalyse muß immer auf die Übereinstimmung der klinischen Symptome mit den pathophysiologischen Vorgängen und den Ergebnissen der Synovialanalyse geachtet werden. Da die Streuung der physiologischen Werte sehr groß zu sein scheint, ist es fraglich, ob man an der bisher üblichen Angabe von Normalwerten festhalten kann oder ob man nicht eine größere physiologische Breite angeben muß, da die intraindividuellen Schwankungen der Werte bisher stark unterschätzt werden.

Weitere Untersuchungen werden nötig sein, um gelenkspezifische Synovialnormalwerte festzulegen bzw. die physiologische Streuung zu bestimmen, und um daraus vielleicht statistische Aussagen über mögliche Knorpelschäden oder zumindest verlässlichere Angaben über die physiologische Spannweite der Werte zu erhalten.

Literatur

- Bobol, A. E.: Normale Synovialflüssigkeit beim Pferd. Orthopädie bei Huf- und Klautentieren, Ed. Knezevic, Schlütersche, 1985.
- gac Equine Diagnostic Laboratories: Newsletter No.: 2, 1981, Jan.
- Heinegard, D., Sacne, T.: Connective tissue macromolecules as markers for tissue processes in joint disease. European Journal of Rheumatology and Inflammation, 11, 1, 91-99, 1991.
- Hilbert, B. J., Rowley, G., Antonas, K. N.: Hyaluronic acid concentration in synovial fluid from normal and arthritic joints of horses. Aust Vet J, 61, 1, 22-4, 1984, Jan.
- Horslev-Petersen, K., Saxne, T., Haar, D., Thomsen, B. S., Bentsen, K. D., Junker, P., Lorenzen, I.: The aminoterminal-type-III procollagen peptide and proteoglycans in serum and synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis or reactive arthritis. Rheumatol Int, 8 (1) 1-9, 1988.
- Little, C. B., Hilbert, B. J., Wickstrom, S., Hedlund, B. E.: Quantitative microanalysis of equine synovial fluid glycosaminoglycan concentration. Am. J. Vet. Res. 1534-9, 51 (10) 1990, Okt.
- McIlwraith, C. W.: Synovial fluid analysis in the diagnosis of equine joint disease. Equine pract., 2, 2, 44-48, 1980.
- McIlwraith, C. W., Vachon, A.: Review of pathogenesis and treatment of degenerative joint disease. Equ. Vet. Jou. Suppl., Equine Orthopaedics, 1983.
- Muir, I. H. M.: The chemistry of the ground substance of joint cartilage. The joints and synovial fluid. Ed. Sokoloff L., Academic Press, 1978, ISBN 0-12-655101-4, 28-79.
- van Pelt, R. W.: Interpretation of Synovial Fluid Findings in the Horse. J.A.V.M.A., Vol. 165, No. 1, July 1974, S. 91 ff.
- Persson, L.: On the synovia in horses. Act. Vet. Scan. 35, 1971.
- Reijnd, S.: Viskosity of Equine Synovial Fluid. Acta vet. scand. 1976, 17, 169-177.
- Sander, T.: Synovialuntersuchungen: im besonderen die Bestimmung der Hyaluronsäure bei an Corpora Libra im Talokruralgelenk erkrankten und arthroskopisch behandelten Pferden. Diss. Hann., 1990.
- Tew, W. P.: Synovial fluid analysis: applications in equine joint injury and disease. Proc. annu. conv. of Am. Ass. of Equ. Pract., 28, 137-41, 1983.
- Tew, W. P.: Hotchkiss P. D., Hotchkiss R. N., Synovial fluid analysis and equine joint disorders. Equine vet. sci. 1981, Sept./oct., 163-70.

Joachim Schwierczena
Tiefstr. 21
D-47906 Kempen
Telefon (0 21 52) 51 06 11

Tab. 2: Differenz der einzelnen Werte (histologisch o. b. B. gegen histologisch degeneriert)

	Probenpaar Nummer	Viskosität mPas	Hyaluronan g/l	Keratansulfat mmol/l	Zellzahl pro µl	Monozyten %	Lymphozyten %
o. b. B.-degen.	6	32,8	-5,06	-0,02	-260	29	-29
o. b. B.-degen.	10	16,6	2,11	0,01	180	9	-8
o. b. B.-degen.	13	-150	4,7	-5,04	-100	4	-6
o. b. B.-degen.	14	6,51	-1,7	5,10	100	-13	0

	Probenpaar Nummer	neutr.-Segm. %	Knorpelzellen %	Natrium mmol/l	Kalium mmol/l	Ges. Protein g/l	Calcium mmol/l
o. b. B.-degen.	6	1	1	0	-0,1	1	0,06
o. b. B.-degen.	10	-1	0	0	0,7	3	-0,28
o. b. B.-degen.	13	2	0	2	-0,5	-1	0,07
o. b. B.-degen.	14	8	5	0	-0,2	1	0

	Probenpaar Nummer	anorg. Phosphat mmol/l	Kreatinin µmol/l	Ges. Bilirubin µmol/l	Glucose mmol/l
o. b. B.-degen.	6	0,16	0	0	0
o. b. B.-degen.	10	-0,15	-3	2	0,2
o. b. B.-degen.	13	-0,08	-1	1	-0,6
o. b. B.-degen.	14	-0,04	-3	17	0