

# Die Wirksamkeit von Zeel und neue Forschungsmethoden in der Rheumatologie<sup>\*</sup>

Alessandro Orlandini, Mauro Rossi, Massimo Setti (Koordinator: G. Cantaluppi)

**Schlüsselwörter:** Interferenzphasenkontrast-Polarisationsmikroskopie, Röntgenbeugung, Gelenkknorpel, Proteolyse, Zeel

**Keywords:** Interference polarisation microscopy, X-ray diffractometry, articular cartilage, proteolysis, Zeel

## Zusammenfassung

Mittels Interferenzphasenkontrast-Polarisationsmikroskopie und Röntgenbeugungsanalyse läßt sich nach 6tägiger Inkubation von Rindergelenkknorpel in einem hydrolytischen und proteolytischen Medium zeigen, daß unter Zusatz von Zeel gegenüber den Kontrollen ein deutlich chondroprotektiver Effekt auftritt.

<sup>\*</sup> Für die Ergebnisse dieser Arbeit erhielten die Autoren den Dr.-Hans-Heinrich-Reckeweg-Preis 1996

Kurzfassung der Originalarbeit: L'efficacia di Zeel verificata da nuovi modelli di indagine in vitro. *La Medicina Biologica* 1996;14(3):26-35 Die Kurzfassung erfolgte durch Prof. Dr. Hartmut Heine, Anatomisches und Klinisch-Morphologisches Institut der Universität Witten/Herdecke

## Summary

The structure of cattle articular cartilage was analyzed by interference polarisation microscopy and X-ray diffractometry. When incubated for at least six days in a hydrolytic and proteolytic medium the cartilage slices revealed a remarkable better preservation of structure compared with controls if the complex homeopathic remedy Zeel was added to the incubation medium.

## Einleitung

Ziel dieser Arbeit war es – in vitro, in einer Verlaufsuntersuchung über 6 Tage –, zu untersuchen, ob bei hydrolytischem und proteolytischem Angriff auf Gelenkknorpel durch Zusatz von Zeel zum Inkubationsmedium ein chondroprotektiver Effekt nachweisbar wäre. Die Auswertung erfolgte polarisationsoptisch und mittels Röntgenbeugung. Diese Techniken sind besonders geeignet, die wesentlichen Grundsubstanzbestandteile des Knorpels, nämlich

Proteoglykane, Hyaluronsäure und Kollagenfasern in ihrer typischen funktionellen Verknüpfung zu erfassen.

## Material und Methode

Proben von normalem frischen Rindergelenkknorpel wurden in zwei Ansätzen (A und B) untersucht: Knorpelproben A wurden jeweils in eine phosphatgepufferte wäßrige Lösung (5 ml; pH 6,5; 38 °C) unter Zusatz von Hyaluronidase und Kollagenase (jeweils 0,005%) eingebracht. Knorpelproben B kamen in die doppelt konzentrierte Lösung A unter Zusatz von jeweils 5 ml Zeel. Die Inkubationszeit betrug maximal 6 Tage. In jedem Ansatz wurden 6 Proben à 50 mg untersucht.

## Ergebnisse

Im Unterschied zu den Kontrollen (Abb. 1) wiesen die Proben der Gruppe A bereits nach 48 Stunden weitgehende Destruktionserscheinungen auf (Abb. 2). Im gleichen Zeitraum zeigen die Proben der Gruppe B einen erheblich

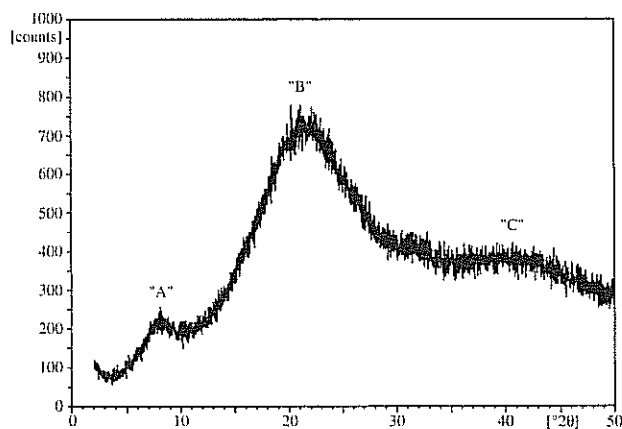


Abb. 1: Röntgenbeugungsdiagramm der Kontrolle. Die Peaks A und B kennzeichnen den Strukturhalt des Knorpels. Peak C ist ein Rückkopplungseffekt von A und B. Bei Strukturstörungen verschwinden daher diese Peaks zuerst.

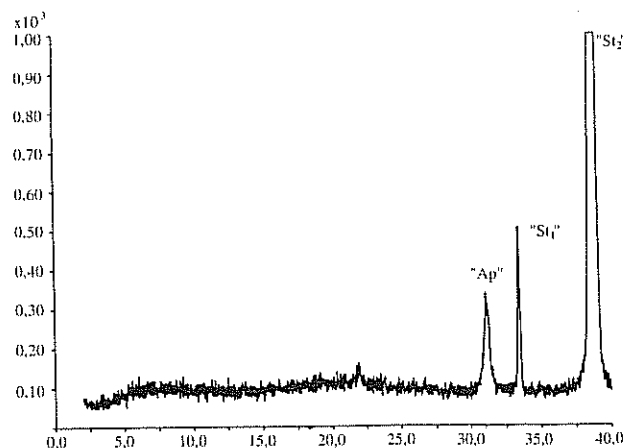


Abb. 2: Röntgenbeugungsdiagramm von hydrolytisch und proteolytisch angegriffenem Knorpel der Gruppe A nach 48 Stunden. Die Grafik ist im Unterschied zu Abbildung 1 völlig abgeflacht. Peak Ap stellt eine durch Phosphationen der Inkubationslösung bedingten Mineralisationsbereich dar. St 1 und St 2 sind standardbedingte Peaks.

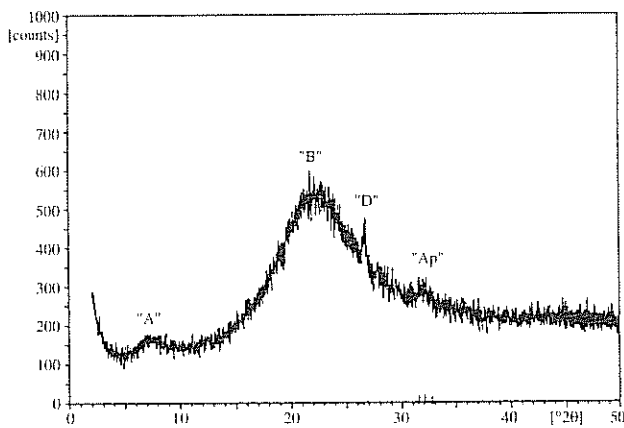


Abb. 3: Röntgenbeugungsdiagramm einer Knorpelprobe der Gruppe B, 48 Stunden nach hydrolytischer und proteolytischer Inkubation. Unter Zusatz von Zeel ist ein hoher Strukturerhalt zu beobachten (Peak A, B). Peak D: Neubildung von Knorpelsubstanz.

besseren Erhalt (Abb. 3). Gegenüber den Kontrollen sind im Röntgenbeugungsmuster die Peaks A und B reduziert. Peak C tritt nicht auf.

Die Peaks A und B markieren reguläre Struktur- und Grundsubstanzverhältnisse trajektorieell ausgerichteter Kollagenfasern, eingebettet in eine Kollagen-Proteoglykan-Hyaluronsäurematrix. Während die Knorpelproben A nach 48 Stunden weitgehend zerstört sind, sind in Gruppe B mit den angegebenen Techniken nach 6 Tagen lediglich vereinzelte Arrosionsgebiete zwischen intakten Knorpelbereichen zu beobachten (Abb. 4).

Der nach 2 Tagen auftretende zusätzliche Peak Ap in den Proben B (Abb. 3) ist auf Mineralisationsphänomene (Apatit) zurückzuführen – verursacht durch den Phosphatpuffer. Der ebenfalls in Gruppe B nach 48 Stunden Inkubation neu auftretende Peak D ist als Neubildung von Knorpelsubstanz zu deuten (Abb. 3).

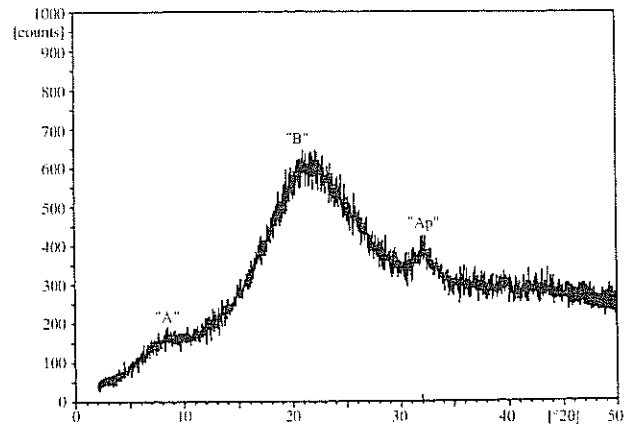


Abb. 4: Röntgenbeugungsdiagramm einer Knorpelprobe der Gruppe B nach 6 Tagen hydrolytischer und proteolytischer Inkubation. Der Strukturerhalt hat abgenommen, ist aber erheblich besser als in Abbildung 2. Peak A hat ab-, Peak B zugenommen. Peak C ist nicht erkennbar. Peak Ap deutet auf einen phosphatbedingten Mineralisationsherd (vgl. Abb. 2) hin.

### Schlussfolgerungen

Interferenzphasenkontrast-polarisationsoptisch und mittels Röntgenbeugung läßt sich an Knorpelproben nach 6tägiger hydrolytischer und proteolytischer Belastung unter Zusatz von Zeel zum Inkubationsmedium ein einwandfrei chondroprotektiver Effekt nachweisen. Der Zusatz von Zeel regt bereits nach 48 Stunden Inkubationszeit Strukturverbesserungen im Knorpelgewebe an. Die In-vitro-Ergebnisse bestätigen klinische Befunde, wonach Zeel einen deutlichen Schutz auf Gelenkknorpel ausübt.

### Literatur

(1) Woo SL, Mow VC, Lai VM. Biomechanical properties of articular cartilage. In: Handbook of Bioengineering. Skalak (ed.) New York: Mc Graw-Hill 1987:1-44

(2) Muir H. Proteoglycans as organizers of the intercellular matrix. *Biochem Soc Trans* 1983;11:613-22

(3) Benninghoff A. Form und Bau der Gelenkknorpel in ihren Beziehungen zur Funktion. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 1925; 2:783-862

(4) Schenk R, Eggli PS, Hunziker EB. Articular cartilage morphology. In: *Articular Cartilage Biochemistry*. Kuettner (ed.) New York: Raven Press 1986:3-22

(5) Stockwell R. Chondrocytes. *J Clin Pathol* 1987;12(suppl.):7-13

(6) Barret AJ. The enzymic degradation of cartilage matrix. In: *Dynamic of connective tissue macromolecules*. Burleigh (ed.) New York: American Elsevier 1975:189ff.

Anschrift für die Verfasser:

Dr. Alessandro Orlandini  
Laboratori GUNA s.r.l.  
via Palmanova 71  
I-20132 Milano  
Italien