

Aus dem Zentrum für Rheuma- Pathologie gGmbH  
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

BEDEUTUNG DER SYNOVIALEN STRUKTURQUALITÄT  
FÜR DIE ERNÄHRUNG DES CHONDROZYTEN

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
der Universitätsmedizin  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz  
vorgelegt von

Ulrich Kirchhofer geb. Doelle  
aus Dortmund

Mainz, 2010

Wissenschaftlicher  
Vorstand:

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der Promotion: 11.05.2010

# Inhaltsverzeichnis:

<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>4</b>
<b>I State of the art.....</b>	<b>5</b>
1 Einleitung.....	5
2 Aufbau des Gelenks .....	6
3 Aufbau der Synovialmembran .....	6
3.1 Lichtmikroskopischer Aufbau der Synovialmembran .....	6
3.2 Elektronenmikroskopischer Aufbau der Synovialmembran .....	7
4 Metabolismus der Zellen der Deckzellschicht.....	8
5 Veränderungen der Synovialmembran mit dem Altern .....	8
6 Wie erfüllt die Synovialmembran ihre Aufgaben ? .....	9
7 Untersuchungsverfahren zur Beurteilung der Synovialmembran - Beschreibung und Einteilung von Veränderungen .....	11
8 Veränderungen der Synovialmembran im Rahmen der Osteoarthrose .....	14
9 Chondroide Metaplasie und das Auftreten von CPPD Kristallen in der Synovialmembran .....	15
10 Bedeutung von Zytokinen aus der Synovialmembran für Veränderungen im Knorpel .....	15
<b>II Ziel der Untersuchung.....</b>	<b>18</b>
<b>III Material und Methode .....</b>	<b>19</b>
<b>IV Ergebnisse.....</b>	<b>27</b>
<b>V Diskussion.....</b>	<b>32</b>
1 Besprechung der Ergebnisse .....	32
2 Wie kommt es zu den Veränderungen ?.....	33
3 Bedeutung für die Ernährung des Knorpels.....	36
<b>VI Zusammenfassung .....</b>	<b>37</b>
<b>VII Literaturverzeichnis .....</b>	<b>39</b>
<b>VIII Danksagung.....</b>	<b>44</b>

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BMP	bone morphogenetic protein
CD	cluster of differentiation
CPPD	Calcium Pyrophosphate Dihydrate
ER	Endoplasmatisches Retikulum
<i>et al.</i>	<i>et alii</i>
IGF	insulin-like growth factor
IL	Interleukin
MMP	Metalloproteinase
mRNA	messenger ribonucleic acid
MRT	Magnet Resonanz Tomographie
rER	raues Endoplasmatisches Retikulum
TGF	transforming growth faktor
TNF	Tumornekrosefaktor
ZRP	Zentrum für Rheuma- Pathologie

# I State of the art

## 1 Einleitung

Gelenke sind eines der kleinen Wunder der Natur. Über Jahre hinweg, eigentlich ein Leben lang, sollen Beweglichkeit und Stabilität erhalten bleiben. Die Voraussetzung dafür sind besonders spezialisierte Gewebe - v.a. der hyaline Knorpel, der Bandapparat und die Gelenkkapsel mit der Gelenkinnenhaut, der Synovialmembran. Aufgrund fehlender eigener Gefäßversorgung sind die Zellen des Gelenkknorpels (die Chondrozyten) vollständig auf die Versorgung durch die Synovialmembran angewiesen. Dies geschieht im wesentlichen durch Diffusion über die Gelenkschmiere, die Synovia. Durch diese besondere Situation sind Gelenke anfälliger für Störungen, Verletzungen und Verschleiß.

In den letzten Jahrzehnten lagen Schwerpunkte der Forschung im Bereich der Gelenke zum einen bei entzündlichen Veränderungen der Synovialmembran v.a. im Rahmen der Rheumatoiden Arthritis, zum anderen bei den degenerativen Veränderungen insbesondere des Knorpels im Rahmen der Osteoarthrose (Synonyme: Arthrosis deformans, (englisch: arthrosis, osteoarthritis, osteoarthrosis)). (1,2)

Nun hat in den letzten Jahren das Interesse an Veränderungen der Synovialmembran im Rahmen der Osteoarthrose zugenommen. Dabei wurden v.a. die entzündlichen Veränderungen und deren Einfluss auf die Entwicklung der Osteoarthrose untersucht. Die degenerativen strukturellen Veränderungen der Synovialmembran wurden eher am Rande erwähnt. (3-5)

Da die Synovialmembran eine Schlüsselrolle in der Ernährung des Knorpels spielt wäre es wichtig, die Bedeutung dieser degenerativen strukturellen Veränderung der Synovialmembran für die Ernährung der Chondrozyten und die Entwicklung von Krankheiten wie Osteoarthrose besser zu verstehen.

## 2 Aufbau des Gelenks

Im Bereich der Gelenke hat die Natur einen Kompromiss gefunden zwischen Beweglichkeit und Stabilität. Die Knochenhaut (Periost) geht im Bereich der Gelenke in die Gelenkkapsel (*capsula articularis*) über. Diese umgibt das Gelenk wie einen Schlauch. Die äußere Faserschicht (*membrana fibrosa*) hat verstärkte Anteile, die Gelenkbänder (*ligamenta articularia*). Die Innenschicht der Gelenkkapsel bildet die Synovialmembran (*membrana synovialis*). Im Bereich der Gelenkflächen sind die Knochenenden mit hyalinem Gelenkknorpel (*cartilago articularis*) überzogen. Gelenkknorpel und Synovialmembran umgeben die Gelenkhöhle (*cavitas articularis*), einen kapillaren Spalt, der Gelenkschmiere (Synovia) enthält. In manchen Gelenken gibt es zusätzlich noch Zwischenscheiben (*disci articulares*), die so zwischen den gegenüberliegenden Gelenkflächen liegen, dass sie die Übertragungsfläche vergrößern und dadurch den Druck auf den Knorpel vermindern. Weitere Stabilisierung erhalten die Gelenke durch die Muskeln. (6,7)

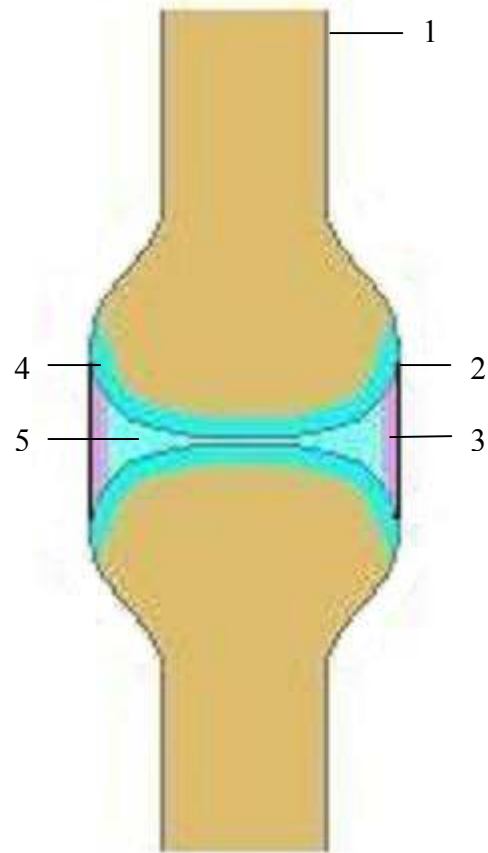


Abb. 1:  
Schemazeichnung Gelenk  
1 Periost, 2 *membrana fibrosa*, 3 *membrana synovialis*, 2+3 *capsula articularis*, 4 *cartilago articularis*, 5 *cavitas articularis*

## 3 Aufbau der Synovialmembran

### 3.1 Lichtmikroskopischer Aufbau der Synovialmembran

In der Lichtmikroskopie kann man drei Schichten unterscheiden:  
Die Deckzellschicht begrenzt die Synovialmembran zur Gelenkhöhle hin. Darunter liegt das Stroma aus lockerem Bindegewebe mit v.a. Kollagenfasern, Fettzellen und einem dichten Gefäßnetz. (8,9) Nach außen hin ist die Synovialmembran durch die *membrana fibrosa* der Gelenkkapsel begrenzt.

Die Deckzellschicht besteht normalerweise aus 1-4 Zellschichten. (8,10,11) Zellgrenzen sind nicht scharf abzugrenzen und zur Gelenkhöhle hin ist die Deckzellschicht meist von einer feinen eosinophilen Schicht bedeckt. (9)

Die Kapillaren im Stroma sind fenestriert. Es gibt keine Basalmembran.

Je nach Gelenk und Lokalisation im Gelenk kann das Stroma unterschiedlich stark ausgeprägt sein, vermehrt Fettzellen enthalten oder verhältnismäßig mehr Kollagenfasern haben (Fibrosierung). (8,10,11) Bei stärkerer Fibrosierung scheint das Stroma weniger gut vaskularisiert zu sein. (10)

Die Oberfläche der Synovialmembran wird durch Falten (*plicae*) und Ausstülpungen (*villi*) vergrößert. Dadurch wird nicht nur die Austauschfläche vergrößert, sondern auch eine bessere Anpassung der Synovialmembran bei Bewegungen im Gelenk ermöglicht. (1,10)

### **3.2 Elektronenmikroskopischer Aufbau der Synovialmembran**

Elektronenmikroskopisch kann man in der Deckzellschicht 2 Zellenarten unterscheiden: (10,11)

Typ A Zellen (von der Ausstattung der Zellorganelle makrophagen-ähnlich) haben stark ausgebildete Golgi- Vesikel, nur wenig raues Endoplasmatisches Retikulum (rER) und viele Ausstülpungen der Zytoplasmamembran (Filopoden oder auch Pseudopodien genannt). (10,11) Tierexperimente mit Mäusen weisen darauf hin, dass diese Zellen wahrscheinlich aus dem Knochenmark einwandern. Ein wesentlicher Hinweis dafür ist, dass sie sich in der Synovialmembran nicht mehr teilen. (11,12)

Typ B Zellen (von der Ausstattung der Zellorganelle fibroblasten-ähnlich) dagegen haben ein ausgeprägtes rER, weniger Golgi- Vesikel und kaum Filopoden. Sie scheinen ortständig zu sein. (10,11) Was ihre Herkunft betrifft werden zwei Möglichkeiten diskutiert. Man geht davon aus, dass sie entweder durch Teilung in der Deckzellschicht entstehen oder aus dem Stroma von dort lokalisierten Stammzellen einwandern. (11)

Die Ausstattung mit Organellen weist darauf hin, dass Typ A Zellen eher phagozytieren, während Typ B Zellen eher produzieren. Nachdem Typ A Zellen im Bereich der Deckzellschicht phagozytiert haben, scheinen sie in die Tiefe zu wandern und über Lymphgefäße das Gewebe zu verlassen. (11)

Weiterhin kontrovers diskutiert wird die Existenz eines intermediären Zelltyps (A/B oder C). Als mögliche Erklärung werden undifferenzierte Zellen und Schnittartefakte diskutiert. (8,11)

Die extrazelluläre Matrix der Deckzellschicht enthält nur wenig Kollagen. In der Nähe zur Gelenkhöhle kann man reichlich Mikrofibrillen und Fibronektin nachweisen. (10) Das vorherrschende Kollagen ist vom Typ IV. (13)

#### **4 Metabolismus der Zellen der Deckzellschicht**

Es ist schwierig, klare Aussagen über den Metabolismus der Zellen der Deckzellschicht zu machen, da sie sich äußerlich kaum von den Zellen des darunterliegenden Stromas unterscheiden. Daher ist nicht klar, ob in den durchgeführten Studien immer die richtigen Zellen isoliert wurden. (11)

Außerdem weiß man nicht, wie sehr der Metabolismus der Zellen durch die Stimulation in Zellkulturen verändert wurde. Denn *in vivo* teilen sich die Zellen der Deckzellschicht kaum. (11)

Soweit bekannt produzieren die Typ B Zellen zum einen die extrazelluläre Matrix der Deckzellschicht, zum anderen auch wesentliche Bestandteile der Synovia, u.a. die wichtigsten Schmiermittel für Knorpel (lubricating glycoprotein-1) und Synovialmembran (Hyaluronsäure). Aber auch die Typ A Zellen scheinen durch Phagozytose und Pinozytose die Zusammensetzung der Synovia zu beeinflussen. (13) Insbesondere im Rahmen von Trauma und Verschleiß sollen die Typ A Zellen für die Entfernung von Detritus verantwortlich sein. (14,15)

#### **5 Veränderungen der Synovialmembran mit dem Altern**

Pasquali-Ronchetti *et al.* (8) beschäftigten sich mit den Veränderungen der Synovialmembran im Rahmen des Alterns.

Insgesamt wurden die Veränderungen als eher gering eingestuft. Folgende Punkte fielen jedoch auf:

1. Die Anzahl der *villi* nimmt mit dem Alter zu, was dadurch erklärt wird, dass die geringere Elastizität kompensiert werden, bzw. die Oberfläche vergrößert werden muss.
2. Die Verteilung der Deckzellen und das Gefäßnetz sind im Alter signifikant unregelmäßiger. Die Anzahl der Deckzellschichten nimmt ab. Kollagenfasern und elastische Fasern kommen im Alter in Kontakt zur Oberfläche.
3. Ödem und Fibrose können im Alter vermehrt nachgewiesen werden.



4. Der Anteil der Typ A Zellen nimmt mit dem Alter zu

## **6 Wie erfüllt die Synovialmembran ihre Aufgaben ?**

Die Synovialmembran hat folgende zentralen Aufgaben zu erfüllen. (13)

### **1. Sie bildet eine nicht verklebende, anpassungsfähige Oberfläche mit geringer Reibung.**

Warum es bei gesunden Gelenken nicht zum Verkleben der Oberflächen der Gelenkhöhle kommt, ist nicht geklärt. Ständige Bewegung im Gelenk könnte eine Rolle spielen - aber bei gesunden Gelenken kommt es auch bei Ruhigstellung des Gelenkes nicht zu einem Verkleben. Es wurde vermutet, dass Kollagenasen in der Synovia eine Rolle spielen, jedoch konnten diese bisher nicht nachgewiesen werden.

Die Anpassung der Synovialmembran an Bewegungen im Gelenk wird durch die Elastizität und durch *villi* und *plicae* ermöglicht. Dabei scheint eine Abnahme der Elastizität der Synovialmembran im Alter durch vermehrte *villi* ausgeglichen zu werden. Eine zusätzliche Plastizität ergibt sich durch unterschiedliche Füllung der venösen Gefäßnetzes.

Die geringe Reibung wird ermöglicht durch sehr glatte Oberflächen. Zusätzlich wird die Reibung noch durch Gleitmittel in der Synovia (u.a. Hyaluronsäure und lubricating glycoprotein-1) vermindert.

### **2. Die Synovialmembran liefert die Nährstoffe für die Chondrozyten und transportiert Stoffwechselprodukte ab.**

Da der Knorpel keine eigene Gefäßversorgung hat ist er vollständig auf die Versorgung durch die Synovialmembran angewiesen.

Damit der relativ weite Weg von den Gefäßen in der Synovialmembran zu den Chondrozyten (Gefäß-> Endothel der Gefäße-> Extrazelluläre Matrix der Synovialmembran-> Deckzellschicht-> Synovia-> Extrazelluläre Matrix des Knorpels-> Chondrozyt) leichter überwunden werden kann, wird der Transport von Nährstoffen und Stoffwechselprodukten durch folgende Faktoren erleichtert:

Durch fenestrierte Kapillaren, Fehlen einer Basalmembran und Bewegung des Gelenks wird die Diffusion erleichtert. Das Gewebe der Synovialmembran wird durch Bewegung des Gelenks zeitweilig gestreckt. Dadurch wird die Synovialmembran durchlässiger und die Abstände zwischen Gefäß und Gelenkhöhle werden verkürzt.

Durch wechselnden Druck auf den Knorpel wird der Austausch von Nährstoffen, Zytokinen und Stoffwechselprodukten zwischen Synovia und Knorpel erleichtert. Der Knorpel verhält sich ähnlich wie ein Schwamm, der durch Wasseraufnahme anschwillt. Das unterhydratisierte Aggrecan mit vielen positiven Ladungen und der osmotischen Druckunterschied zwischen Knorpelmatrix und Synovia lassen Wasser in den Knorpel einströmen. Die Schwellung des Knorpels und damit der Einstrom von Wasser wird durch das feste Kollagennetz begrenzt. Wenn von außen der Druck auf den Knorpel erhöht wird, strömt Wasser aus der Knorpelmatrix heraus. Dadurch steigt in der Matrix die Ladungsdichte, wodurch die Abstoßungskräfte in der Matrix zunehmen. Auch der osmotische Druckgradient nimmt zu. Diese beiden Faktoren hemmen den Ausstrom des Wassers, so dass ein zunehmender Gegendruck im Knorpel entsteht. Bei Nachlassen des Drucks von außen strömt wieder Wasser in den Knorpel, bis das Kollagennetz keinen weiteren Einstrom mehr zulässt. Die Menge des Wassers, das jeweils aus dem Knorpel ausströmt und wieder einströmt ist dabei abhängig von verschiedenen Faktoren. Je höher der Druck ist, desto mehr Wasser strömt. Bei zyklischen Kompressionen nimmt die Menge mit erhöhter Frequenz ab. Zu Beginn der zyklischen Kompressionen überwiegt der Ausstrom bis nach einer Zeit ein Gleichgewicht erreicht wird. Dieses hydroelastische System wirkt dadurch nicht nur als Stoßdämpfer, sondern erleichtert durch den Pumpmechanismus die eigene Ernährung. (1,16)

Der Abtransport von Stoffwechselprodukten geschieht zum kleineren Teil durch Phago- und Pinozytose der Typ A Zellen der Synovialmembran, zum größeren Teil aber durch Diffusion und Lymphdrainage. Die Zusammensetzung der Synovia ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Der Druck in der Kapillaren fördert den Ausstrom von Flüssigkeit in die Gelenkhöhle. Der osmotische Druck in den Gefäßen fördert die Wiederaufnahme aus der Gelenkhöhle. Ein zweiter Abflussweg ist das Lymphsystem, das v.a. für Makromoleküle von Bedeutung ist. Weitere Faktoren sind der Druck im Gelenk und die Durchlässigkeit der Synovialmembran. (15,17)

Sabaratham *et al.* (18) untersuchten die Bedeutung der Konzentration der Hyaluronsäure in der Synovia für die Durchlässigkeit der Synovialmembran. Ab einer bestimmten Konzentration nimmt die Durchlässigkeit für Hyaluronsäure ab. Sie scheint die Synovialmembran abzudichten. Sinkt die Konzentration unter diese Grenze geht Hyaluronsäure vermehrt „verloren“, der osmotische Druck sinkt

und mehr Flüssigkeit strömt aus der Gelenkhöhle heraus. Dies kann zu einem Ödem des umliegenden Gewebes führen und dadurch für die Ernährung des Knorpels ungünstigere Druckverhältnisse verursachen. Dies erklärt zum Teil warum im Rahmen von Osteoarthritis und Rheumatoider Arthritis vermehrt Flüssigkeit über die Synovialmembran aus der Gelenkhöhle herausströmt. (15,17)

### **3. Die Synovialmembran produziert die Synovia, über die zum Teil die Aufgaben 1 und 2 erfüllt werden.**

Die Synovia ist grob gesehen ein Dialysat des Plasma. Von den Typ B Zellen der Synovialmembran und in kleinerem Maße auch von den Chondrozyten werden weitere Bestandteile produziert. (v.a. Hyaluronsäure, lubricating glycoprotein-1)

Die Menge der Synovia ist abhängig von der Durchlässigkeit der Synovialmembran und dem kolloidalen und hydrostatischen Druck in Gelenkhöhle, umliegendem Gewebe und den Gefäßen.

Auch die Typ A Zellen sind in kleinerem Maße durch Phago- und Pinozytose an der Kontrolle der Zusammensetzung der Synovia beteiligt. (15,17)

## **7 Untersuchungsverfahren zur Beurteilung der Synovialmembran - Beschreibung und Einteilung von Veränderungen**

Da die Veränderungen der Synovialmembran im Rahmen der Rheumatoiden Arthritis sehr eingehend untersucht wurden, geht es im Folgenden um degenerative strukturelle Veränderungen wie z.B. bei Osteoarthritis.

Um Veränderungen der Synovialmembran zu beurteilen gibt es verschiedene Möglichkeiten.

Die am häufigsten benutzten Untersuchungsmethoden zur Beurteilung der Synovialmembran sind Arthroskopie, Magnetresonanztomographie (MRT), Mikroskopie mit verschiedenen Färbungen und Ultraschall.

Ostergaard *et al.* (19) und Loeuille *et al.* (5) untersuchten die Korrelation von MRT/ Arthroskopie und Mikroskopie zur Beurteilung entzündlich-reaktiver Veränderungen der Synovialmembran.

Bei Loeuille *et al.* (5) z.B. wurde in der MRT Untersuchung in den T1 gewichteten Sequenzen die Dicke der Synovialmembran gemessen und in 4 Kategorien eingeteilt:

0= nicht sichtbar im MRT (<100µm)

1= <2mm

2= 2mm – 4mm

3= >4mm

In der Arthroskopie erfolgte eine Einteilung in 4 Grade der Synovitis:

0: keine Synovitis; schlanke durchsichtige *villi*

1: milde Synovitis oder fibrotisches Muster; dünne und undurchsichtige *villi*

2: moderate Synovitis; undurchsichtige, dickere und gedrungene *villi*

3: schwere Synovitis; schwere Hypervaskularisation und Proliferation der *villi*.

Mikroskopisch wurden Veränderungen einzeln in 4 Schweregrade eingeteilt und daraus ein Gesamtscore gebildet. Berücksichtigt wurden dabei Anzahl der Deckzellschichten, Infiltration mit Lymphozyten und Plasmazellen, Fibrinablagerungen an der Oberfläche, Stau mit Vasodilatation und Gefäßproliferation, Fibrose und Ödem. Sie konnten zeigen, dass die Einschätzung in MRT und Arthroskopie gut mit einem Gesamtscore der histologischen Veränderungen korrelierte.

Um strukturelle Veränderungen der Synovialmembran zu beurteilen ist jedoch eine mikroskopische Untersuchung notwendig.

Oehler *et al.* (4) klassifizieren Veränderungen der Synovialmembran (im Rahmen der Osteoarthritis) indem sie 4 verschiedene Reaktionsmuster beschreiben.

#### 1. hyperplastisch

- Zunahme des Zytoplasmavolumens der Deckzellen, Zunahme der Anzahl der Zellschichten bis hin zu 5
- Entstehung klassischer hyperplastischer *villi*, mit hyperplastischem Stroma
- Diese Form der Synoviopathie trat häufiger auf bei detritusreicher Synoviopathie und weniger bei fibrotischer und entzündlicher Synoviopathie.
- Unterscheidung zu anderen Formen erfolgte durch Abwesenheit von anderen Veränderungen im Stroma, wie z.B. Entzündungsinfiltrate, Kapsel-fibrose, Detritus.
- Diese Form der Veränderung wurde v.a. bei früher Osteoarthritis gefunden.

#### 2. inflammatorisch

- Lymphozyteninfiltrate

- CD20 positive B-Zellen und CD3 positive T-Zellen
- Entzündliche Infiltrate sind weniger ausgeprägt als bei Rheumatoider Arthritis.
- In der Deckzellschicht fanden sich signifikant mehr CD68 positive Zellen als bei Rheumatoider Arthritis oder Kontrollen.
- Moderate lymphozytäre Infiltrate sowie synoviale Hyperplasie und Aktivierung ohne Knorpel- Debris oder Kapselfibrose

### 3. fibrotisch

- Kapselfibrose wurde bei der fibrotischen und der detritusreichen gesehen Form. Insgesamt wurde sie nur bei später Osteoarthrose beobachtet.
- Bei dieser Subform konnten keine Knorpel- oder Knochenfragmente nachgewiesen werden; wenig Fibrinexsudat und wenig Entzündung.
- Deutlich mehr Fibrose in dieser und der detritusreichen Form als bei Rheumatoider Arthritis

### 4. detritusreich

- Detritus von Knorpel und Knochen
- Außerdem signifikantes Fibrinexsudat
- Einzige Form mit neutrophilen Granulozyten und mehrkernigen Makrophagen
- CD68 positive Zellen waren bei dieser Form am häufigsten (in Subintima und Stroma).

In der Literatur wird jedoch meistens nur zwischen synovialer Hyperplasie und detritusreicher Synovitis unterschieden. (4)

In der letzten Zeit hat die Ultraschall- Untersuchung in der Rheumatologie immer mehr an Bedeutung gewonnen. (20-23) 1998 wurde die Bedeutung der Ultraschallsonographie für die Synovialmembran noch v.a. in der Beurteilung der Dicke der Synovialmembran und der Suche nach Erguss als indirekte Zeichen der Synovitis gesehen. (20)

Durch den Fortschritt der Technik haben sich nicht nur Auflösung und Bildqualität der Geräte verbessert, sondern es stehen mit power- Doppler, Farb-Doppler und Kontrastmittelsonographie Methoden zur Verfügung, um die Durchblutung der Synovialmembran zu beurteilen und dadurch die Synovitis besser beurteilen zu können. (21-27)

Im Vergleich zu den anderen Untersuchungsmethoden bietet der Ultraschall den Vorteil, dass er eine relativ kostengünstige nicht- invasive Methode zur Darstellung der Weichteile ist, die von den Patienten gut toleriert wird. Daher eignet er sich gut zu Verlaufsbeobachtungen. Zur Beurteilung der Synovialmembran (Dicke und Durchblutung) ist er fast so sensitiv wie das MRT. (23,25,26)

Der Haupt- Nachteil des Ultraschall ist, dass das Ergebnis sehr Untersucherabhängig ist. Da Ultraschall den Knochen nicht durchdringt, ist die Beurteilbarkeit z.B. im Bereich des Knorpels durch Schallfenster eingeschränkt. Dies hat jedoch für die Synovialmembran keine Bedeutung. (21,23)

## **8 Veränderungen der Synovialmembran im Rahmen der Osteoarthrose**

Bei der Osteoarthrose ist der Beginn der Erkrankung nicht so einfach zu fassen, da das Auftreten von Symptomen (u.a. Schmerzen und/oder Funktionseinschränkung in dem betreffen Gelenk) zeitlich nicht mit dem Auftreten von Veränderungen in dem Gelenk zusammenhängen. (28)

Schon Arnoldi *et al.* (29) beschreiben zwei unterschiedliche Veränderungen der Synovialmembran im Rahmen von Coxarthrose. Im eher früheren Stadium beschreiben sie proliferative Veränderungen mit Ödem des Gewebes und venöser Stauung. In eher späteren Stadien wurde ein fibröser Umbau der Synovialmembran mit verminderter Menge an Synovia beschrieben. Diese Ergebnisse konnten in neuen Untersuchungen weitgehend bestätigt werden.

Bei früher Osteoarthrose scheinen hyperplastische und entzündliche Veränderungen im Vordergrund zu stehen. (4,30)

Bei fortgeschrittener Osteoarthrose findet sich signifikant mehr Fibrin an der Oberfläche, ebenso Detritus, Kapselfibrose und Plasmazellen. (4)

Entzündung scheint in allen Stadien der Osteoarthrose eine Rolle zu spielen. (5), (3,31-35)

Fassbender (1) beschreibt eine Folge von Veränderungen der Synovialmembran im Rahmen der Osteoarthrose. Durch Detritus, Kristalle in der Synovia oder Traumata kommt es zur Synovitis mit Aktivierung der Deckzellschicht und Entstehung plumper hyperplastischer *villi*. Dies vergrößert die Oberfläche und erleichtert dadurch die Aufnahme von Detritus. Es entstehen die typischen „vitreous *villi*“. Mit der Zeit geht die Dichte des Gefäßnetzes zurück. Durch eine zunehmende Inkongruenz des

Gelenks ist die so veränderte Synovialmembran zunehmenden Traumen ausgesetzt. Dadurch kommt es zur Hyalinisierung in den *villi* und zu einem weiteren Rückgang des Gefäßnetzes. Die Deckzellschicht atrophiert oder geht z.T. vollständig verloren. Mit der Zeit verschwindet auch das Gefäßnetz teilweise vollständig. In diesem Gewebe, das kaum noch die Struktur der Synovialmembran erkennen lässt, findet man Areale mit chondroider Metaplasie.

## **9 Chondroide Metaplasie und das Auftreten von CPPD Kristallen in der Synovialmembran**

Es ist seit längerem bekannt, dass in der Synovialmembran Areale mit chondroiden Zellen auftreten können. Beutler *et al.* (36) vertritt die Hypothese, dass es sich dabei nicht um aufgenommene Knorpelfragmente handelt, sondern um chondroide Metaplasie.

Diese Areale sind gekennzeichnet durch chondroide Zellen in homogener Matrix ohne umgebendes Gefäßnetz. Das Fehlen einer klaren Grenze zur Umgebung und die Trennung von der Gelenkhöhle durch eine Deckzellschicht sprechen gegen eine Herkunft von Knorpelfragmenten.

Interessant ist, dass in der Umgebung dieser chondroid metaplastischen Zellen Calcium Pyrophosphat Dihydrat Kristalle (CPPD Kristalle) nachgewiesen werden können.

In einer Studie zur Untersuchung von CPPD Kristalle in der Synovialmembran waren bei 9 von 10 Patienten die CPPD Kristallen in der Umgebung einer solchen Metaplasie nachweisbar. Elektronenmikroskopisch konnten zwar in den Synoviozyten der Umgebung CPPD Kristalle nachgewiesen werden, nicht jedoch in den metaplastischen Zellen. Die Kristalle scheinen durch die metaplastischen Zellen entstanden zu sein und wurden nicht aus der Gelenkhöhle aufgenommen. (36)

Fassbender (1) beschreibt das Auftreten von chondroider Metaplasie als Endstadium degenerativer Veränderungen in der Synovialmembran. Chondroide Metaplasie sei die Voraussetzung für das Entstehen sekundärer CPPD Kristalle in der Synovialmembran.

## **10 Bedeutung von Zytokinen aus der Synovialmembran für Veränderungen im Knorpel**

Auf der Suche nach besserem Verständnis der Entwicklung und des Progress der Osteoarthrose hat man in den letzten Jahren mehr und mehr Zytokine

/Zytokingruppen untersucht, um dadurch ggf. Interventionsmöglichkeiten ableiten zu können. (37,38)

Heute weiß man, dass die Homöostase des Knorpels von zahlreichen, untereinander ein Netzwerk bildenden Faktoren abhängt. Das Netzwerk hat man bisher nur punktuell verstanden und man kann es daher nicht gezielt beeinflussen.

Nach ihrem Einfluss auf den Umsatz der extrazellulärer Matrix des Knorpels kann man verschiedenen Gruppen unterscheiden: (37,38) .

Katabole Zytokine stimulieren die Chondrozyten zur Produktion von Enzymen, welche extrazelluläre Matrix abbauen:

u.a. **IL-1, TNF-alpha**, IL-17, IL-18

Antikatabole Zytokine hemmen die Wirkung der katabolen Zytokine:

u.a. IL-4, IL-10, IL-13, IL-1ra

Anabole Zytokine stimulieren die Chondrozyten zur Produktion von extrazellulärer Matrix :

u.a. **IGF-1, TGF-beta, BMP's**, IL 4

Modulatorische Zytokine beeinflussen die Wirkung der anderen Zytokine:

u.a. IL-6, IL-10, IL-11, IL-13

Schon Dingle (39) konnte zeigen, dass bei Rheumatoider Arthritis Zytokine aus der Synovialmembran lebende Chondrozyten zum Abbau der Matrix anregen können. Ein wichtiges Zytokin wurde ursprünglich als Catabolin bezeichnet. Später konnte als IL-1 identifiziert werden. (40)

In neueren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Makrophagen aus der Synovialmembran bei Osteoarthrose eine Rolle spielen.

In Synovialmembran- Zellkulturen von Patienten mit Osteoarthrose (Knie und Hüfte) wurden zum einen die Makrophagen depletiert, und zum anderen selektiv IL-1 und TNF-alpha neutralisiert. In beiden Fällen konnte danach keine Aktivität von IL1- oder TNF-alpha mehr nachgewiesen werden. Des weiteren konnte eine gleich stark signifikante Reduktion der von Fibroblasten produzierten Metalloproteinasen (MMP) 1 und 3 erreicht werden. (Metalloproteinasen wird eine wichtige Rolle bei der Entstehung der Osteoarthrose zugeschrieben.) Dies war durch alleinige Neutralisierung von IL-1 oder TNF-alpha nicht möglich. Dies weist darauf hin, dass IL-1 und TNF-alpha in diesem Zusammenhang wichtige Zytokine sind. (41)

Blom *et al.* (42) konnten zeigen, dass Makrophagen- Depletion in Mäuseknien bei Kollagenase-induzierter Osteoarthrose eine signifikante Reduktion der MMP-3



Produktion in der Synovialmembran bewirkt. Im Knorpel zeigte sich keine signifikant erhöhte MMP-3 Produktion und diese wurde nicht durch die Makrophagen- Depletion beeinflusst. Ergänzend konnten sie zeigen, dass bei 2 Jahre alten MMP-3 knockout-Mäusen bei Kollagenase-induzierter Osteoarthritis eine 67% Reduktion der schweren Knorpelschäden im Vergleich zur Kontrollgruppe beobachtet werden kann.

Ein weiterer Hinweis für die Bedeutung von Makrophagen in der Synovialmembran für die Entstehung der Osteoarthritis ergab sich aus Untersuchungen zur Entstehung von Osteophyten.

BMP-2 und TGF-beta können *in vitro* die Proteoglycansynthese der Chondrozyten steigern. Im Mausmodell zeigte sich, dass diese Zytokine bei wiederholten Injektionen in die Gelenkhöhle - alleine und zusammen - Osteophytenbildung induzieren. (43) Hemmt man diese Zytokine (z.B. bei Papain- induzierter Osteoarthritis bei Mäusen (44)), kann eine signifikante Reduktion der Osteophytenbildung bewirkt werden.

Dass Makrophagen dabei eine Rolle spielen, konnten (14) zeigen. Durch wiederholte TGF-beta Injektionen in Mäuseknie konnte Osteophytenbildung ausgelöst werden. In Makrophagen-depletierten Gelenken war die Osteophytenbildung signifikant reduziert. Dabei fiel auf, dass im Vergleich zu den Kontrollen nach TGF-beta Injektion in den Makrophagen-depletierten Gelenken BMP-2 und auch BMP-4 nicht vermehrt exprimiert wurden.

## **II Ziel der Untersuchung**

Ziel der Untersuchung ist es, die degenerativen strukturellen Veränderungen der Synovialmembran zu klassifizieren sowie ihre Entstehung und die Bedeutung für die Ernährung der Chondrozyten zu diskutieren.

Da die bisherigen Einteilungen der Veränderungen der Synovialmembran sich auf die entzündlichen Veränderungen konzentriert haben, wird in dieser Arbeit eine Einteilung gewählt, die den degenerativ metaplastischen Veränderungen Rechnung trägt. Dadurch soll eine Basis geschaffen werden um die strukturellen Veränderungen der Synovialmembran weiter zu untersuchen und deren Bedeutung für die Progression von Erkrankungen wie Osteoarthrose besser zu verstehen. Das Fernziel wäre frühe Interventionsmöglichkeiten zu finden.

### III Material und Methode

Das Zentrum für Rheuma-Pathologie der Johannes Gutenberg- Universität ist internationales Referenzzentrum für rheumatische Erkrankungen. Zugesandte Proben sind in Formalin fixiert. Nach Eintreffen der Proben werden sie in Paraffin gebettet, mit einem Schlittenmikrotom der Firma Leitz (Wetzlar) in 4µm dicke Schnitte geschnitten und mit Hämatoxylin Eosin gefärbt. Bei Bedarf werden Sonderfärbungen durchgeführt.

Aus der Routinediagnostik der Jahre 2005 und 2006 wurden alle Präparate mit Nachweis von degenerativen Veränderungen in der Synovialmembran in die Arbeit eingeschlossen. Aus den Informationen des einsendenden Arztes wurden Alter des Patienten, Herkunft der Probe und Erkrankungsdauer (soweit angegeben) entnommen. Ausgeschlossen wurden Patienten mit systemischen rheumatischen Erkrankungen (wie z.B. Rheumatoider Arthritis, Erkrankungen aus dem Formenkreis der seronegativen Spondarthritiden), Gelenkprothesen, Arthritis psoriatica, Uratgicht, bakteriellen Arthritiden oder Neoplasien.

Als höchstes Stadium der strukturellen Veränderung wurde das Vorkommen chondroider Metaplasie definiert. Ausgehend von der Struktur der gesunden Synovialmembran (je nach Entnahmeort lockeres oder etwas dichteres (z.B. Hüfte) Bindegewebe, dichtes Gefäßnetz im Stroma und schmale *villi* an der Oberfläche) wurden dann Stadien mit zunehmenden Veränderungen festgelegt. Dabei wurden folgende Kriterien berücksichtigt:

Fibrosierung des Stroma, Ausprägung des Gefäßnetzes, Auftreten von Hyalinose, Auftreten von chondroider Metaplasie mit und ohne Auftreten von Calcium Pyrophosphate Dihydrate (CPPD) Kristallen.

Nicht berücksichtigt wurden entzündliche und reaktive Veränderungen wie z.B. entzündliche Infiltrate oder Stufen der Deckzellschichten.

Daraus ergaben sich folgende 4 Stadien:

#### **Stadium 1:**

Im Vergleich zum lockeren Bindegewebe des Stromas der normalen Synovialmembran zeigt sich dichteres Bindegewebe, in dem das Verhältnis von Bindegewebsfasern zu Bindegewebszellen zugunsten der Fasern verschoben ist (Fibrosierung). Es zeigt sich aber noch das gewohnte dichte Gefäßnetz. (Abb. 2)

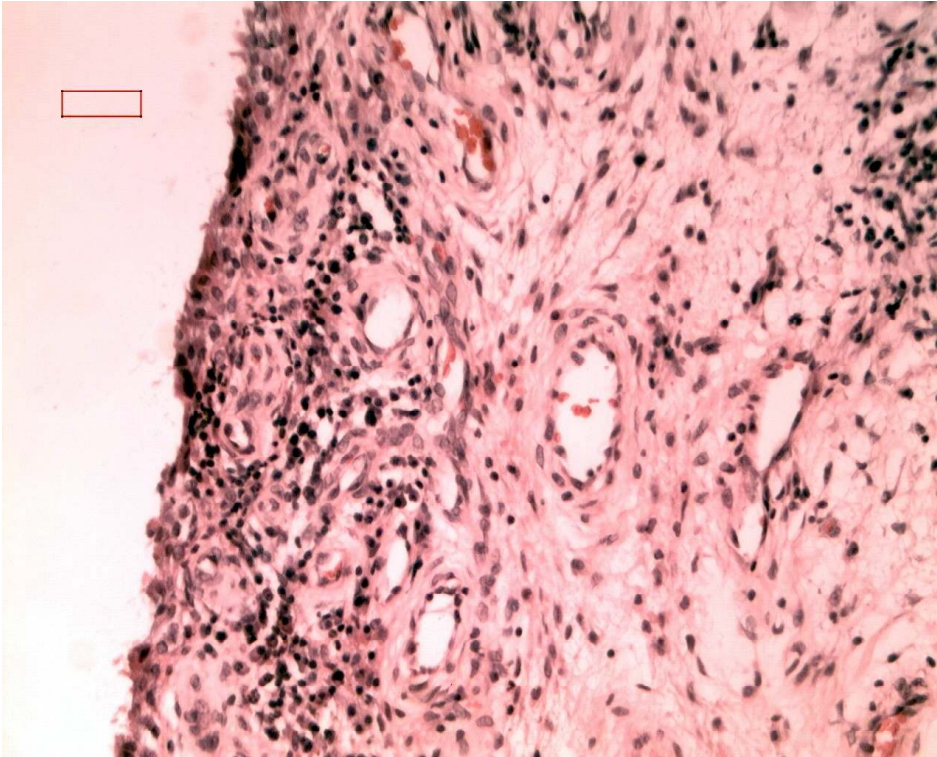


Abb. 2:  
Ausschnitt aus der Synovialmembran. Links im Bild Deckzellschicht mit darunterliegendem dichterem Bindegewebe. Es zeigt sich noch ein dichtes Gefäßnetz in den mittleren und rechten Bildabschnitten. [Stadium 1]

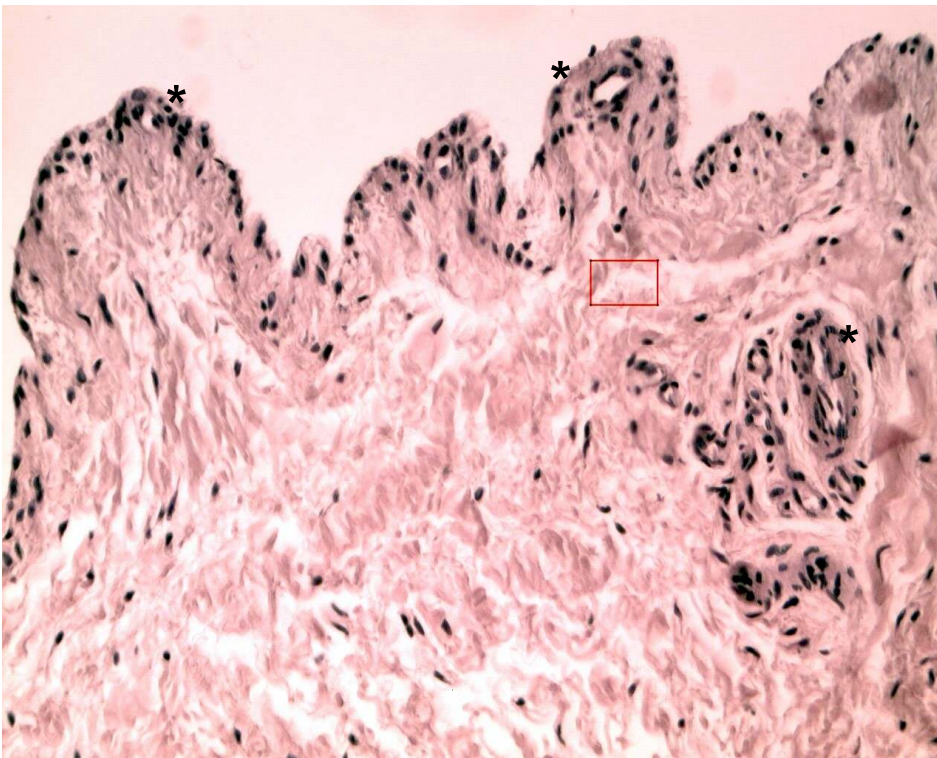


Abb. 3:  
Ausschnitt aus der Synovialmembran. Im oberen Bildabschnitt villi mit fibrosiertem Bindegewebe mit vereinzelt Bindegewebszellen. Das Gefäßnetz (\*) ist deutlich rarifiziert. [Stadium 2]

### **Stadium 2:**

Mit weiterer Zunahme der degenerativen Veränderungen nimmt die Dichte der Bindegewebsfasern im Stroma zu. Die Dichte der Bindegewebszellen und die Dichte des Gefäßnetzes nimmt ab. Das Bild des lockeren Bindegewebes geht verloren. (Abb. 3)

### **Stadium 3:**

In den Bereichen mit dichtem Fasergeflecht, stark rarifiziertem Gefäßnetz und Zellarmut zeigen sich Areale mit glasartiger homogener eosinophiler Grundsubstanz ohne Faserstruktur (Hyalinose). (Abb. 4+5)

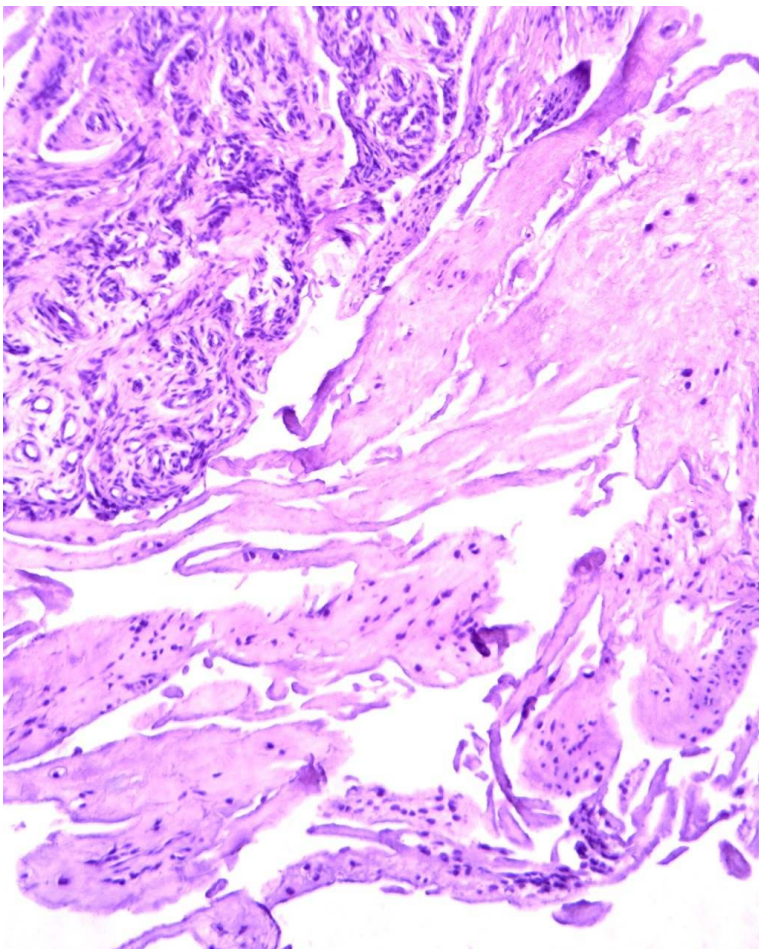


Abb. 4:  
Unterschiedliche Synovialabschnitte:  
Links weitgehend erhaltene Synovialstruktur mit locker fibrosiertem Stroma, rechts fortgeschrittene Hyalinisierung mit Gefäßverlust [Stadium 3]

### **Stadium 4:**

In Arealen mit Hyalinose zeigen sich überlebende Bindegewebszellen mit verändertem Phänotyp. Sie haben einen kugeligen Zellkern und kugeliges Zytoplasma. (chondroide Metaplasie) Um die Zellen, die auch in Zweiergruppen



angeordnet vorkommen zeigt sich z.T. ein Halo, wie man es von hyalinem Knorpel kennt. Eine klare Grenze zum umliegenden Stroma fehlt. (Abb. 6-8)

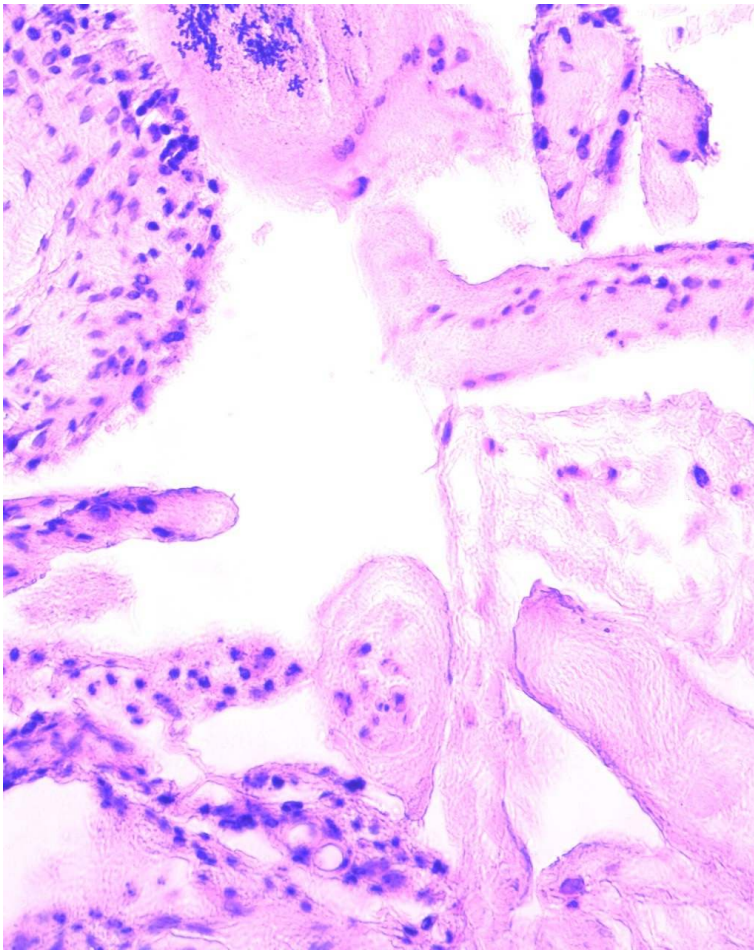


Abb. 5:  
Links erhaltenes Synovialstroma, Mitte und rechts totale Hyalinisierung mit chondrozytärer Transformation der Stromazellen (Chondroide Metaplasie) [Stadium 4]

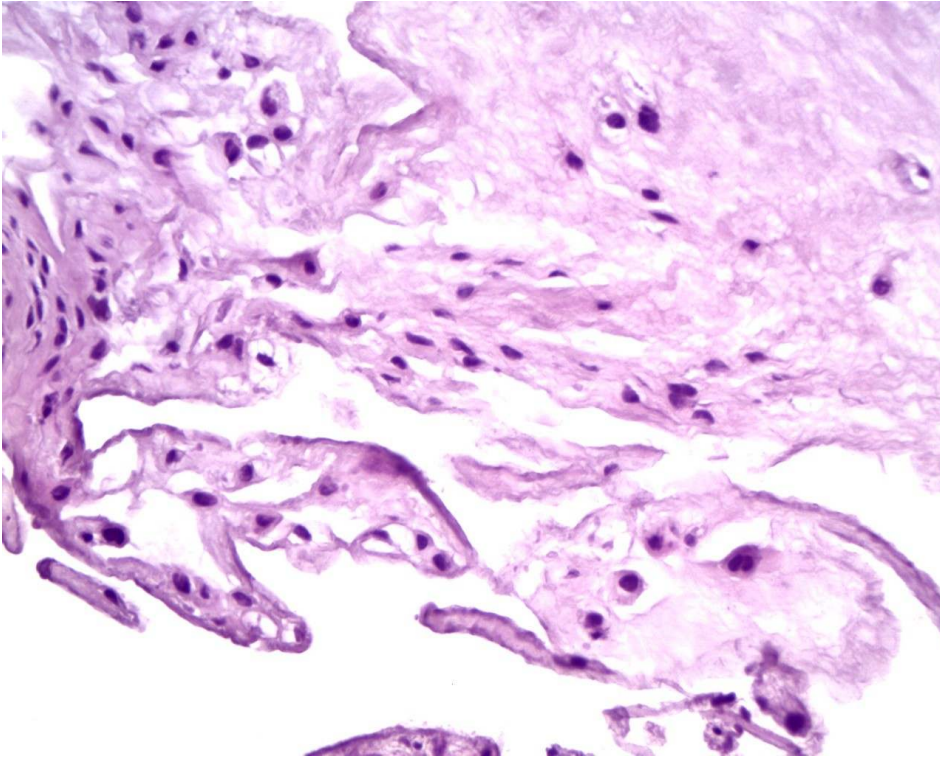


Abb. 6:  
voll ausgebildete Chondroide Metaplasie im hyalinisierten Bereich der Synovialmembran  
[Stadium 4]

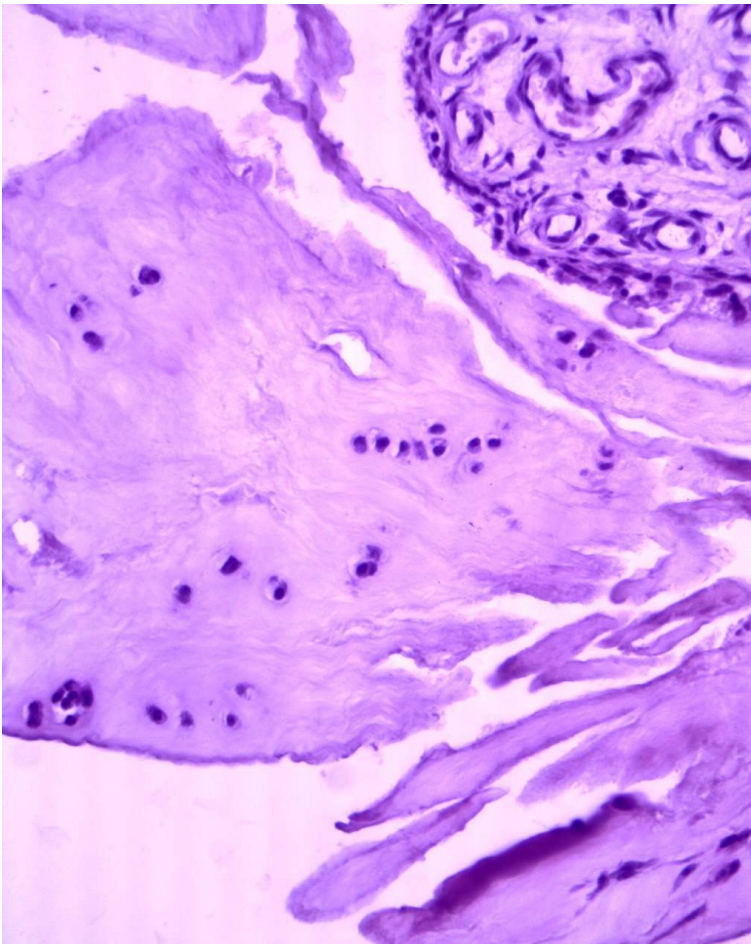


Abb. 6a:  
Zotte mit hyalinisiertem Stroma und Chondroider Metaplasie [Stadium4]



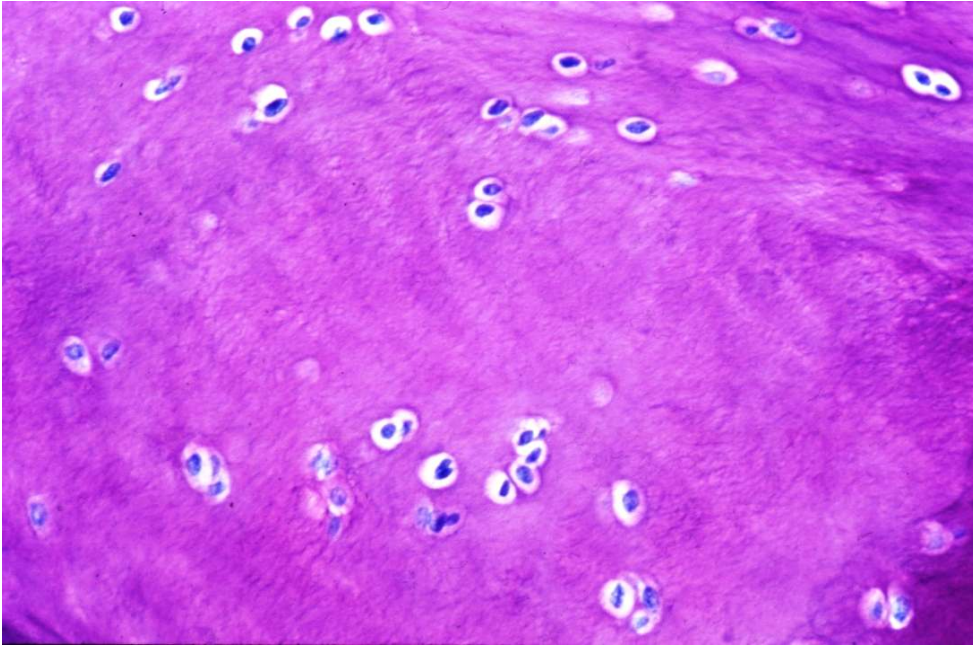


Abb. 7:  
Totale Hyalinisierung mit verstreuten Chondrozyten [Stadium 4]

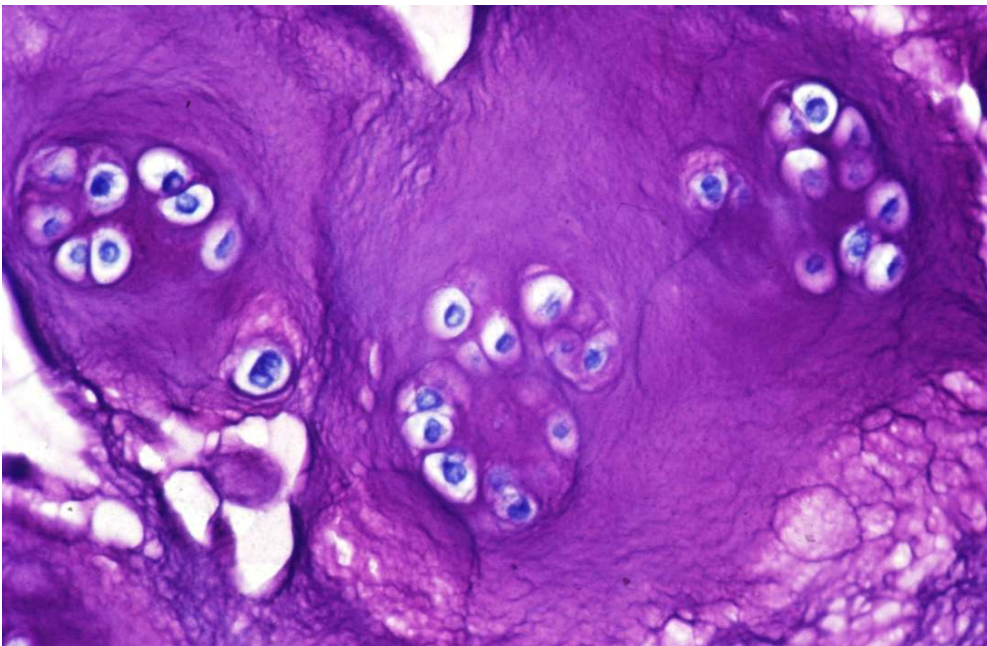


Abb. 8:  
Totale Hyalinisierung mit Chondrozytenclustern [Stadium 4]

Die funktionelle Qualität dieser umgewandelten Bindegewebszellen erkennt man daran, dass sie Matrix (Proteoglykane) bilden. Vgl. Abb. 9 (Quelle ZRP Mainz)



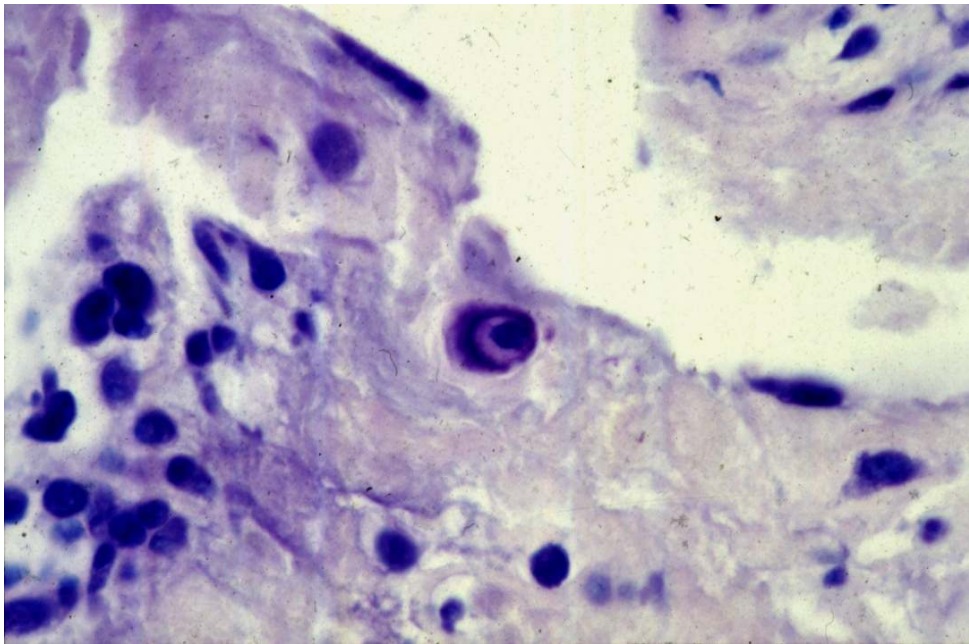


Abb. 9:  
In der Mitte des Bildes Chondrozyt mit umgebender proteoglykanreicher Matrix [Stadium 4]

In der Polarisationsmikroskopie können in diesen Bereichen z.T. doppelbrechende CPPD Kristalle nachgewiesen werden. Ohne Nachweis von chondroider Metaplasie konnten keine CPPD Kristalle gesehen werden. (Abb. 10)

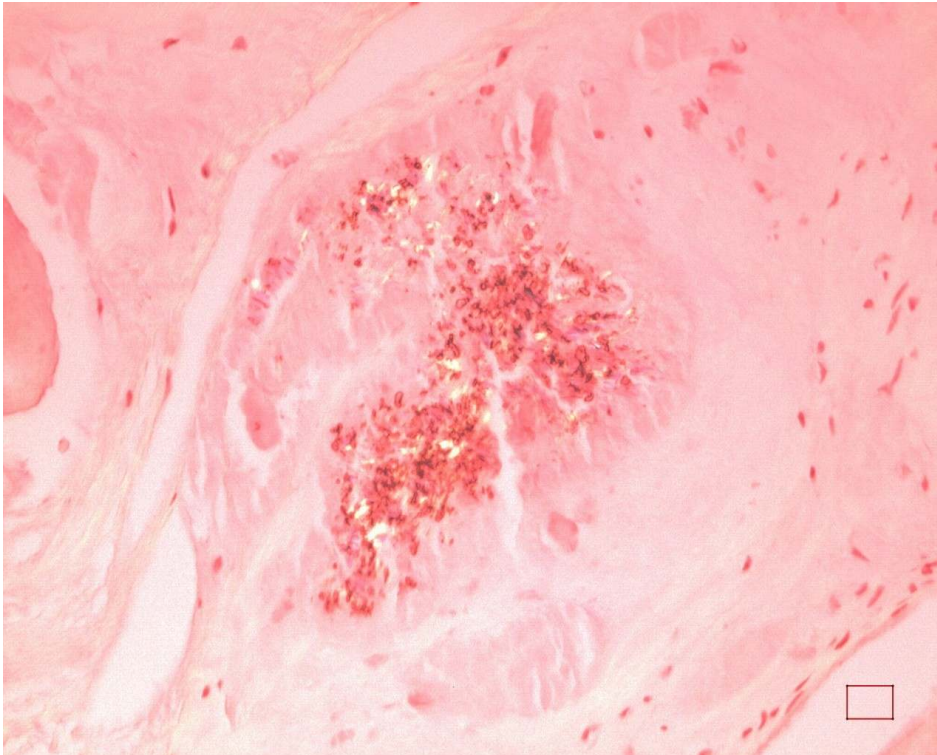


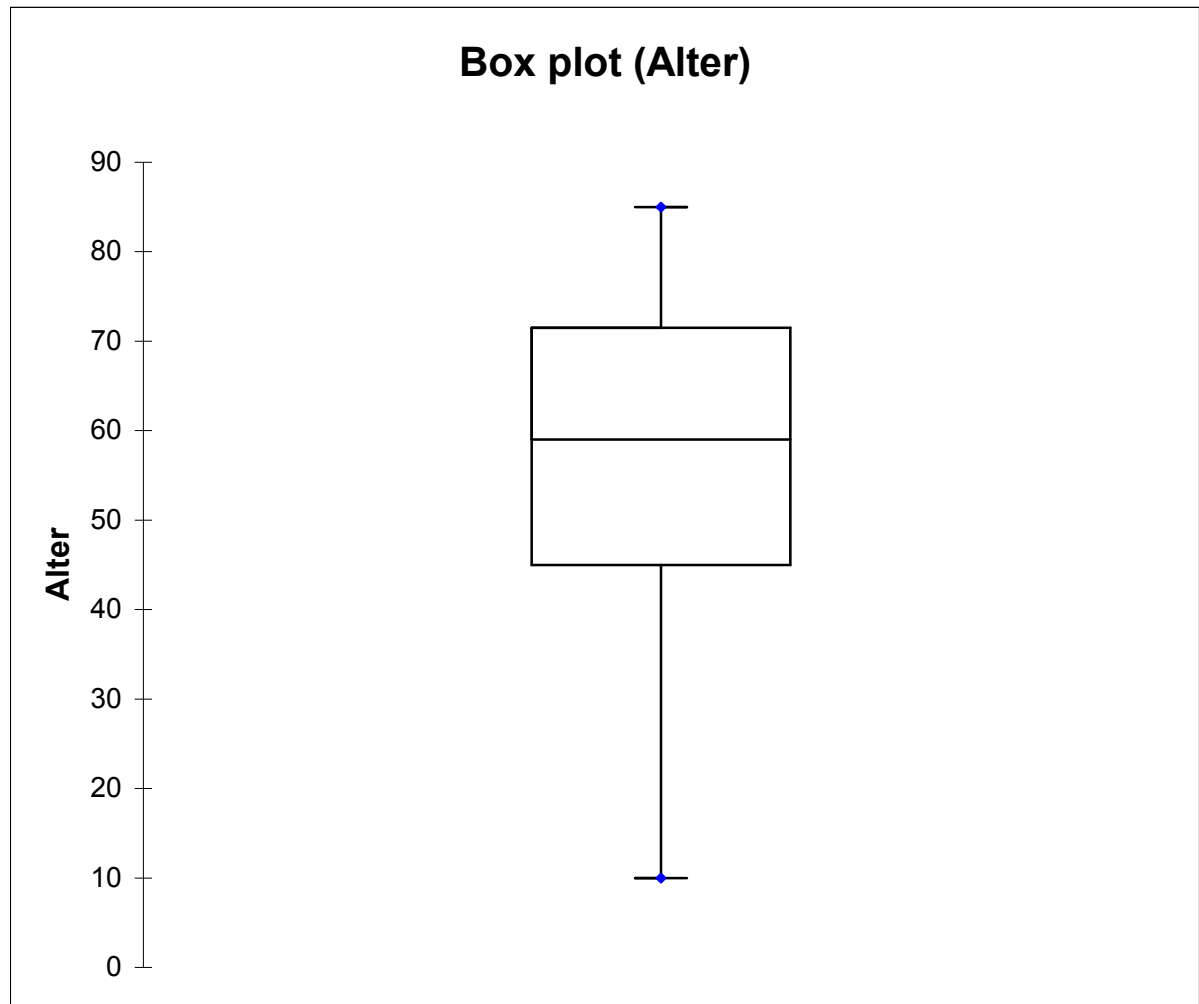
Abb. 10:  
Zotte mit chondroider Metaplasie und doppelbrechenden CPPD Kristallen in der Polarisationsmikroskopie. [Stadium 4]

Gewertet wurde immer die Region im Präparat mit der maximalen Veränderung.  
Die Klassifizierung erfolgte durch 2 unabhängige Personen, davon ein Facharzt für Pathologie. Bei Diskrepanz wurde durch Diskussion ein Konsens gefunden.

## IV Ergebnisse

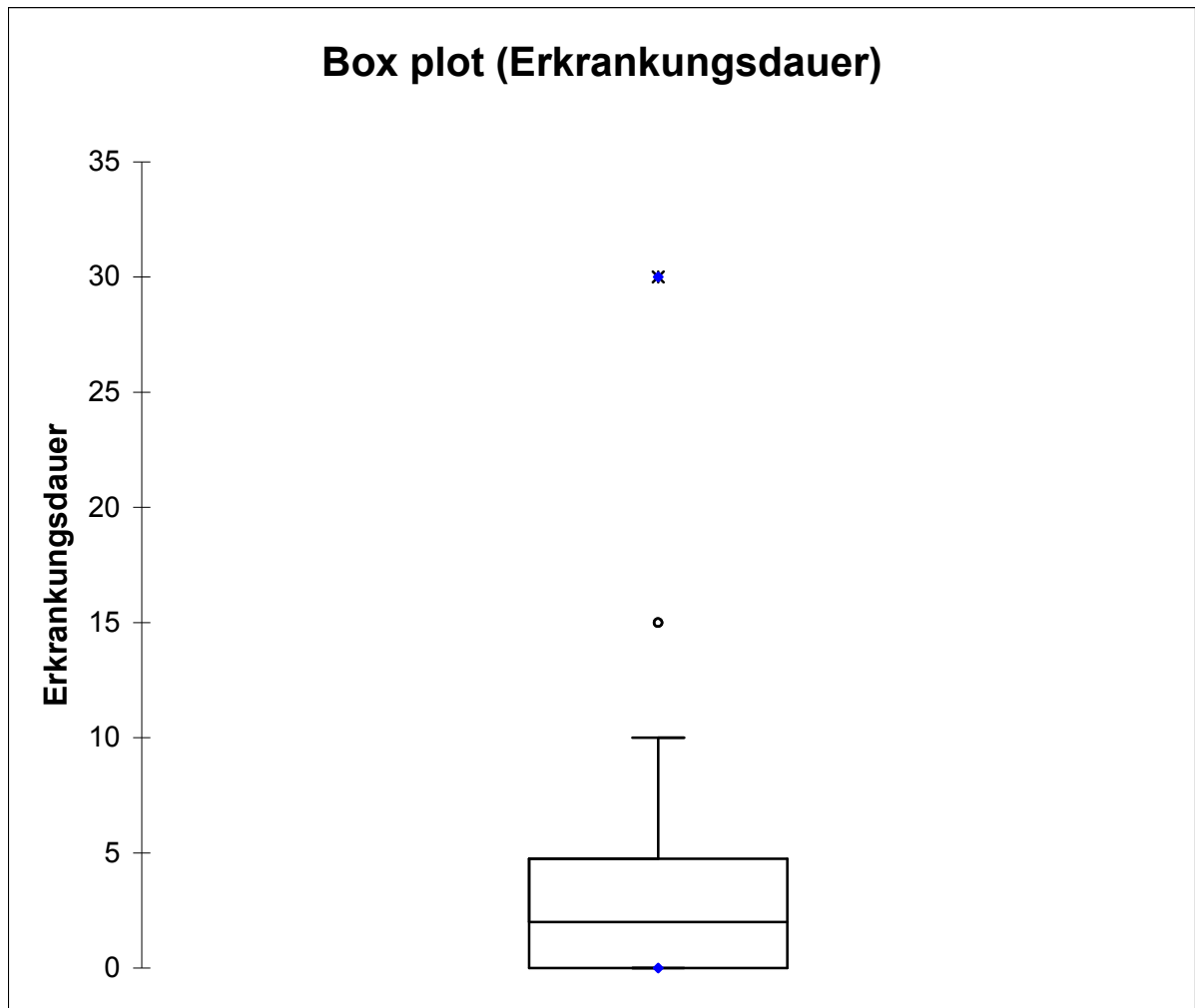
In die Arbeit eingeschlossen wurden insgesamt 59 Synovialmembran- Präparate, davon 27 von weiblichen Patienten und 32 von männlichen Patienten.

Die Patienten waren zwischen 10 und 85 Jahre alt, der Median lag bei 59 Jahren.



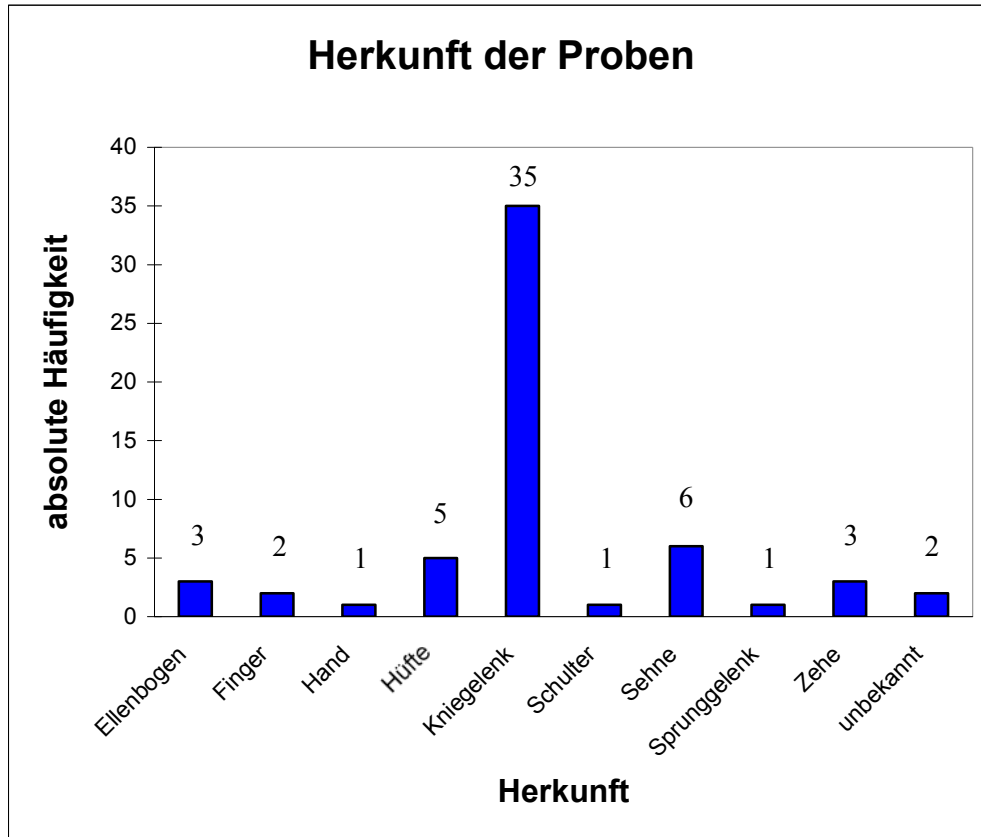
n	Minimum	Maximum	1. Quartil	Median	3. Quartil
59	10,00	85,00	45,00	59,00	71,50

Die Erkrankungsdauer lag zwischen 0 und 30 Jahren, der Median lag bei 2 Jahren, wobei bei 13 Fällen die Erkrankungsdauer nicht bekannt war.

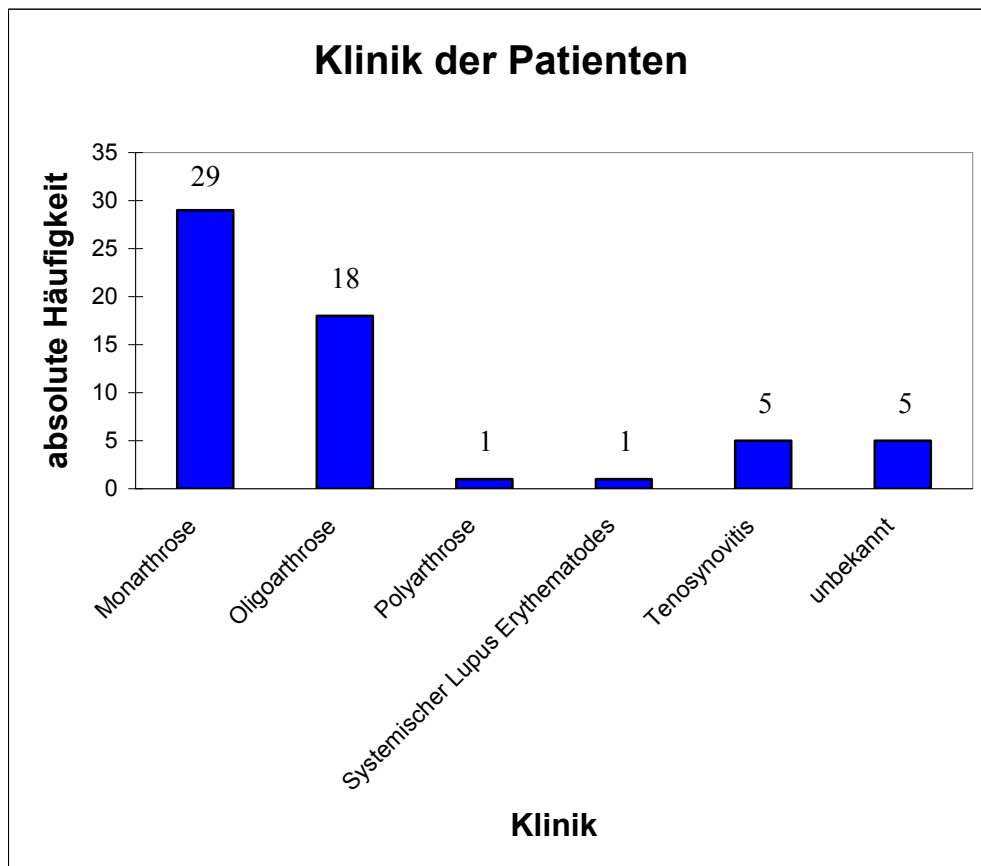


n	Minimum	Maximum	1. Quartil	Median	3. Quartil
46	0,00	30,00	0,00	2,00	4,75

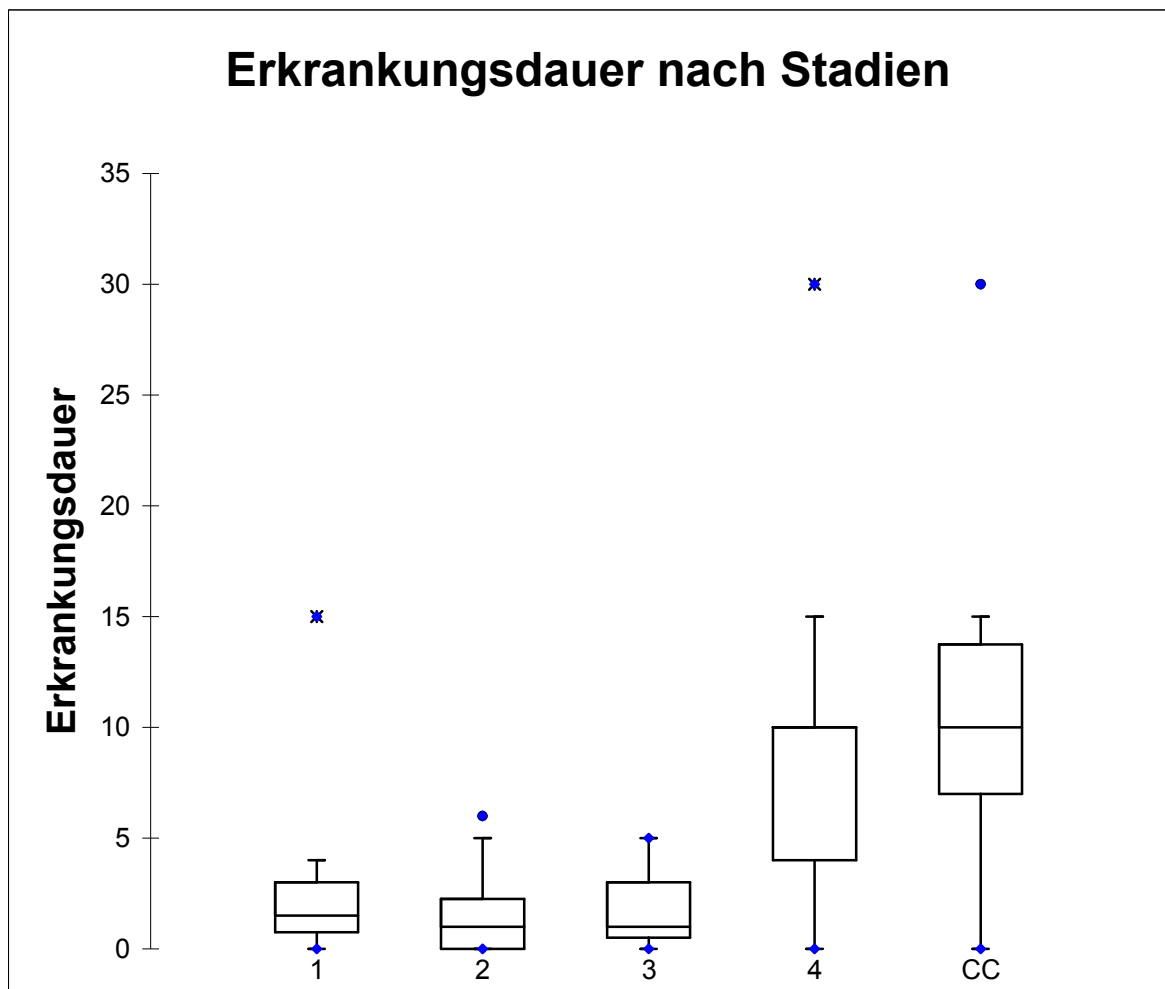
Die Probenherkunft nach Gelenken verteilte sich wie folgt:



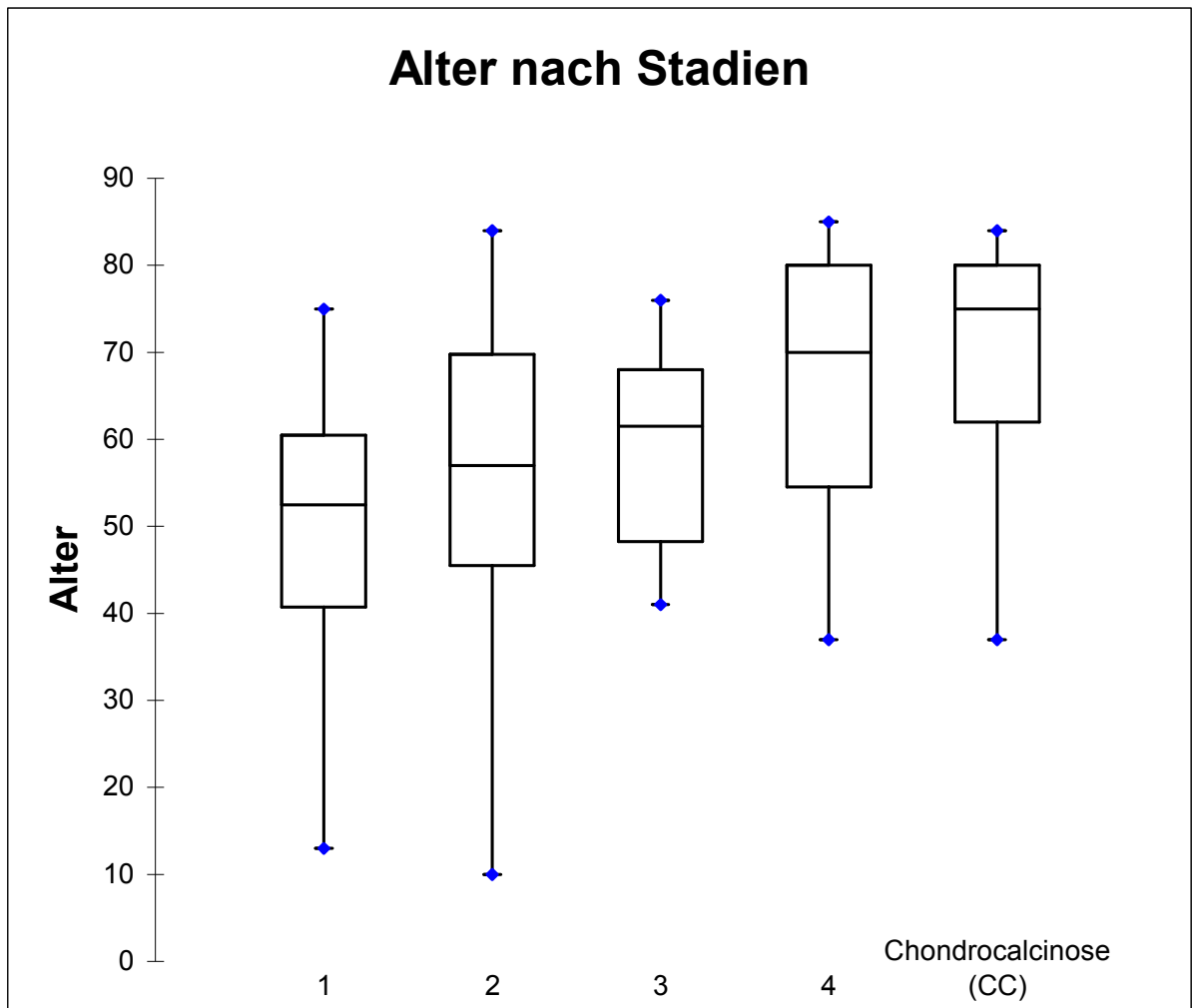
Die Klinik der Patienten verteilte sich wie folgt:



Es ergab sich folgende Verteilung der Erkrankungsdauer und des Alters nach Stadien:



Stadium	1	2	3	4	Chondrocalci nose (CC)
n	12	20	3	11	6
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Maximum	15,00	6,00	5,00	30,00	30,00
1. Quartil	0,75	0,00	0,50	4,00	7,00
Median	1,50	1,00	1,00	10,00	10,00
3. Quartil	3,00	2,25	3,00	10,00	13,75



Stadium	1	2	3	4	Chondrocalcinose (CC)
n	16	22	6	15	9
Minimum	13,00	10,00	41,00	37,00	37,00
Maximum	75,00	84,00	76,00	85,00	84,00
1. Quartil	40,75	45,50	48,25	54,50	62,00
Median	52,50	57,00	61,50	70,00	75,00
3. Quartil	60,50	69,75	68,00	80,00	80,00

## V Diskussion

### 1 Besprechung der Ergebnisse

Bisher wurden in erster Linie entzündliche Veränderungen der Synovialmembran eingeteilt oder unterschiedliche Arten der Synovialveränderungen klassifiziert. Anhand der untersuchten Schnitte konnten nun Stadien mit zunehmenden degenerativen strukturellen Veränderungen eingeteilt werden. Während der Klassifizierung hat sich gezeigt, dass es weitgehend fließende Übergänge zwischen den Stadien gibt.

Zur Einteilung der Stadien wurden entzündliche/reaktive Veränderungen ausgeklammert, da sie bereits gut untersucht sind. Außerdem ist davon auszugehen, dass sie sich zeitlich stärker verändern und daher die Bedeutung in einer punktuellen Untersuchung schwerer zu beurteilen ist.

Obwohl keine weitere statistische Auswertung geplant war - die Anzahl der Patienten pro Stadium sind zu gering und die Verteilung auf die Stadien ist zu ungleichmäßig - fallen in der nach Stadien aufgetrennt Verteilung von Alter und Erkrankungsdauer der Patienten drei Dinge auf:

1. Die Verteilung der Erkrankungsdauer im Stadium 4 war in dieser Untersuchung deutlich länger als in den anderen Stadien. Dies weist darauf hin, dass die Erkrankungsdauer für die Entstehung der fortgeschrittenen Stadien von Bedeutung sein kann und v.a. die chondroide Metaplasie erst am Ende eines länger andauernden Prozesses steht. Man muss aber berücksichtigen, dass die Dauer der Erkrankung ein relativ unsicherer Faktor ist, da das Auftreten von Beschwerden meistens nicht mit dem Beginn struktureller Veränderungen zusammenhängt, sondern meistens Zeichen einer Synovitis ist. (1,28) Dies wirft die Frage auf, inwieweit Entzündung für die Entstehung der strukturellen Veränderungen der Synovialmembran von Bedeutung ist.

2. Die Altersverteilung in den verschiedenen Stadien lässt vermuten, dass in höherem Alter vermehrt höhere Stadien der strukturellen Veränderungen beobachtet werden können. Um dies nachweisen zu können müsste man aus oben genannten Gründen eine größere Untersuchung durchführen. Sollte sich der Zusammenhang bestätigen würde dies den Untersuchungen von Pasquali-Ronchetti *et al.* (8) entsprechen, die im Alter vermehrt Fibrose in der Synovialmembran beobachtet haben.



3. Das Stadium 3 ist deutlich weniger häufig vertreten. Dies lässt vermuten, dass dieses Stadium nur in einem relativ begrenzten Zeitraum zu beobachten ist und vielleicht nur ein Zwischen/ Vorstadium zur chondroiden Metaplasie darstellt.

Anhand der beobachteten Stadien der Veränderungen lässt sich eine Folge von Veränderungen beschreiben wie sie auch schon Fassbender (1) erwähnt.

Am Anfang der Veränderungen steht eine zunehmende Fibrosierung des Stroma. Im weiteren Verlauf bildet sich das Gefäßnetz zurück und die Dichte der Zellen nimmt ab. Bei weiterem Fortschreiten der Veränderungen mit fast vollständigem Verlust des Gefäßnetzes entstehen Areale mit Hyalinose. In diesen Bereichen kommt es zur chondroiden Metaplasie. Dies scheint die Voraussetzung zu sein, dass in der Synovialmembran CPPD Kristalle (sek. Chondrocalcinose) entstehen, die man sonst nur in Bereichen mit Knorpel, (v.a. im Meniskus) findet.

## **2 Wie kommt es zu den Veränderungen ?**

Die Frage, wie es zu den beobachteten Veränderungen kommt, kann man bisher nicht ausreichend beantworten. Jedoch gibt es einige Anhaltspunkte, was an deren Entstehung beteiligt sein könnte.

### Zunehmende Fibrosierung des Stromas:

Aus Experimenten an Mäusen ergeben sich Hinweise, dass TGF-beta und BMP-2 an der Entstehung der Fibrose im Stroma der Synovialmembran beteiligt sein könnten. Nach intraartikulären Injektionen von TGF-beta und BMP-2 bei Mäusen - um den Einfluss auf die Proteoglycansynthese der Knorpelzellen zu untersuchen - zeigte sich, dass TGF-beta und in geringerem Maße auch BMP-2 in der Lage ist im Stroma der Synovialmembran Fibrose zu induzieren. (43)

Im Rahmen von Untersuchungen bei Papain- induzierter Osteoarthrose bei Mäusen konnte durch Inaktivierung des endogenen TGF-beta und BMP-2 die Entstehung von Fibrose reduziert werden. (44)

Untersuchungen von Blom *et al.* (45) weisen darauf hin, dass Makrophagen auch bei der Entstehung der TGF-beta und BMP-2 induzierten Fibrose eine wichtige Rolle spielen. Bei Kollagenase-induzierter Arthrose in Knien von Mäusen konnten sie zeigen, dass eine Entfernung der Makrophagen aus dem Gelenk durch Clodronat-Liposomen zu einer signifikant geringeren Aktivierung der Synovialmembran und zu weniger Fibrose in der Synovialmembran führt. Da dies mit einer deutlichen Reduktion der Produktion der Wachstumsfaktoren TGF-beta, BMP-2 und BMP-4

einhergeht, bestätigt dies die analogen Ergebnisse von van Lent *et al.* (14) bei der Untersuchung der Osteophytenbildung. In Ihren Untersuchungen hatten sie darüber hinaus Hinweise dafür gefunden, dass die Produktion von BMP-2 und BMP-4 nicht direkt durch TGF-beta induziert wird, sondern noch unbekannte Kofaktoren benötigt.

#### Reduzierung des Gefäßnetzes:

Bonnet und Walsh (46) geben eine Übersicht über Entzündung und Angiogenese im Rahmen von Osteoarthrose. Angiogenese und Entzündung scheinen sich gegenseitig zu fördern. Die Prozesse bei akuter Entzündung wurden u.a. im Rahmen von Experimenten bei Rheumatoider Arthritis untersucht. Bei chronischer Entzündung, wie sie bei Osteoarthrose häufiger vorkommt, sind die Prozesse noch nicht gut genug verstanden. Es wird u.a. beschrieben, dass bei Osteoarthrose der Umsatz der Gefäße erhöht ist. Dadurch kann sich die Qualität der Gefäße verändern.

Die Angiogenese wird durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst, viele davon haben je nach Situation einen stimulierenden oder inhibierenden Effekt. Beispiele für Zytokine, die die Angiogenese in der Synovialmembran durch Erhöhung der VEGF- Sekretion von Fibroblasten fördern sind IL-1, TNF-alpha und IL-17. (47) Warum es im Laufe der Osteoarthrose zum Rückgang des Gefäßnetzes kommt kann dadurch aber nicht erklärt werden.

Als Ursache wird eine zunehmende Schädigung der Gefäße, z.B. durch Traumen bei Instabilität im Gelenk diskutiert. (1) Denkbar wäre aber auch ein Überwiegen der Antiangiogenese- Faktoren.

Geht man davon aus, dass eine beginnende chondroide Metaplasie der Mesenchymzellen der Synovialmembran eine Rolle spielen, wäre Chondromodulin I ein möglicher Kandidat, der dieses Gleichgewicht stören könnte.

Chondromodulin I wird von einem Membranprotein in aktiver Form abgespalten. Es scheint eins der wichtigsten Antiangiogenesefaktoren des Knorpels zu sein. In *in vitro* Experimenten konnte gezeigt werden, dass die Chondromodulin I Produktion bei Mesenchymzellen durch eine chondroide Differenzierung induziert werden kann und bei Dedifferenzierung von Chondrozyten wieder abnimmt. (48)

Es wäre somit von Interesse zu untersuchen, ob der Rückgang des Gefäßnetzes in der Synovialmembran mit einer Expression von Chondromodulin I einhergeht. Es ist gut möglich, dass dies in Bereichen mit Hyalinose und chondroider Metaplasie der Fall ist.

### Hyalinose:

In den untersuchten Präparaten war das Stadium 3 relativ selten. Geht man davon aus, dass es sich um ein Zwischen- oder Vorstadium zur chondroiden Metaplasie handelt, müssten die gleichen Faktoren an der Entstehung beteiligt sein wie bei der chondroiden Metaplasie (s.u.). Könnte man z.B. in diesen Bereichen Chondromodulin I nachweisen, wäre dadurch der Verlust des Gefäßnetzes erklärt und man hätte einen weiteren Hinweis dafür, dass es sich um ein Vorstadium zur chondroiden Metaplasie handelt.

Sollte sich dies nicht bestätigen, müsste man doch von einem eigenständigen Stadium ausgehen und nach Faktoren suchen, die dessen Entstehung begünstigen.

### Chondroide Metaplasie:

Für die Entstehung der chondroiden Metaplasie gibt es mehrere Erklärungsansätze:

1. Auf der Suche nach Möglichkeiten Knorpel zu ersetzen hat man herausgefunden, dass Mesenchymzellen aus der Synovialmembran durch TGF-beta1, BMP-2 und BMP-7 zur Differenzierung in Chondrozyten angeregt werden konnten.

Von Patienten mit Osteoarthrose wurden Alginat- Zellkulturen der Synovialmembran angelegt. Als Marker für chondroide Differenzierung wurden mRNA- Levels von Aggrecan, Kollagen II und Sox9 untersucht. Durch Stimulation mit BMP-2 und BMP-7 konnten die mRNA- Levels dosisabhängig erhöht werden. Außerdem konnte nach mehreren Wochen der Phänotyp von Knorpelzellen in extrazellulärer Matrix erreicht werden. (49,50)

In ähnlichen Versuchen mit mesenchymalen Stammzellen aus der Synovialmembran von Rindern konnte der gleiche Effekt auf die Genexpression von Aggrecan, Kollagen II und Sox9 auch für TGF-beta nachgewiesen werden. (51)

2. Durch zyklische Kompression von mesenchymalen Stammzellen aus der Synovialmembran von Kaninchen mit einer Frequenz von 0,5/sec, und Drücken bis 5MPa für die Dauer einer Stunde konnte ebenfalls eine signifikant erhöhte Genexpression des proteoglycan core proteins, Kollagen II und Sox9 als Marker für chondrogene Differenzierung erreicht werden. (50,52)

3. Eine weitere Möglichkeit ist, dass die chondroide Metaplasie eine Anpassung an eine Umgebung mit fehlendem Gefäßnetz ist, sozusagen eine Überlebensstrategie bei fehlender Gefäßversorgung. (1)

Insgesamt ist eine Kombination dieser Möglichkeiten wahrscheinlich.

### **3 Bedeutung für die Ernährung des Knorpels**

Da die Chondrozyten vollständig von der Synovialmembran abhängig sind, ist es verständlich, dass Veränderungen in der Synovialmembran den Knorpel beeinflussen. Dieser Einfluss macht sich um so mehr bemerkbar, wenn der Umsatz des Knorpel erhöht ist, u.a. bei Reparatur im Rahmen von Traumen und Verschleiß.

An verschiedenen Punkten der Strecke, die Nährstoffe und Stoffwechselprodukte von den Kapillaren zu den Knorpelzellen und umgekehrt zurücklegen, können die strukturellen Veränderungen Einfluss nehmen.

Der Rückgang des Gefäßnetzes und die Veränderung der Blutzirkulation erschwert die Versorgung mit Nährstoffen und den Abtransport von Stoffwechselprodukten. Ab einem gewissen Punkt ist aber auch davon auszugehen, dass die Funktion der Deckzellschicht beeinträchtigt wird. Wenn die Konzentration der Hyaluronsäure in der Synovia dadurch sinkt, kann dies durch eine vermehrte Permeabilität der Synovialmembran zum verstärkten Ausstrom von Wasser aus der Gelenkhöhle führen. Durch ein Ödem des umliegenden Gewebes kann dadurch der Blutfluss im Bereich des Gelenk zusätzlich vermindert werden. (18)

Die zunehmende Fibrosierung des Stromas der Synovialmembran bis hin zu Hyalinose und chondroider Metaplasie verändert die Permeabilität der Synovialmembran. Welchen Einfluss diese Veränderungen auf die Zusammensetzung der Synovia und deren Umsatz haben ist im Detail noch nicht ausreichend untersucht. (15,17)

Umgekehrt muss man davon ausgehen, dass die Synovialmembran auch von den Veränderungen im Knorpel beeinflusst wird. Es wird davon ausgegangen, dass Detritus über Makrophagen der Synovialmembran abgebaut wird. Diese scheinen zum einen die Schädigung des Knorpels zu fördern (u.a. über IL1 und TNF alpha), zum anderen aber auch an den strukturellen Veränderungen der Synovialmembran beteiligt zu sein (u.a. über TGF-beta und BMP's). (14,41)

Somit scheinen die strukturellen Veränderungen mit den entzündlichen Veränderungen der Synovialmembran zusammenzuhängen. Wichtig wäre herauszufinden an welcher Stelle man den Teufelskreis von zunehmenden Knorpelschäden, entzündlichen und strukturellen Veränderungen unterbrechen kann. Um der Entstehung von Osteoarthritis zuvorzukommen müsste man dies vor einem wesentlichen Rückgang des Gefäßnetzes und ausgeprägter Fibrosierung der Synovialmembran erreichen.

## VI Zusammenfassung

In dieser Arbeit wird eine Einteilung der degenerativen strukturellen Veränderungen der Synovialmembran vorgestellt. Anhand der Kriterien Fibrosierung des Stromas, Rückgang des Gefäßnetzes, Auftreten von Hyalinose und chondroider Metaplasie mit und ohne Nachweis von CPPD Kristallen wurden Präparate der Synovialmembran von 59 Patienten mit Nachweis degenerativer strukturellen Veränderungen in 4 Stadien eingeteilt. Hyalinose (Stadium 3) konnte in den untersuchten Schnitten nur relativ selten beobachtet werden, so dass am ehesten von einem Vorstadium zu chondroiden Metaplasie auszugehen ist.

Die Verteilung der Erkrankungsdauer und des Alters in den verschiedenen Stadien lassen darauf schließen, dass höhere Stadien mit höherem Alter und längerer Erkrankungsdauer korrelieren.

Aus der vorhandenen Literatur ergeben sich Hinweise, welche Faktoren zu der Entstehung der strukturellen Veränderungen beitragen können:

Aus dem Netzwerk der Zytokine scheinen TGF-beta und die BMP's an der Zunahme der Fibrose und an der Entstehung chondroider Metaplasie beteiligt zu sein. Makrophagen scheinen dabei eine wichtige Rolle zu spielen. Dies weist darauf hin, dass entzündliche und strukturelle Veränderungen miteinander vernetzt sind.

Bei der Entstehung der chondroiden Metaplasie kommen zusätzlich mechanische Einflüsse in Form von zyklischen Kompressionen als Einflussfaktor in Frage.

Die Regulierung der Angiogenese ist noch zu wenig verstanden, um den Gefäßrückgang bei fortgeschrittenen strukturellen Veränderungen zu erklären. Erklärungsansätze sind zum einen zunehmende mechanische Schädigung bei zunehmender Inkongruenz der Gelenkflächen. Zum anderen könnte eine beginnende chondroide Metaplasie mit Expression von Chondromodulin I eine entscheidende Rolle spielen.

Insgesamt muss man davon ausgehen, dass die zunehmenden strukturellen Veränderungen die Ernährung des Knorpels erschweren. Dabei ist an erster Stelle der Rückgang des Gefäßnetzes zu nennen. Dies erschwert nicht nur die Versorgung mit Nährstoffen sondern auch den Abtransport von Stoffwechselprodukten. Ab einem gewissen Punkt ist aber auch davon auszugehen, dass die Funktion der Deckzellschicht beeinträchtigt wird. Wenn die Konzentration der Hyaluronsäure in der Synovia dadurch sinkt, kann dies durch eine vermehrte Permeabilität der Synovialmembran zum verstärkten Ausstrom von Wasser aus der Gelenkhöhle

führen. Durch ein Ödem des umliegenden Gewebes kann dadurch der Blutfluss im Bereich des Gelenk zusätzlich vermindert werden.

Auch die zunehmende Fibrosierung der Synovialmembran kann einen Einfluss auf die Permeabilität der Synovialmembran haben. Ob und in welchen Stadien der Veränderungen das einen relevanten Einfluss für die Ernährung der Chondrozyten hat, muss noch unklar.

## VII Literaturverzeichnis

1. Fassbender HG. Pathology and pathobiology of rheumatic diseases. Berlin: Springer; 2002.
2. Pschyrembel W. Pschyrembel Klinisches Wörterbuch. [mit 280 Tabellen]. 259., neu bearb. Aufl. Berlin: de Gruyter; 2002.
3. Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Abramson SB. Osteoarthritis, an inflammatory disease: potential implication for the selection of new therapeutic targets. *Arthritis Rheum.* 2001;44(6):1237-47.
4. Oehler S, Neureiter D, Meyer-Scholten C, Aigner T. Subtyping of osteoarthritic synoviopathy. *Clin Exp Rheumatol.* 2002;20(5):633-40.
5. Loeuille D, Chary-Valckenaere I, Champigneulle J, Rat AC, Toussaint F, Pinzano-Watrin A, Goebel JC, Mainard D, Blum A, Pourel J, Netter P, Gillet P. Macroscopic and microscopic features of synovial membrane inflammation in the osteoarthritic knee. *Arthritis Rheum.* 2005;52(11):3492-501.
6. Schiebler TH, Arnold G. Anatomie: Zytologie, Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie des Menschen ; mit 119 Tabellen. 8., vollst. überarb. und aktualisierte Aufl. Berlin: Springer; 2003.
7. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Histologie: mit 14 Tabellen. 5., neu übers., überarb. und aktualisierte Aufl. Berlin: Springer; 2002.
8. Pasquali-Ronchetti I, Frizziero L, Guerra D, Baccarani-Contri M, Focherini MC, Georgountzos A, Vincenzi D, Cicchetti F, Perbellini A, Govoni E. Aging of the human synovium: an *in vivo* and *ex vivo* morphological study. *Semin Arthritis Rheum.* 1992;21(6):400-14.
9. O'Connell JX. Pathology of the synovium. *Am J Clin Pathol.* 2000;114(5):773-84.
10. Dijkgraaf LC, de Bont LG, Boering G, Liem RS. Structure of the normal synovial membrane of the temporomandibular joint: a review of the literature. *J Oral Maxillofac Surg.* 1996;54(3):332-8.
11. Henderson B, Pettipher ER. The synovial lining cell: biology and pathobiology. *Semin Arthritis Rheum.* 1985;15(1):1-32.
12. Edwards JC, Willoughby DA. Demonstration of bone marrow derived cells in synovial lining by means of giant intracellular granules as genetic markers. *Ann Rheum Dis.* 1982;41(2):177-82.

13. Dijkgraaf LC, de Bont LG, Boering G, Liem RS. Function, biochemistry, and metabolism of the normal synovial membrane of the temporomandibular joint: a review of the literature. *J Oral Maxillofac Surg.* 1996;54(1):95-100.
14. van Lent PL, Blom AB, van der Kraan P, Holthuysen AE, Vitters E, van Rooijen N, Smeets RL, Nabbe KCAM, van den Berg WB. Crucial role of the synovial lining macrophages in the promotion of transforming growth factor beta-mediated osteophyte formation. *Arthritis Rheum.* 2004;50(1):103-11.
15. Levick JR. Determinants of volume turnover and material concentration. In: Kuettner KE, Hrsg. *Articular cartilage and osteoarthritis.* New York: Raven Press; 1992: 529-541.
16. Sah RL, Grodzinsky AJ, Plaas AH, Sandy JD. Effects of static and dynamic compression on matrix metabolism in cartilage explants. In: Kuettner KE. Hrsg. *Articular cartilage and osteoarthritis.* New York: Raven Press; 1992: 373-392.
17. Levick JR, McDonald JN. Fluid movement across synovium in healthy joints: role of synovial fluid macromolecules. *Ann Rheum Dis.* 1995;54(5):417-23.
18. Sabaratnam S, Mason RM, Levick JR. Hyaluronan molecular reflection by synovial lining is concentration dependent and reduced in dilute effusions in a rabbit model. *Arthritis Rheum.* 2006;54(5):1673-81.
19. Ostergaard M, Stoltenberg M, Lovgreen-Nielsen P, Volck B, Jensen CH, Lorenzen I. Magnetic resonance imaging-determined synovial membrane and joint effusion volumes in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: comparison with the macroscopic and microscopic appearance of the synovium. *Arthritis Rheum.* 1997;40(10):1856-67.
20. Grassi W, Cervini C. Ultrasonography in rheumatology: an evolving technique. *Ann Rheum Dis.* 1998;57(5):268-71.
21. Grassi W, Filippucci E, Farina A. Ultrasonography in osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum.* 2005;34(6 Suppl 2):19-23.
22. Kane D, Balint PV, Sturrock R, Grassi W. Musculoskeletal ultrasound - a state of the art review in rheumatology. Part 1: Current controversies and issues in the development of musculoskeletal ultrasound in rheumatology. *Rheumatology (Oxford).* 2004;43(7):823-8.
23. Möller I, Bong D, Naredo E, Filippucci E, Carrasco I, Moragues C, Iagnocco A. Ultrasound in the study and monitoring of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2008;16 Suppl 3:S4-7.
24. D'Agostino MA, Conaghan P, Le Bars M, Baron G, Grassi W, Martin-Mola E,



- Wakefield R, Brasseur JL, So A, Backhaus M, Malaise M, Burmester G, Schmidely N, Ravaud P, Dougados M, Emery P. EULAR report on the use of ultrasonography in painful knee osteoarthritis. Part 1: prevalence of inflammation in osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(12):1703-9.
25. Kristoffersen H, Torp-Pedersen S, Terslev L, Qvistgaard E, Holm CC, Ellegaard K, Bliddal H. Indications of inflammation visualized by ultrasound in osteoarthritis of the knee. *Acta Radiol*. 2006;47(3):281-6.
  26. Lee SH, Suh JS, Shin MJ, Kim SM, Kim N, Suh SH. Quantitative assessment of synovial vascularity using contrast-enhanced power Doppler ultrasonography: correlation with histologic findings and mr imaging findings in arthritic rabbit knee model. *Korean J Radiol*. 2008;9(1):45-53.
  27. Walther M, Harms H, Krenn V, Radke S, Kirschner S, Gohlke F. Synovial tissue of the hip at power Doppler US: correlation between vascularity and power Doppler US signal. *Radiology*. 2002 Oct;225(1):225-31.
  28. Garstang SV, Stitik TP. Osteoarthritis: epidemiology, risk factors, and pathophysiology. *Am J Phys Med Rehabil*. 2006;85(11 Suppl):S2-11.
  29. Arnoldi CC, Reimann I, Bretlau P. The synovial membrane in human coxarthrosis: light and electron microscopic studies. *Clin Orthop Relat Res*. 1980;(148):213-20.
  30. Dijkgraaf LC, Liem RS, de Bont LG. Synovial membrane involvement in osteoarthritic temporomandibular joints. A light microscopic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1997;83(3):373-86.
  31. Haraoui B, Pelletier JP, Cloutier JM, Faure MP, Martel-Pelletier J. Synovial membrane histology and immunopathology in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *In vivo* effects of antirheumatic drugs. *Arthritis Rheum*. 1991;34(2):153-63.
  32. Ayral X, Pickering EH, Woodworth TG, Mackillop N, Dougados M. Synovitis: a potential predictive factor of structural progression of medial tibiofemoral knee osteoarthritis e results of a 1 year. *Osteoarthritis Cartilage*. 2005;13(5):361-7.
  33. Myers SL, Brandt KD, Ehlich JW, Braunstein EM, Shelbourne KD, Heck DA, Kalasinski LA. Synovial inflammation in patients with early osteoarthritis of the knee. *J Rheumatol*. 1990;17(12):1662-9.
  34. Hill CL, Hunter DJ, Niu J, Clancy M, Guermazi A, Genenat H, Gale D, Grainger A, Conaghan PG, Felson DT. Synovitis detected on magnetic resonance imaging and ist relation to pain and cartilage loss in knee osteoarthritis. *Ann*

- Rheum Dis. 2007;66(12):1599-603.
35. Benito MJ, Veale DJ, FitzGerald O, van den Berg WB, Bresnihan B. Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2005;64(9):1263-7.
  36. Beutler A, Rothfuss S, Clayburne G, Sieck M, Schumacher HR Jr. Calcium pyrophosphate dihydrate crystal deposition in synovium: relationship to collagen fibers and Chondrometaplasia. *Arthritis Rheum.* 1993;36(5):704-15.
  37. Goldring SR, Goldring MB. The role of cytokines in cartilage matrix degeneration in osteoarthritis. *Clin Orthop Relat Res.* 2004;(427 Suppl):S27-36.
  38. van der Kraan PM, van den Berg WB. Anabolic and destructive mediators in osteoarthritis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2000;3(3):205-11.
  39. Dingle JT. Catabolin- a cartilage catabolic factor from synovium. *Clin Orthop Relat Res.* 1981;(156):219-31.
  40. Saklatvala J, Pilsworth LM, Sarsfield SJ, Gavrilovic J, Heath JK. Pig catabolin is a form of interleukin 1. Cartilage and bone resorb, fibroblasts make prostaglandin and collagenase, and thymocyte proliferation is augmented in response to one protein. *Biochem J.* 1984;224(2):461-6.
  41. Bondeson J, Wainwright SD, Launder S, Amos N, Hughes CE. The role of synovial macrophages and macrophage-produced cytokines in driving aggrecanases, matrix metalloproteinases, and other destructive and inflammatory responses in osteoarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2006;8(6): R187.
  42. Blom AB, van Lent PL, Libregts S, Holthuysen AE, van der Kraan PM, van Rooijen N, van den Berg WB. Crucial role of macrophages in matrix metalloproteinase-mediated cartilage destruction during experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2007;56(1):147-57.
  43. van Beuningen HM, Glansbeek HL, van der Kraan PM, van den Berg WB. Differential effects of local application of BMP-2 or TGF-beta1 on both articular cartilage composition and osteophyte formation. *Osteoarthritis Cartilage.* 1998;6(5):306-17.
  44. Scharstuhl A, Vitters EL, van der Kraan PM, van den Berg WB. Reduction of osteophyte formation and synovial thickening by adenoviral overexpression of transforming growth factor  $\beta$ /bone morphogenetic protein inhibitors during experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2003;48(12):3442-51.
  45. Blom AB, van Lent PL, Holthuysen AE, van der Kraan PM, Roth J, van Rooijen

- N, van den Berg WB. Synovial lining macrophages mediate osteophyte formation during experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2004;12(8):627-35.
46. Bonnet CS, Walsh DA. Osteoarthritis, angiogenesis and inflammation. *Rheumatology (Oxford)*. 2005;44(1):7-16.
  47. Honorati MC, Neri S, Cattini L, Facchini A. Interleukin-17, a regulator of angiogenetic factor release by synovial fibroblasts. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006;14(4):345-52.
  48. Shukunami C, Hiraki Y. Chondromodulin-I and tenomodulin: The negative control of angiogenesis in connective tissue. *Curr Pharm Des*. 2007;13(20):2101-12.
  49. Kurth T, Hedbom E, Shintani N, Sugimoto M, Chen FH, Haspl M, Martinovic S, Hunziker EB. Chondrogenic potential of human synovial mesenchymal stem cells in alginate. *Osteoarthritis Cartilage*. 2007;15(10):1178-89.
  50. Akiyama H. Control of chondrogenesis by the transcription factor Sox9. *Mod Rheumatol*. 2008;18(3):213-9.
  51. Yamane S, Reddi AH. Induction of chondrogenesis and superficial zone protein accumulation in synovial side population cells by BMP-7 and TGF-beta 1. *J Orthop Res*. 2008;26(4):485-92.
  52. Sakao K, Takahashi KA, Arai Y, Inoue A, Tonomura H, Saito M, Yamamoto T, Kanamura N, Imanishi J, Mazda O, Kubo T. Induction of chondrogenic phenotype in synovium-derived progenitor cells by intermittent hydrostatic pressure. *Osteoarthritis Cartilage*. 2008;16(7):805-14.

## **VIII Danksagung**

Mein Dank geht an meinen Doktorvater für die Überlassung des ansprechenden Themas und die gute Betreuung.

Ebenso an meine Betreuerin, die mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand.

Auch beim gesamten Team des ZRP Mainz möchte ich mich für die angenehme Atmosphäre und kleine Hilfen und Aufmunterungen bedanken.

Last but not least möchte ich an dieser Stelle meiner Frau danken, die mich die ganze Zeit liebevoll unterstützt hat und dafür verantwortlich ist, dass ich diese Arbeit noch nach Abschluss des Studiums begonnen habe.