

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material

Als Untersuchungsmaterial standen 251 Dissekate aus 95 Gelenken zur Verfügung. Dabei handelte es sich um Dissekate von 63 Warmblutpferden, 26 Trabern, 4 Vollblutpferden sowie 2 Pferden anderer Rassen, die an der Klinik für Pferde der Freien Universität vorgestellt wurden und bei denen arthroskopisch ein oder mehrere Dissekate aus dem Fessel- oder Sprunggelenk entfernt wurden, ein Teil der Dissekate wurde bei Sektionen entnommen. Drei Dissekate stammen von Pferden, die vor 1997 in der Klinik für Pferde untersucht wurden, die Vorberichte dieser Pferde waren nicht vollständig zu ermitteln.

Von 40 Gelenken wurde zu Beginn der Operation 5 ml Synovia entnommen und im klinikeigenen Labor untersucht.

Das Fein-Fokus-Gerät Microfox G10 der Firma Feinfocus in Garbsen (30827 Garbsen, Deutschland) ist ein stationäres Diagnostik-System. Es handelt sich hierbei um ein hochauflösendes, geometrisch direktvergrößerndes Diagnostik-System (DIMA-Verfahren, Direct Magnification), bei dem die Direktvergrößerung durch eine Vergrößerung des Objekt-Film-Abstandes erreicht wird.

Die in der klinischen Diagnostik bei der DIMA-Technik verwendete kleinste Fokusgröße liegt bei 20 Mikrometern (0,02 mm reeller Brennfleck). Auf diese Weise wird die direkte röntgenologische Objektvergrößerung möglich, ohne dass es dabei zu qualitativen Einbußen bei der Darstellung der Präparate kommt, da der extrem kleine Brennfleck die Bildung geometrischer Randunschärfen verhindert.

Als Filmmaterial dienten Microvision C Mammography Filme der Firma Sterling Diagnostic Imaging GmbH (Bad Homburg, Deutschland), des Formates 18 x 32 cm, die Entwicklung aller Röntgenaufnahmen erfolgte maschinell durch einen XP515 Entwickler der Firma 3M, Medizinische Produkte (Neuss, Deutschland).

3.2. Methode

Die exstirpierten Dissekate wurden in 5 %iger Formalinlösung fixiert und dann morphologisch sowie mit der Fein-Fokus Röntgenuntersuchung untersucht.

Mit dem Microfox G10 sind Vergrößerungen bis zum 9fachen möglich. Der Vergrößerungsfaktor wird folgendermaßen errechnet (BÜCHNER 1967):

$$\text{Vergrößerungsfaktor } V = \frac{\text{Fokus - Film - Abstand}}{\text{Fokus - Objekt - Abstand}}$$

Der Mindestabstand des Objektes zum Fokus von 20 cm ist bei dem Microfox G10 durch die Röhrenverkleidung des Tubus festgelegt. Bei den vorliegenden Aufnahmen betrug der Fokus-Film-Abstand 120 cm, woraus sich eine 6fache Vergrößerung ergibt ($120 \text{ cm} / 20 \text{ cm} = 6$).

Mit dieser Vergrößerung konnten die verschiedenen Strukturen der Dissekate dargestellt werden. Von einer stärkeren Vergrößerung wurde abgesehen, da bei längeren Belichtungszeiten eine Überhitzung der Anode drohte. Zusätzliche Befunde wurden durch die Arthroskopie sowie die Analyse einiger Synovialproben erhoben.

Es wurde ein Beurteilungsstandard entwickelt, nach dem alle Dissekate beurteilt wurden. Der Beurteilungsbogen ist im Anhang abgebildet. Den erhobenen Parametern wurde jeweils ein Dissekat zugeordnet, welcher als typisch für diesen Befund betrachtet wurde.

3.2.1. Morphologische Beurteilung

Als erstes erfolgt eine quantitative Bestimmung der Dissekate, da aus zahlreichen Gelenken mehrere Dissekate entnommen wurden. Als Doppelchip wurde dabei ein Dissekat bezeichnet, welches sich unter der einheitlichen Knorpeloberfläche deutlich zweigeteilt darstellte. Ein solcher Doppelchip wurde als ein Dissekat gezählt.

Die Dissekate wurden zunächst mit einer Schieblehre der Firma Mitutoyo Messgeräte GmbH, Berlin, vermessen. Als Länge wurde dabei die maximale Ausdehnung definiert, die Breite ergab sich aus der Vermessung der Abrisskante, hier wurde von Knorpel zu Knorpel gemessen. Die Höhe bzw. Dicke des Dissekates ergab sich aus dem Maß von der Abrissfläche zum dicksten Punkt des Dissekats.

Die Ermittlung des Gewichtes erfolgte mit einer Mettler P1200 Präzisionswaage.

Bei der Bewertung der Oberfläche sowie der Abrisskante wurde zwischen Knorpel, Knochen und Bindegewebe unterschieden, die Flächen wurden auf Glätte, Unebenheit oder Faserigkeit untersucht.

3.2.2. Fein-Fokus-Röntgenuntersuchung

Alle Dissekte wurden mit dem Microfox G10 der Firma Fein-Focus (Garbsen, Deutschland) röntgenologisch untersucht.

Die Dissekte wurden auf der Abrisskante gelagert, d.h. die Abrisskante zeigte Richtung Röntgenröhre. Bei kleineren Dissekten ergaben sich hierbei Schwierigkeiten und sie mussten auf ihrer größten Fläche gelagert werden.

Die Aufnahmen wurden mit einer Röhrenspannung von 40 kV und, je nach Stärke des Objektes, einer Strahlenmenge von 6 bis 20 mAs angefertigt. Das Microfox G10 erlaubt keine Auswahl unter den verschiedenen Stromstärken (mA), die Strahlenmenge kann nur über das Produkt von Stromstärke und Belichtungszeit (mAs) ausgewählt werden. Einige stark sklerosierte Dissekte bedurften höherer Spannungswerte (bis zu 50 kV/10mAs), um alle Strukturen deutlich darzustellen. Ein Brennpunkt von 30 μm lieferte ein scharfes Schattenbild des Dissekats, führte aber zu verlängerten Belichtungszeiten. Die sich aus diesen Aufnahmewerten ergebenden langen Belichtungszeiten von über 7 Sekunden, stellten insofern kein Problem dar, da sich die Bedienungseinheit des Microfox G10 im Nachbarraum befindet.

Bedingt durch die geringe Größe der Dissekte zeichnete sich bei regulärer Verwendung des Fein-Fokus-Gerätes die Messkammer für die Belichtungsautomatik im Filmkassettenhalter mit ab. Daher wurden die Röntgenfilme nicht in den dafür vorgesehenen Filmkassettenhalter geschoben, sondern auf diesem gelagert. Dazu musste der Schwenkarm so gedreht werden, dass sich die Kassettenhalterung unten, die Röntgenröhre oben befand. Die Dissekte wurden mit feiner Klebefolie (Scotch Magic 810 der Firma TM) auf der Abdeckung der DIMA-Röhre fixiert.

Die Schattenbilder der Dissekte wurden zunächst auf ihre Struktur hin untersucht. Es wurde unterschieden zwischen spongiösen und sklerosierten Dissekten, strukturlosen Verkalkungen und Weichteilschatten.

Bei spongiösen Dissekten wurde eine gleichmäßige von einer ungleichmäßigen Verteilung der Spongiosa über die gesamte Fläche unterschieden. Die Spongiosa wurde unterteilt in ungerichtete/blasige oder gerichtete Spongiosabalken. Schon ein geringer gerichteter Spongiosanteil führte zu der Einteilung gerichtet. Auch wurde eine verwachsene von einer scharfen Strukturierung der Spongiosa abgegrenzt.

Es erfolgte weiterhin eine Unterteilung der Spongiosa in feine, mittlere oder grobe Spongiosatypen (s. Abb. 12). Diese Unterteilung sollte nachher mit den Messdaten des Kontron KS400 verglichen werden.

Sklerosierte Dissekte wurde auf Porosierung und Kanalisierung untersucht. Der Anteil der Sklerosierung wurde mit einem Computeranalyseprogramm, dem Kontron KS 400 der Firma Kontron Elektronik GmbH (Eichingen, Deutschland), vermessen.

Der Weichteilschatten der Dissekte wurde auf Regelmäßigkeit untersucht, zeichnete sich kein Weichteilschatten ab, so wurde dieser als unregelmäßig eingestuft.

Zum genauen Vermessen der einzelnen Strukturen, die auf den Röntgenaufnahmen sichtbar sind, wurden die Aufnahmen zunächst mit einem Adobe Photoshop 4.0-Programm in einen Computer eingescannt. Die Scanparameter waren dabei immer einheitlich (Scanparameter: Durchlicht, Graustufen, Bildauflösung: 600 dpi, 100 %, ohne Filter, ohne Entrastern. Wert der Lichter: 255; Wert der Tiefen: 1; Wert der Mittelhöhen: 1,60). Der Scanner Mirage D-16 L, Type No: H410 der Firma UMAX Data Systems Inc. (Taiwan, R.O.C.) ist auch für die Einspeisung von Röntgenbildern geeignet. Die Daten wurden auf beschreibbare Compactdiscs (Firma BESTMEDIA GmbH & Co. KG, Holdorf, Deutschland) gesichert.

Mit dem o.g. Computeranalyseprogramm wurden die unterschiedlichen Strukturen vermessen. Zunächst erfolgte eine Kalibrierung, dann die Erstellung eines Vermessungsprogramms, so dass das Computerprogramm dann Flächen, maximale und minimale Ausdehnung der umfahrenen Schattenbilder sowie vermessene Strecken in reellen Größen berechnen konnte.

Folgende Parameter fanden bei der Kontron-Vermessung Beachtung:

Länge und Breite und Fläche des Weichteilschattens, verkalkte Fläche, sklerosierte Fläche, maximale Weichteildicke, maximale Dicke des verkalkten Knorpels, Länge der verkalkten Knorpelschicht, Umfang der gesamten Knochenfläche, Länge der glatten/regelmäßigen Kontur, Stärke der Spongiosabalken, Größe der Spongiosahohlräume. Dabei wurden jeweils drei kennzeichnende Spongiosabalken sowie Spongiosahohlräume vermessen.

3.2.3. Arthroskopie

Die Befunde der Arthroskopie wurden aus den Krankenakten ermittelt. Es wurden die Lokalisation des Dissekat, und die Beschaffenheit der Gelenkhöhle ermittelt. Von 40 Gelenken wurden die Ergebnisse der Synovialbefunde mit in die Untersuchung aufgenommen.

Die Lokalisation des Dissekat wurde anhand der Arthroskopie- und Röntgenbefunde eruiert. Für das Fesselgelenk wurden folgende vier Fundorte unterschieden (Abb. 1): dorsaler Rezessus/Sagittalkamm, dorsale Fesselbeinkante, Gleichbeinbasis und Gleichbein Spitze. Soweit ermittelbar, erfolgte eine Einteilung in medial oder lateral. Für das Sprunggelenk ergaben sich anhand der Arthroskopie- und Röntgenbefunde ebenfalls vier Zuordnungen: kraniale Kante des Sagittalkammes der Cochlea tibiae (Processus coronoideus), medialer Malleolus der Tibia, lateraler Talusrollkamm und distale Ausbuchtung des Sprunggelenkes.

Die Beurteilung der Synovialiszotten ergab, wenn sie nicht physiologisch waren, eine Einteilung in hypertroph, hyperämisch und/oder schwartig.

Beachtung fanden auch die beschriebenen Läsionen, die eine Zuweisung zu Schliffrinnen, flächigen Knorpelschäden und Knochenglatzen erlaubte. Die Dissekat waren frei in der Gelenkhöhle beweglich oder der Gelenkfläche bzw. der Gelenkkapsel anhaftend. Waren keine Befunde in der Krankenakte vermerkt, so wurden die Synovialiszotten als physiologisch eingestuft, keine Läsionen vermerkt und das Dissekat als an der Gelenkfläche anhaftend eingeordnet.

Die bei 40 Pferden untersuchte Synovialflüssigkeit wurde zu Beginn der Operation aus dem zu arthroskopierenden Gelenk entnommen und in ein 5 ml-EDTA-Probenröhrchen

gefüllt. Diese Proben wurden im klinikeigenen Labor auf Zellzahl, pH und Eiweißgehalt untersucht.

Die Zellzahl der Synovia wurde dabei durch einen Counter T840 der Firma Coulter-Elektronik ermittelt, der pH-Wert durch das Blutgasanalysegerät AVL995 der Firma AVL-Medizintechnik GmbH, Bad Homburg. Mit einem Refraktometer, dem HRM-18 der Firma Krüss, Werkstätten für Optik, Feinmechanik und Elektronik GmbH, Hamburg, wurde der Eiweißgehalt in g/dl ermittelt.

3.2.4. Orientierende histologische Untersuchung

Zur Abklärung der verschiedenen Schattendichten auf den Fein-Fokus-Aufnahmen, wurden einige ausgewählte Dissekatate zur histologischen Untersuchung in das Institut für Veterinär-Pathologie gegeben, um die Strukturen der Röntgenshatten im Fein-Fokus-Bild zu verifizieren, vor allem werden die Darstellbarkeit des verkalkten Knorpels, also der Knochengrenzlamelle sowie die sklerosierten Flächen mit Porosierung und Kanalzeichnung bestätigt.

Es wurde je ein spongiöses, ein sklerosiertes Dissekat und ein Dissekat, welches im Fein-Fokus-Bild nur einen strukturlosen Verkalkungsschatten zeigte, zur histologischen Untersuchung gegeben.

Die in 5 %igem Formalin fixierten Dissekatate wurden zunächst elektrolytisch entkalkt und dann routinemäßig in Paraffin eingebettet. Die danach angefertigten histologischen Schnitte in einer Dicke von 10 µm wurden einer Hämatoxylin-Eosin-Färbung unterzogen.

3.3. Durchführung der Auswertung

Die erhobenen Befunde wurden entsprechend dem Befundbogen (siehe Anhang) aufgeschlüsselt und nach laufender Nummer in eine Computerdatenbank eingegeben. Mit Hilfe eines Tabellenkalkulations- sowie eines Statistikprogramms wurden die eingespeicherten Daten ausgewertet. Dadurch war es möglich, die Häufigkeit der einzelnen Befunde und ihre Beziehung zueinander abzurufen.

Bei der Auswertung der angefertigten Röntgenaufnahmen und aller anderen erhobenen Befunde ergaben sich verschiedene Blickwinkel.

Die angegebenen Prozentzahlen bestimmter Befunde beziehen sich entweder auf die Zahl der Gelenke oder auf die Zahl der Dissekatate mit beschriebener Struktur.