

Möglichkeiten der biochemischen Differenzierung von Reizergüssen am Kniegelenk

M. D. Dingerkus¹, M. Jochum², H. Fritz², P. Bernett¹

¹ Sporttraumatologie mit Klinik und Poliklinik für Sportverletzungen, Klinikum Rechts der Isar, Technische Universität München

² Institut für Klinische Chemie und Klinische Biochemie der Chirurgischen Universitätsklinik, Innenstadt, München

Zusammenfassung

1. **Reizerguß-Differenzierung:** Posttraumatische Reizergüsse (frische Meniskus- oder Kapsel-Band-Läsion) zeigten eine stark erhöhte alkalische Phosphatasenaktivität, während zellarme und zellreiche postoperative Reizergüsse einen im Vergleich zum Gesamtprotein verhältnismäßig hohen C3c-Wert aufwiesen. In Punktaten von Patienten mit Chondroпатия patellae und primärer Synoviareizung (kein Trauma, kein Postoperativzustand) wurden die geringsten Parameterwerte der gesamten Untersuchung gefunden.

2. **Therapie-Entscheidungshilfe:** Über eine Bestimmung des sensiblen Entzündungsparameter PMN-Elastase (E-a₁PI) kann etwa bei einem Knorpelschaden mit geringem Entzündungsgrad (E-a₁PI < 300–500 ng/ml) sofort eine knorpelprotektive Therapie eingeleitet werden, während bei starkem Entzündungsgrad (E-a₁PI > 500–1000 ng/ml) zunächst Antiphlogistika einzusetzen sind.

3. **Therapie-Kontrolle:** In der Verlaufsbeobachtung von Reizergüssen liefert der Konzentrationsvergleich biochemischer Parameter vor und nach intraartikulärer Applikation von Medikamenten die Möglichkeit der Therapiekontrolle. Da bei zunehmendem Entzündungscharakter und Störung der Blut-Synovial-Schranke die Konzentration der gemessenen biochemischen Parameter (ausgenommen Glukose) in der Synovialflüssigkeit anstieg, sollte bei einer erfolgreich durchgeführten Behandlung eine derartige Konzentrationszunahme nicht oder nur noch in geringem Ausmaß auftreten.

Possibilities of Biochemical Differentiation of Reaction Effusions in the Knee Joint

1. **Differentiation of reaction effusions:** Posttraumatic reaction effusions (fresh meniscus or capsular ligament lesion) displayed a greatly enhanced alkaline phosphatase activity, whereas postoperative reaction effusions that were poor and rich in cells had a comparatively high C3c value relative to the total amount of protein. In punctates from patients with patellar chondropathy and primary synovial reaction (no trauma, no postoperative condition) the lowest parameter values of of the entire study were seen.

2. **Decision help with regard to therapy:** Via determination of the sensitive inflammation parameter PMN elastase (E-a₁PI) it is possible to initiate cartilage-protective therapy directly in case of a cartilage lesion of mild inflammatory character (E-a₁PI 300–500 ng/ml), whereas in case of severe inflammation (E-a₁PI 500–1000 ng/ml) anti-inflammatory drugs should be employed in the first instance.

3. **Therapy control:** In the follow-up control of reaction effusions the comparison of concentrations of biochemical parameters before and after intra-articular application of drugs offers a possibility of therapy control. Since with increasing inflammatory nature and disturbance of the blood-synovial barrier the concentration of the measured biochemical parameters (with the exception of glucose) increased in the synovial fluid, successful treatment should result in an absence of such an increase in concentration (or, if at all, in an only slight measure).

Einleitung

Reizergüsse am Kniegelenk werden in der sporttraumatologischen Praxis häufig beobachtet.

Im Hinblick auf mögliche Knorpeldegenerationen als Folge rezidivierender Ergüsse kann die Synovialdiagnostik bedeutsame Entscheidungshilfe für therapeutische Interventionen sein.

Material und Methoden

Insgesamt wurde die Synovialflüssigkeit von 20 Patienten mit den Diagnosen Chondroпатия patellae, posttraumatischer frischer Erguß (Meniskus-/Kapsel-Band-Läsion), Erguß bei Synoviareizung (postoperativ, nicht-postoperativ) sowie bei einer älteren Meniskopathie untersucht (3, Tab. 1).

In 3 Fällen konnte 2 Wochen nach der ersten Punktion ein zweites Mal punktiert werden, so daß eine gewisse Verlaufsbeurteilung der Ergüsse möglich war (3; Tab. 4).

Die biochemische Untersuchungspalette umfaßte mehr als 10 Parameter und reichte von Stoffwechsellparametern (2, 5, 18), Proteinen (18), lysosmalen Enzymen (1, 2, 5, 17, 18), Proteinase und ihren Inhibitoren (7–9) bis hin zu Spaltprodukten von Komplementfaktoren (15, 16); daneben wurden lösliche proteinhaltige

Tab. 1 Aufschlüsselung der untersuchten Synovialflüssigkeit nach Patientendiagnosen (n = 20)

Chondroпатия patellae	(n = 3)
ältere Meniskopathie	(n = 2)
frische Meniskuläsion	(n = 5)
frische Kapsel-Band-Läsion	(n = 1)
Synoviareizung (Synovialitis)	(n = 1)
– nicht-postoperativ (primär)	
– postoperativ (zellarm, zellreich)	(n = 8)

Tab. 2 Biochemische Untersuchungsparameter in der Synovialflüssigkeit sowie ihre Bewertung in der Literatur hinsichtlich Herkunft (Bildung, Speicherung) und Aussagekraft für die Synoviadiagnostik

Biochemische Parameter	Herkunft	Aussagekraft	Autor
Glukose, Laktat, LDH	Synovial-, Blut und Knorpelzellen	Entzündungsgrad, Stoffwechselsituation	Greiling und Mitarb., 1979 Binzus, 1979
Gesamtprotein, Albumin	Serum	Entzündungsgrad Glut-Synoviaschranke	Kleesiek, 1980 Greiling, 1979 in 18, S. 188
Komplement-spaltprodukt C3c	Serum (C3 im Knorpel)	Entzündungsgrad Blut-Synoviaschranke	Otte, 1976 Rother und Mitarb., 1984
Phosphatasen saure-alkalische	Blut- und Knorpelzellen	Entzündungsgrad (Knorpeldegeneration?)	Akeson und Mitarb., 1981 Scherak und Mitarb., 1979
Lysozym	Blut- und Knorpelzellen	Entzündungsgrad (Knorpeldegeneration?)	Akeson und Mitarb., 1981 Kuettner und Mitarb., 1974
PMN-Elastase (E-a ₁ PI)	Granulozyten	Entzündungsgrad (Knorpeldegeneration)	Gadek und Mitarb., 1980 Kleesiek und Mitarb., 1984
a ₂ M und a ₁ PI	Serum (a ₂ M im Knorpel?)	Blut-Synoviaschranke (Proteinaseninhibition)	Kleesiek und Mitarb., 1982

Abbauprodukte der Knorpelmatrix nachgewiesen (Tab. 2).

Der Nachweis erfolgte teils mit biochemischen Standard-Verfahren, teils mit speziellen biochemischen Methoden wie radialer Immundiffusion (RID-Methode: 13), Enzymimmunoassay (8, 14), Immun- und diskontinuierlicher SDS-Elektrophorese* (11, 12; Tab. 3).

Ergebnisse

Eine *primäre Synoviareizung* (kein Trauma, kein Postoperativzustand) zeigte die niedrigsten Konzentrationen der gemessenen Parameter aller Diagnosegruppen und dürfte weitgehend den Verhältnissen einer normalen Synovia entsprechen (Abb. 1 a).

Bei *Chondropathia patellae* fiel der hohe a₂M-Wert auf, der nicht permeabilitätsbedingt scheint, da Gesamtprotein und C3c (Indikatoren der Blut-Synoviaschranke) vergleichsweise niedrig ausfielen. Da a₂M in oberflächlichen Knorpelschichten gespeichert werden kann, könnte es bei der Knorpeldegeneration vermehrt in die Synovialflüssigkeit gelangen (Abb. 1 a).

* dankenswerterweise im Labor PD Dr. Müller/Dr. Ponz, Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried (b. München), durchgeführt.

Tab. 3 Biochemische Nachweismethode von Parametern in der Synoviadiagnostik

Biochemische Parameter	Nachweismethoden
Glukose, Laktat, LDH, alkalische u. saure Phosphatase, Lysozym, a ₂ -Makroglobulin (a ₂ M)	Standard-Nachweisverfahren
Albumin, C3c, a ₂ M, a ₁ -Antitrypsin (a ₁ AT)	Radiale Immundiffusion (RID-Methode n. Mancini und Mitarb., 13)
Albumin, a ₁ PI	Immun-Elektrophorese (Rocket-Methode n. Laurell; 12)
lösliche, proteinhaltige Knorpelabbauprodukte, Albumin	Diskontinuierliche SDS-Elektrophorese (Disk-Elektrophorese n. Laemmli; 11)
PMN-Elastase (E-a ₁ PI)	PMN-Elastase-Immunoassay (n. Neumann und Mitarb.; 14)

Eine mehr als 3 Jahre *alte Meniskopathie* mit Degenerationszeichen und akut-entzündlicher Reaktivierung, zeigte stark erhöhte Elastase- und Gesamtproteinwerte, die sonst nur noch in sehr zellreichen postoperativen Reizergüssen gefunden wurden. Bemerkenswert bei diesem Punktat ist auch der Nachweis löslicher proteinhaltiger Knorpelabbauprodukte (Abb. 1 a).

Frische traumatische Meniskus- und Kapsel-Band-Läsionen zeigten eine stark erhöhte alkalische Phosphatasenaktivität, die auf erythrozytäre Zellelemente zurückzuführen ist (Abb. 1 b).

Alle *postoperativen Reizergüsse* boten einen verhältnismäßig höheren Wert für C3c als für Gesamtprotein (C3c-Protein-Quotient [mg % / g %] > 10). Da in dieser Gruppe sowohl sehr zellarme als auch sehr zellreiche Punktate vertreten waren, erfolgte nachträglich eine Unterteilung in schwach und stark entzündliche Formen (Abb. 1 c).

In der *Verlaufsbeobachtung* zellarmer und zellreicher Formen postoperativer Reizergüsse zeigte sich, daß Proteinaseinhibitoren (a₂M, a₁PI), Komplement-spaltprodukte (C3c) und Gesamtprotein eine Erhöhung der Leukozytenzahl um das Mehrfache des Ausgangswertes nicht mit einer entsprechenden Konzentrationsänderung beantworten (Tab. 4).

Als einziger biochemischer Parameter zeigte die PMN-Elastase (E-a₁PI) im Vergleich zur Zellzahlerhöhung eine prozentual stärkere Konzentrationszunahme. Damit qualifiziert sich dieser Parameter, mit einer momentanen unteren Nachweisgrenze von 20 ng/ml, als Gradmesser einer Entzündung.

Mit der Disk-Elektrophorese (Abb. 2 und 3) ließen sich – bis auf eine Ausnahme – keine langlebigen Kollagenbruchstücke oder sonstigen Abbauprodukte der Knorpelmatrix in der Synovialflüssigkeit nachweisen (Abb. 3).

Das Punktat mit einem positiven Ergebnis in der Disk-Elektrophorese, stammte von einem Patienten mit einer alten Meniskusläsion, die seit mehr als 3 Jahren zu Einklemmungserscheinungen und rezidivierenden Ergüssen führte; intraoperativ fand sich wenige Tage nach Punktion ein basisnah abgerissenes Innen-

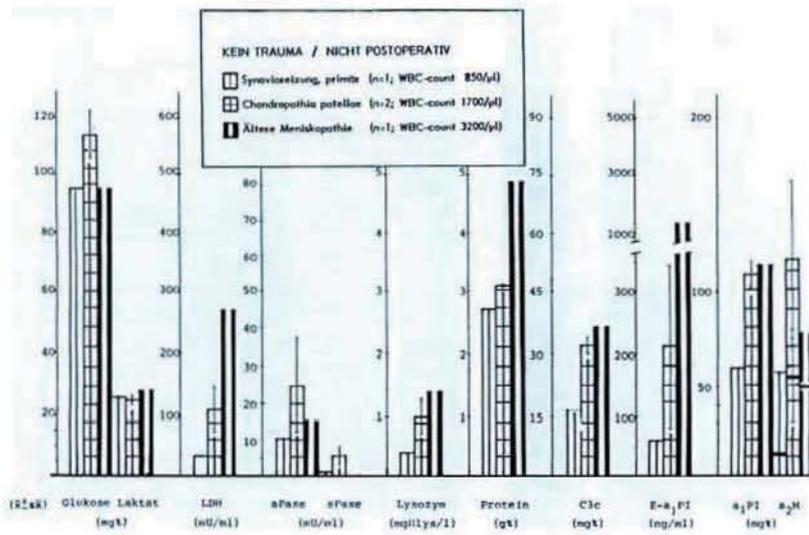


Abb. 1 a

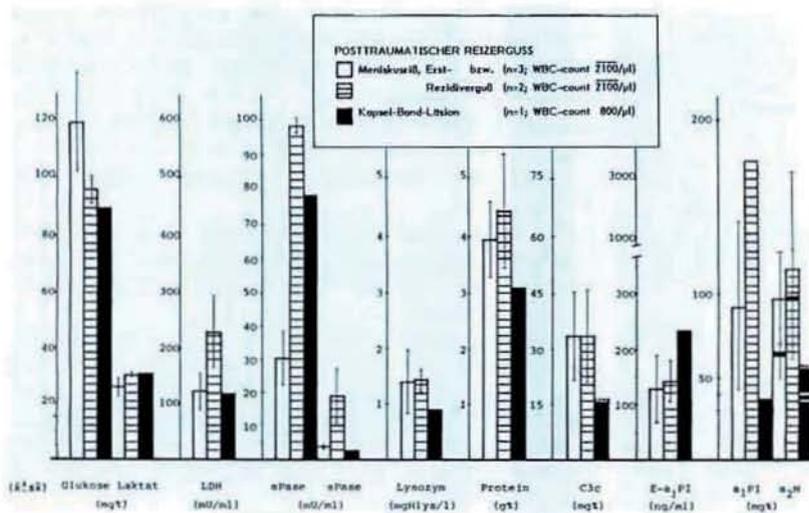


Abb. 1 b

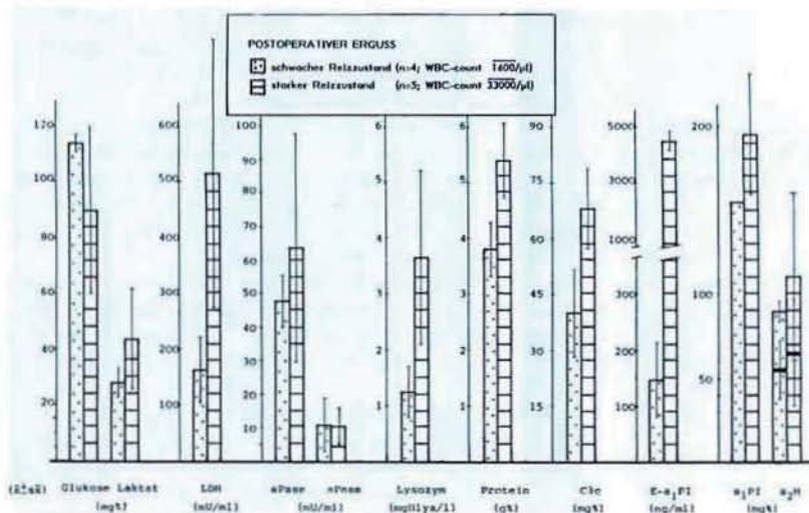


Abb. 1 c

Abb. 1 a–c Ergebnisse der biochemischen Untersuchung der Synovialflüssigkeit von Patienten mit primärer Synovialeirregung, Chondropathia patellae, Meniskopathie (1 a) sowie posttraumatischen (1 b) und postoperativen (1 c) Reizergüssen am Kniegelenk. Punkttate von Patienten mit Chondropathia patellae und primärer Synovialeirregung wiesen die geringsten Konzentrationen der gemessenen Parameter auf, frische Meniskus- oder Kapsel-Band-Läsionen zeigten eine stark erhöhte alkalische Phosphataseaktivität, während postoperative Reizergüsse eine im Vergleich zu Gesamtprotein verhältnismäßig hohe C3c-Konzentration aufwiesen. Bei Vorliegen zellreicher Punkttate wie bei älterer Meniskopathie und postoperativen Reizergüssen mit starkem Reizzustand erreichte die PMN-Elastase (E-a₁PI) die Höchstwerte dieser Untersuchung. aPase = alkalische Phosphatase sPase = saure Phosphatase a₁PI = a₁-Proteinaseinhibitor a₂M = a₂-Mikroglobulin

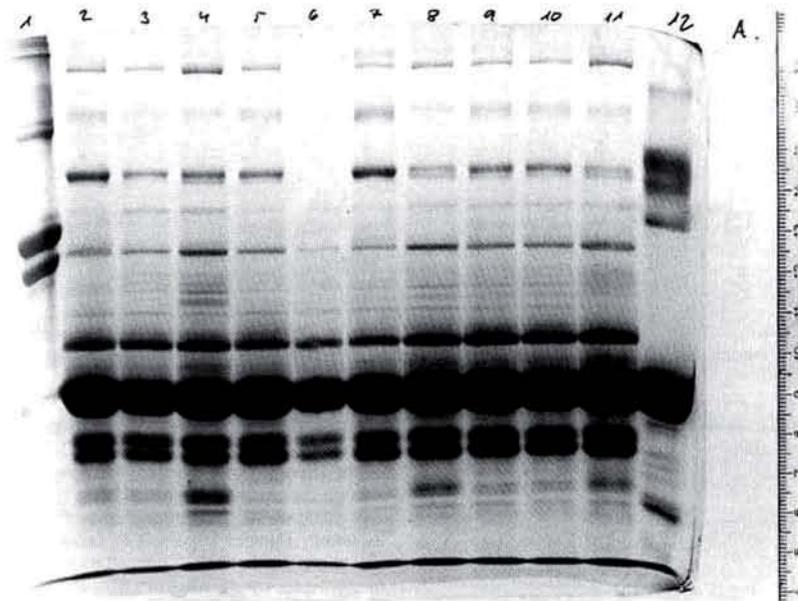


Abb. 2 Disk-electrophoretische Auftrennung der Proteine pathologischer Synovialproben (Spalten 2–11), gegenübergestellt LRCS-Kollagen (Spalte 1) und Rinder-Albumin (Spalte 12). Durch Vergleich mit den Kollagen- und Albuminbanden (Albuminhauptbande: Ende des unteren Spaltendrittels) kann die Bandenintensität und -breite in den Synovialproben zur Objektivierung biochemisch ermittelter Albumin- und Gesamtproteinkonzentrationen sowie zur Identifizierung knorpelspezifischer Banden herangezogen werden.

Tab. 4 Verlaufsbeobachtung von 3 postoperativen Reizergüssen (Zustand nach Meniskektomie). Angegeben sind die Ausgangswerte (1. Untersuchung) für die Leukozytenzahl und die Konzentration bzw. Aktivität der biochemischen Parameter sowie deren Veränderung innerhalb von 14 Tagen (2. Untersuchung). Die PMN-Elastase erfährt im Vergleich zur Leukozytenzahl und den übrigen biochemischen Parametern die stärkste Veränderung, während Proteinaseinhibitoren (α_2M , α_1PI) sowie Gesamtprotein und Komplementspaltprodukte nahezu unverändert blieben. P.ase = Phosphatase
LDH = Laktatdehydrogenase

UNTERSUCHUNG	LEUKOZYTENZAHLE (μ l)	BIOCHEMISCHE PUNKTATUNTERSUCHUNG																
		Glukose (mg %)	Laktat (mg %)	LDH (mU/ml)	LDH/Laktat ($\frac{mU/ml}{mmol/l}$)	alkal. P. ase (mU/ml)	Lysozym (mg H. Lysozym/l)	α_2 -Makroglobulin	anti-enzymat. (mg %)	α_2 -Makroglobulin RID (mg %)	$\alpha_2M^{(10)}/\alpha_2M^{**}$	α_1 -Proteinaseinhibitor RID (mg %)	α_1 -Proteinaseinhibitor Immun-Elpho (mg %)	Elastase (E- α_1PI) (ng/ml)	Gesamtprotein (g %)	Albumin (g %) RID	Albumin (g %) Immun-Elpho	C3c RID (mg %)
1.	2200	113,4	32,6	226	49	39,2	9,3	0,9	53,0	86,9	1,6	156,1	170,9	200	3,5	3,2	3,16	30,3
2.	-	116,7	32,6	178	49	49,0	9,1	1,6	73,8	97,0	1,3	156,1	150,5	205	4,5	3,7	2,58	39,5
1.	17000	115,5	32,1	461	129	53,7	8,6	3,2	32,1	67,6	2,1	156,1	-	4650	5,1	3,2	-	61,7
2.	72000	64,5	72,3	843	105	123	13,2	5,0	31,0	67,4	2,2	166,8	205,0	6300	6,3	2,9	3,54	82,0
1.	19500	74,7	33,7	506	135	34,8	7,5	3,2	88,8	186,1	2,1	247,3	402,9	2370	5,3	2,4	3,48	70,5
2.	53000	64,5	46,9	583	112	61,9	18,4	5,4	98,4	139,7	1,4	200,2	302,4	8760	5,8	2,6	3,64	66,8

meniskushinterhorn sowie ein aufgefasertes Innenmeniskusrest mit massiven Degenerationszeichen. Die gefundenen löslichen kollagenasesensiblen Abbauprodukte könnten eine vorliegende Knorpelschädigung, beispielsweise an der medialen Femurkondyle, widerspiegeln (Abb. 3).

meniskushinterhorn sowie ein aufgefasertes Innenmeniskusrest mit massiven Degenerationszeichen. Die gefundenen löslichen kollagenasesensiblen Abbauprodukte könnten eine vorliegende Knorpelschädigung, beispielsweise an der medialen Femurkondyle, widerspiegeln (Abb. 3).

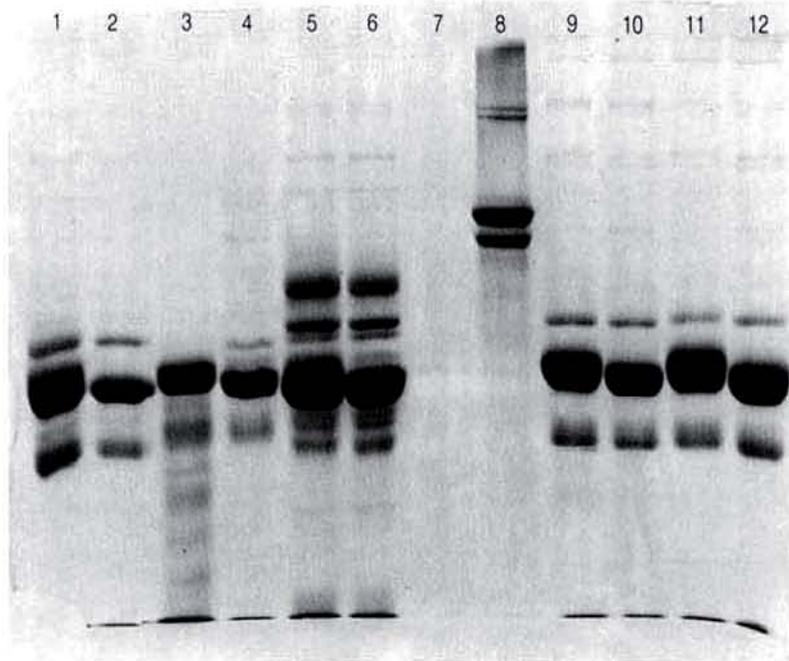


Abb. 3 Disk-elektrophoretische Auftrennung der Proteine pathologischer Synovialproben vom Menschen (Spalte 1–4) sowie normaler Synovialproben vom Pferd (Spalte 5+6), Rind (Spalte 9+10) und Schwein (Spalte 11+12) im Vergleich zu LRCS-Kollagen (Spalte 7+8), einmal *mit* (ungeradzählige Spalten) und einmal *ohne* (geradzählige Spalten) Kollagenasebehandlung. In einem Punktat (Spalte 3,4) ließen sich lösliche proteinhaltige Knorpelbestandteile nachweisen, da es wie bei LRCS-Kollagen (Spalte 7,8) nach Kollagenasebehandlung zu einer Bandenauslöschung kam (vergleiche obere Hälfte der Spalten 3 und 7).

Literaturverzeichnis

- 1) Akeson, W. H., Gershuni, D. H.: Articular cartilage and metabolism in health and disease. In: Resnick, D., G. Niwayama: Diagnosis of bone and joint disorders. Saunders Company, Philadelphia-London-Toronto (1981) 175–196
- 2) Binzus, G.: Substrate, Enzyme und Metabolite in der Synovialflüssigkeit verschiedener Genese. In: Synovialflüssigkeit und synoviales Milieu. Symposium Baden (bei Wien) 1977; Thumb, N., G. Kellner, G. Klein, H. Zeidler (Hrsg.); Thieme Verlag, Stuttgart (1979) 54–63
- 3) Dingerkus, M. L.: Möglichkeiten der Synoviadiagnostik zur Erfassung ätiologisch und prognostisch aussagekräftiger Parameter. Eine Untersuchung anhand von posttraumatischen, postoperativen und primär chondrodegenerativ bedingten Reizergüssen am Kniegelenk. Dissertationsarbeit der Technischen Universität München, eingereicht im März 1985
- 4) Gadek, J. E., Fells, G. A., Wright D. G., Crystal, R. G.: Human neutrophil elastase functions as a type III collagen "Collagenase". Biochemical and Biophysical Research Communications 95 (1980) 1815–1822
- 5) Greiling, H., Kisters, R., Engels, G.: Die Enzyme in der Synovialflüssigkeit und ihre pathophysiologische Bedeutung. Enzymologia 30 (1965) 135–146
- 6) Greiling, H., Kleesiek, K., Stuhlsatz, H. W.: Zur klinischen Biochemie der Synovialflüssigkeit. In: Synovialflüssigkeit und synoviales Milieu. Symposium Baden (bei Wien) 1977. Thumb, N., Kellner, G., Klein, G., Zeidler, H. (Hrsg.) Thieme Verlag, Stuttgart (1979) 42–54
- 7) Jochum, M., Duswald, K. H., Dittmer, H., Fritz, H.: Granulozytäre Elastase als lysosomales Markerenzym für pathobiochemische Veränderungen bei entzündlichen Erkrankungen. Berichte der ÖGKC 7 (1984) 53–59
- 8) Kleesiek, K., Neumann, S., Greiling, H.: Determination of the elastase- α_1 -proteinase-inhibitor-complex, elastase activity and proteinase inhibitors in the synovial fluid. Fresenius Z. Anal. Chem. 311 (1982) 434–435
- 9) Kleesiek, K., Brackertz, D., Greiling, H.: Pathobiochemische Mechanismen bei chronisch-entzündlichen Gelenkerkrankun-
- gen. In: Pathobiochemie der Entzündung. Lang, H., Greiling, H. (Hrsg.) Springer Verlag, Heidelberg–New York–Tokyo (1984) 203–225
- 10) Kuettner, K. E., Eisenstein, R., Sorgente, N.: Lysozyme of cartilage other connective tissue. In: Lysozyme. Ossermann, E. F., Canfield, R. E., Beychock, S. (Hrsg.) Academic (1974) 399–410 New York–London
- 11) Laemmli, U. K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227 (1970) 680–685
- 12) Laurell, C. B. (Hrsg.): Electrophoretic and electroimmunochemical analysis of proteins. The Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory investigation, 29, Suppl. 124, Malmö, Nordens Boktryckeri (1972) 21–37
- 13) Mancini, G., Vaermann, J. P., Carbonara, A. O., Heremans, J. F.: Single radial diffusion method for immunological quantitation of proteins. Protides Biol. Fluids 11 (1964) 370
- 14) Neumann, S., Hennrich, N., Gunzer, G., Lang, H.: Enzymelinked immunoassay for elastase from leukocytes in human plasma. In: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 22 (1984) 693–697
- 15) Otte, P.: Synovia und synoviales Milieu im Konzept der aktiveren Arthrose. In: Synovialflüssigkeit und synoviales Milieu. Symposium Baden (bei Wien) 1977. Thumb, N., Kellner, G., Klein, G., Zeidler, H. (Hrsg.) Thieme Verlag, Stuttgart (1979), 3–22
- 16) Rother, U., Rother, K.: Komplement und zelluläre Interaktion. In: Pathobiochemie der Entzündung. Lang, H., Greiling, H. (Hrsg.) Springer Verlag, Heidelberg–New York–Tokyo (1984) 26–46
- 17) Scherak, O., Weissel, M., Kolbe, H., Fritzsche, H., Kolarz, G.: β_2 -Mikroglobulin in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit chronischer Polyarthrit. In: Synovialflüssigkeit und synoviales Milieu. Symposium Baden (bei Wien) 1977. Thumb, N., Kellner, G., Klein, G., Zeidler, H. (Hrsg.). Thieme Verlag, Stuttgart (1979) 67–69
- 18) Thumb, N., Kellner, G., Klein, G., Zeidler, H.: Synovialflüssigkeit und synoviales Milieu. Symposium Baden (bei Wien) 1977, Thieme Verlag Stuttgart (1979)

Dr. M. L. Dingerkus
 Poliklinik für Sportverletzungen
 Connollystraße 32
 8000 München 40