

### **3. Eigene Untersuchungen**

In den eigenen Untersuchungen sollte die Myeloperoxidase-Aktivität in der Synovia und im Serum bei OA gemessen werden. Geklärt werden sollte, ob eine Korrelation zwischen Synovia- und Serum-MPO-Spiegeln besteht, ob die MPO als Biomarker in der Diagnostik einsetzbar ist, ob Synovialparameter die MPO-Aktivität in der Synovia mitbeeinflussen und ob Zusammenhänge zwischen röntgenologischen, operativen Befunden, klinischem Erscheinungsbild und MPO-Aktivitäten im Serum und in der Synovia OA-erkrankter Tiere bestehen.

#### **3.1 Material und Methoden**

In dieser Studie wurden Synovia- und Serumproben von 137 an OA erkrankten Hunden gewonnen und ausgewertet, die in den Jahren 2000 bis 2001 in der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der FU Berlin chirurgisch an einem Gelenkleiden versorgt wurden. Tiere, die mit steroidal- bzw. nichtsteroidal-antiphlogistika vorbehandelt waren, gingen nicht in die Untersuchung ein.

Die Probengewinnung der Synovia erfolgte intra operationem vor Inzision der Gelenkkapsel durch Punktion des Gelenkes mit einer Einmalkanüle der Stärke 0,9 mm und einer 5 ml Einmalspritze. Das Serum wurde unmittelbar vor der Sedation des Patienten unter sterilen Bedingungen abgenommen.

Als Kontrollgruppe wurde Synovia und Serum von 11 Hunden analysiert, denen ebenfalls Serum vor der Sedation und Synovia in Narkose entnommen wurden. Diese Tiere wurden aus anderen Gründen danach getötet (Tabelle 10). Klinisch und röntgenologisch durften keine Hinweise auf eine orthopädische Funktionsstörung, insbesondere keine Gelenkerkrankung bestehen.

### 3.1.1 Patientengut

Bei den 137 Patienten der Studie wurden aus 12 Schulter-, 40 Ellenbogen-, 49 Knie- und 13 Hüftgelenken Synoviaprobe gewonnen. Die Patienten wurden entsprechend der Diagnose gruppiert: OCD Schultergelenk, OCD Ellenbogengelenk, FPC, IPA, KBR (Lahmheitsdauer < 5 Tage), KBR (> 5 Tage), Patellaluxation, HD und Kontrollgruppe (Tabelle 2 – 10).

Bei den Kontrolltieren (n = 11) wurden 3 Schulter-, 4 Ellenbogen-, 1 Carpal- und 3 Kniegelenke punktiert.

In den Tabellen 2 – 10 sind die Patientengruppen und die Kontrolltiere aufgeführt. Es bedeutet: m = männlich, mk = männlich-kastriert, w = weiblich, wk = weiblich-kastriert, li = links und re = rechts.

**Tabelle 2:** Rasse, Alter, Geschlecht, Gewicht der Patienten mit rechts- oder linksseitiger OCD im Schultergelenk (n = 12)

Rasse	Alter/Monaten	Geschlecht	Gewicht/kg	Seite
BSH <sup>1</sup>	6	m	32	li
Gr. Schw. SH <sup>2</sup>	8	m	36	li
Mischlingshund	115	w	47	re
Dt. Dogge <sup>3</sup>	9	m	59	re
Gr. Schw. SH <sup>2</sup>	9	m	48	li
R. Ridgeback <sup>4</sup>	83	m	32	re
DSH <sup>5</sup>	29	mk	39	re
Gordon Setter	8	m	29	re
Hovawart	26	w	35	li
Gordon Setter	143	m	32	re
R. Ridgeback <sup>4</sup>	10	m	32	re
Hovawart	6	m	30	li

1 Berner Sennenhund

5 Deutscher Schäferhund

2 Großer Schweizer Sennenhund

3 Deutsche Dogge

4 Rhodesian Ridgeback

**Tabelle 3:** Rasse, Alter, Geschlecht, Gewicht der Patienten mit rechts- oder linksseitiger OCD im Ellenbogengelenk (n = 10)

Rasse	Alter/Monaten	Geschlecht	Gewicht/kg	Seite
Golden Retriever	10	m	30	re
Labrador Retr. <sup>1</sup>	67	m	41	li
Bordeauxdogge	8	m	31	re
Dt. Dogge <sup>2</sup>	6	m	45	re
Fox Terrier	55	m	11	li
Labrador Retr. <sup>1</sup>	87	m	31	li
Golden Retriever	5	m	23	re
Mischlingshund	7	m	30	li
R. Ridgeback <sup>3</sup>	11	m	38	li
Labrador Retr. <sup>1</sup>	19	wk	32	li

1 Labrador Retriever

3 Rhodesian Ridgeback

2 Deutsche Dogge

**Tabelle 4:** Rasse, Alter, Geschlecht, Gewicht der Patienten mit rechts- oder linksseitig fragmentiertem Processus coronoideus (n = 37)

Rasse	Alter/Monaten	Geschlecht	Gewicht/kg	Seite
Golden Retriever	32	m	35	li
Rottweiler	30	m	46	li
Staff. Terrier <sup>1</sup>	58	mk	30	re
Labrador	13	m	28	li
Golden Retriever	9	w	25	li
Rottweiler	11	w	42	re
Rottweiler	52	w	35	li
DSH <sup>2</sup>	8	m	34	re
BSH <sup>3</sup>	11	m	46	re
Staff. Terrier <sup>1</sup>	7	m	28	re

Fortsetzung **Tabelle 4:**

Mischlingshund	7	m	30	li
DSH <sup>2</sup>	86	w	30	re
Golden Retriever	6	m	29	li
DSH <sup>2</sup>	72	m	34	li
Labrador Retr. <sup>4</sup>	6	w	19	re
Labrador Retr. <sup>4</sup>	10	wk	27	re
Rottweiler	50	m	48	li
Staff. Terrier <sup>1</sup>	69	m	37	re
Staff. Terrier <sup>1</sup>	15	m	34	re
DSH <sup>2</sup>	68	m	38	re
BSH <sup>3</sup>	8	m	30	li
Rottweiler	30	w	34	li
DSH <sup>2</sup>	76	m	48	re
BSH <sup>3</sup>	7	w	25	li
Rottweiler	72	wk	34	re
DSH <sup>2</sup>	29	m	39	li
Neufundländer	8	w	35	li
Engl. Bulldogge <sup>5</sup>	8	w	20	re
Rottweiler	80	m	38	li
R. Ridgeback <sup>6</sup>	10	m	38	li
BSH <sup>3</sup>	18	m	40	re
BSH <sup>3</sup>	20	w	37	li
Am. Bulldogge <sup>7</sup>	51	m	51	li
Landseer	31	w	47	li
Rottweiler	57	wk	37	re
R. Ridgeback <sup>6</sup>	10	m	38	li
Rottweiler	30	w	34	li

1 Staffordshire Terrier

2 Deutscher Schäferhund

3 Berner Sennenhund

4 Labrador Retriever

5 Englische Bulldogge

6 Rhodesian Ridgeback

7 Amerikanische Bulldogge

**Tabelle 5:** Rasse, Alter, Geschlecht, Gewicht der Patienten mit rechts- oder linksseitig isoliertem Processus anconaeus (n = 3)

Rasse	Alter/Monaten	Geschlecht	Gewicht/kg	Seite
Riesenschnauzer	72	m	39	li
Riesenschnauzer	10	w	36	re
Gr. Schw. SH1	7	m	30	re

1 Großer Schweizer Sennenhund

**Tabelle 6:** Rasse, Alter, Geschlecht, Gewicht der Patienten mit rechts- oder linksseitiger Kreuzbandruptur, Lahmheitsdauer < 5 Tage (n = 21)

Rasse	Alter/Monaten	Geschlecht	Gewicht/kg	Seite
Rottweiler	115	m	38	re
Rottweiler	50	wk	37	re
Mischlingshund	101	mk	26	li
Staff. Terrier <sup>1</sup>	42	w	28	re
Mischlingshund	29	wk	34	re
Dt. Dogge <sup>2</sup>	62	m	58	li
BSH <sup>3</sup>	61	w	50	re
Chow Chow	56	w	28	li
Mischlingshund	18	mk	27	li
Labrador Retr. <sup>4</sup>	87	wk	35	li
Rottweiler	34	w	38	re
Rottweiler	52	mk	42	re
Chow Chow	97	m	23	re
Kl. Münsterl. <sup>5</sup>	96	w	28	li
Gold. Retriever <sup>6</sup>	18	m	31	re
Riesenschnauzer	97	w	50	re
BSH <sup>3</sup>	95	mk	37	li

Fortsetzung **Tabelle 6:**

Bullmastiff	26	w	61	re
Gold. Retriever <sup>6</sup>	32	wk	30	re
Beagle	18	m	15	li
Pudel	104	m	11	re

1 Staffordshire Terrier

2 Deutsche Dogge

3 Berner Sennenhund

4 Labrador Retriever

5 Kleiner Münsterländer

6 Golden Retriever

**Tabelle 7:** Rasse, Alter, Geschlecht, Gewicht der Patienten mit rechts- oder linksseitiger Kreuzbandruptur, Lahmheitsdauer > 5 Tage (n = 23)

<b>Rasse</b>	<b>Alter/Monaten</b>	<b>Geschlecht</b>	<b>Gewicht/kg</b>	<b>Seite</b>
Dobermann	12	m	42	re
Bullmastiff	22	mk	59	li
DSH <sup>1</sup>	41	wk	43	li
Landseer	51	w	52	li
Kaukasis. SH <sup>2</sup>	41	m	48	li
Riesenschnauzer	32	m	41	re
DSH <sup>1</sup>	44	w	33	li
Pudel	100	m	10	re
DSH <sup>1</sup>	95	wk	35	re
Rottweiler	110	mk	40	li
Lhasa Apso	93	w	21	li
DSH <sup>1</sup>	66	w	31	li
Gold. Retriever <sup>3</sup>	61	wk	32	re
West.W. Terrier <sup>5</sup>	105	m	12	re
Rottweiler	52	wk	41	li
Gold. Retriever <sup>3</sup>	43	mk	40	li
Labrador Retr. <sup>4</sup>	17	w	24	li
West. W.Terrier <sup>5</sup>	154	m	14	li
Rottweiler	94	w	43	re
DSH <sup>1</sup>	22	m	38	li
Am. Bulldogge <sup>6</sup>	51	m	45	re
Pudel	148	m	12	li
Dt. Dogge <sup>7</sup>	38	w	51	li

1 Deutscher Schäferhund

2 Kaukasischer Schäferhund

3 Golden Retriever

4 Labrador Retriever

5 West Highland White Terrier

6 Amerikanische Bulldogge

7 Deutsche Dogge

**Tabelle 8:** Rasse, Alter, Geschlecht, Gewicht der Patienten mit rechts- oder linksseitiger Patellaluxation (n = 5)

Rasse	Alter/Monaten	Geschlecht	Gewicht/kg	Seite
Mischlingshund	24	wk	8	li
Cesky Terrier	5	m	6	re
Spitz	32	wk	9	li
Terrier	11	w	12	li
Appenzeller SH <sup>1</sup>	10	m	26	re

1 Appenzeller Sennenhund

**Tabelle 9:** Rasse, Alter, Geschlecht, Gewicht der Patienten mit rechts- oder linksseitiger Hüftdysplasie (n = 13)

Rasse	Alter/Monaten	Geschlecht	Gewicht/kg	Seite
DSH <sup>1</sup>	56	m	33	re
BSH <sup>2</sup>	30	w	48	li
Riesenschnauzer	30	m	31	li
Labrador Retr. <sup>3</sup>	13	m	28	li
DSH <sup>1</sup>	34	mk	34	re
Neufundländer	50	m	51	li
Rottweiler	27	m	42	re
Labrador Retr. <sup>3</sup>	14	m	34	li
BSH <sup>2</sup>	17	w	40	li
Rottweiler	45	m	42	li
Bullmastiff	10	m	51	re
Labrador Retr. <sup>3</sup>	14	w	29	re
Neufundländer	13	m	48	li

1 Deutscher Schäferhund

3 Labrador Retriever

2 Berner Sennenhund



**Tabelle 10:** Rasse, Alter, Geschlecht, Gewicht der Kontrolltiere und ob rechts- oder linksseitig aus dem jeweiligen Gelenk Synovia entnommen wurde (n = 11)

Rasse	Alter/Monaten	Geschlecht	Gewicht/kg	Gelenk	Seite	Tötungsgrund
Weimaraner	84	m	32	Schultergelenk	re	Osteosarkom
Bouvier	90	m	34	Ellenbogengelenk	re	Osteosarkom
Rottweiler	18	mk	37	Kniegelenk	li	Haematothorax
Pittbull Terrier	41	m	27	Ellenbogengelenk	li	Aggressivität
Airedale Terrier	42	wk	25	Kniegelenk	li	dislozierte Wirbelsäulen-Fraktur
Pittbull Terrier	24	m	28	Kniegelenk	re	Aggressivität
Mischlingshund	28	mk	32	Ellenbogengelenk	re	Magendrehung
Golden Retriever	9	w	29	Schultergelenk	li	Ventrikel-Septum-Defekt
Staff. Terrier <sup>1</sup>	48	m	29	Schultergelenk	re	Aggressivität
Rottweiler	51	m	39	Ellenbogengelenk	re	Osteosarkom
Bobtail	19	w	32	Carpalgelenk	li	dislozierte Wirbelsäulen-Fraktur

<sup>1</sup> Staffordshire Terrier

### 3.1.2 Aufbereitung und Untersuchung der Synovia

Die Synovia wurde unmittelbar nach der Gewinnung makroskopisch im Hinblick auf Färbung und Beimengungen beurteilt. Das aspirierte Volumen wurde gemessen und Viskosität, Zellzahl, Zelldifferenzierung, Proteingehalt sowie das spezifische Gewicht bestimmt.

Zur *Viskositätsbestimmung* wurde der von der Kanülenspitze auf einen Objektträger abfallende Synoviatropfen beurteilt: normal = 0, Synovia ist fadenziehend ( $> 5$  cm, bevor sie reißt); vermindert = 1, Synovia ist fadenziehend ( $2 - 5$  cm); stark vermindert = 2, Synovia ist fadenziehend ( $< 2$  cm); verloren = 3, Synovia ist wässrig, nicht fadenziehend.

Die *Zellzahlbestimmung* wurde in einer Standardleukozytenpipette mit 1 % Methylenblaulösung in einer Neubauer Zählkammer vorgenommen. Ausgezählt wurde in Anlehnung an die Leukozytenzellzählung. In vier Großquadraten wurden die Zellen bestimmt, das Ergebnis mit 25 multipliziert und in Zellen/ $\mu$ l angegeben.

Zur *Zelldifferenzierung* wurden von jeder Probe zwei Ausstriche angefertigt und nach May-Grünwald auf einer automatischen Färbebank (Fa. Biomed, Haemomat K) gefärbt. Ausgezählt werden 100 Zellen bei 1000-facher Vergrößerung mit einem Ölimmersionsobjektiv. Dabei wurden neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und große mononukleäre Zellen erfaßt. Die Ergebnisse der zwei Ausstriche wurden gemittelt.

Der *Proteingehalt* (angegeben in g/dl) und das *spezifische Gewicht* wurden mit einem Refraktometer (Fa. Krüss, Model HRM 18) bestimmt.

Die Synovia wurde sodann in ein steriles K-EDTA-Röhrchen gegeben und 20 Minuten bei 2000 U/min zentrifugiert, der zellfreie Überstand in ein steriles Kryoröhrchen überführt und bei  $- 80$  °C für die MPO-Bestimmung tiefgefroren.

### 3.1.3 Bestimmung der MPO

Die Aktivität der MPO im Serum und in der Synovia wurden nach einer, im Labor des Institutes für Physiologische Chemie des Klinikums der Philipps-Universität Marburg etablierten Methode bestimmt. Der Versuchsaufbau wurde im Institut für Biochemie des Fachbereiches Veterinärmedizin der FU Berlin nachgestellt.

Die MPO-Bestimmung erfolgte mit einem O-Dianisidin-Assay in einer photometrischen Aktivitätsmessung.

Von jeder Synovia- und Serumprobe wurden zwei Ansätze angefertigt: je zwei Doppelansätze mit Substrat sowie mit Substrat und dem Hemmstoff Natriumazid ( $\text{NaN}_3$ ). Natriumazid bindet sich an die Haem-Gruppen der MPO und hemmt dadurch ihre katalytische Aktivität (DAVIES u. EDWARDS, 1989).

Bei jedem Probenansatz wurde ein Kontrollserum mitgeführt, das aus einem Pool von Serumproben gesunder Hunde hergestellt wurde.

Zusammensetzung des Substrats:

10 ml	0,1 M NaCitrat-Puffer, pH 5,5	(mit NaOH eingestellt)
64 $\mu\text{l}$	20 % Triton-X-100	
100 $\mu\text{l}$	20,1 mg/ml O-Dianisidin / DMSO	(82,4 mM O-Dianisidin)
40 $\mu\text{l}$	26,4 mM $\text{H}_2\text{O}_2$	(3 $\mu\text{l}$ 30 % $\text{H}_2\text{O}_2$ + 997 $\mu\text{l}$ $\text{H}_2\text{O}$ )

Substrat mit Hemmstoff:

100 $\mu\text{l}$	$\text{NaN}_3$ 1%	(10 mg/ml $\text{NaN}_3$ )
-------------------	-------------------	----------------------------

Probenansatz:

40 $\mu\text{l}$	Probe
160 $\mu$	Substrat

Substrat und Probe sind im Verhältnis 1:5 anzusetzen. Zu messen ist bei einer Wellenlänge von 450 nm.

Unmittelbar nach der Vermischung der Probe mit Reagenz in einer Mikrotiterplatte wurde die Zeit gestoppt und die Absorption nach 30 min in einem Photometer (Fa. Bio-RAD Model 550

Microplate Reader) bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen. Die Absorptionsdifferenz an den jeweiligen Probenpaaren wurde gemittelt und die Werte des gehemmten Probenansatzes subtrahiert.

Die Aktivität der MPO wird in Unit angegeben. Nach DE MENDEZ (1991) entspricht 1 Unit der Menge MPO, die 1 mM O-Dianisidin/min oxidiert. Die Messung von DE MENDEZ (1991) wurde bei einer Wellenlänge von 460 nm mit einem Extinktionskoeffizienten von  $11,3 \text{ l x mM}^{-1} \text{ x cm}^{-1}$  durchgeführt.

Die eigenen Messungen bei einer Wellenlänge von 450 nm vorgenommen, der eigens für diese Wellenlänge errechnete Extinktionskoeffizient beträgt  $11,48 \text{ l x mM}^{-1} \text{ x cm}^{-1}$ .

Berechnung der Volumenaktivität eines Enzyms:

$$\text{Volumenaktivität (mU/ml)} = \frac{\Delta E \times V}{t \times \varepsilon \times d \times v}$$

$\Delta E / t$  Extinktionsdifferenz von den gesamten Peroxidasen und der gehemmten MPO ( $E_{\text{ges.}} - E_{\text{gehemmte MPO}} = \Delta E_{\text{MPO}}$ ), während der Meßzeit

$\varepsilon$  spezifischer millimolarer Extinktionskoeffizient für MPO bei 450 nm und 25 °C beträgt:  $11,48 \text{ l x mM}^{-1} \text{ x cm}^{-1}$

V Volumen der Meßlösung 200µl

v Volumen der Probe 40µl

d Schichtdicke der Küvette 1 cm

Mit der Absorptionsdifferenz ( $\Delta E$ ) wird die Aktivität der MPO des jeweiligen Probenpaares nach folgender Formel berechnet:

$$\begin{aligned} \text{Volumenaktivität} &= \frac{\Delta E \times 200 \mu\text{l}}{30 \text{ min} \times 11,48 \times 1 \times 40 \mu\text{l}} = \Delta E \times 0,0145 \text{ mU/ml} \\ &= \Delta E \times 2,904 \mu\text{U}/200\mu\text{l} \end{aligned}$$

Bei einer Absorptionsdifferenz von z.B. 0,243, einer Reaktionszeit von 30 Minuten beträgt die MPO-Aktivität 0,0035 mU/ml. Bezogen auf 200  $\mu\text{l}$  eingesetzten Meßvolumens sind das 0,71  $\mu\text{U}$ .

### **3.2 Graduierung klinischer Befunde**

Bei jedem Patienten wurden Lahmheitsdauer, Ursache, Art und Intensität sowie der Lahmheitsgrad, die Gliedmaßenwinklung und etwaige Fehlstellungen ermittelt.

Zur Gradeinteilung wurde ein Studienprotokoll zur Wirksamkeit von Carprofen der Fa. Pfizer (1997) zugrunde gelegt. Dabei wurden Schmerzhaftigkeit und Verhalten der Tiere mitbeurteilt.

Grad 0: Keine klinischen Anzeichen von OA: Gang, Belastung der Gliedmaße und allgemeine Beweglichkeit normal; keine Lahmheit; keine Schmerzhaftigkeit; unauffälliges Verhalten.

Grad 1: Frühstadium der OA: klinische Anzeichen der OA sind vorübergehend; Gang, Belastung der Gliedmaße sind zeitweise minimal beeinträchtigt, die allgemeine Beweglichkeit ist uneingeschränkt; zeitweise geringgradige Lahmheit; unregelmäßig schmerzhaft; unauffälliges Verhalten.

Grad 2: Mittelgradige OA: klinische Anzeichen der OA zeigen sich in dauerhaften Intervallen; Gang, Belastung der Gliedmaße sind häufig beeinträchtigt und die allgemeine Beweglichkeit ist zeitweise eingeschränkt; zeitweise mittelgradige Lahmheit; häufig schmerzhaft; geringgradige Einschränkung des Verhaltens.

Grad 3: Hochgradige OA: dauerhaft klinische Anzeichen der OA; Gang, Belastung der Gliedmaße sind beeinträchtigt, häufiger auch Bewegungsunfähigkeit; phasenweise nur mit Hilfe des Besitzers gehfähig; dauerhafte mittel- bis hochgradige Lahmheit; meistens schmerzhaft; Einschränkung des Verhaltens, Bewegungsabläufe können nicht beendet werden.

### **3.3 Radiologische Untersuchungen**

Die Röntgenaufnahmen des *Schultergelenkes* wurden nach LJUNGGREN u. OLSSON (1975) sowie MORGAN u. POOL (1987) bewertet. Nach folgenden Veränderungen wurde gesucht: Sklerosierung im Bereich des kaudalen Randes des Caput humeri, Sulcus intertubercularis und Exostosenbildung am Tuberculum infraglenoidale, Sulcus intertubercularis und des kaudalen Randes des Caput humeri.

Die Auswertung der Röntgenaufnahmen der *Ellenbogengelenke* erfolgte in Anlehnung an die „International Elbow Working Group“ (IEWG, 1995), sowie BRUNNBERG und VIEHMANN (1999). Dabei wurden die Sklerosierung im Bereich der Incisura trochlearis, Exostosenbildung am Proc. anconaeus, Caput radii und Epicondylus medialis/lateralis beurteilt.

Die Beurteilung der Röntgenaufnahmen von *Knie- und Hüftgelenken* erfolgte in Anlehnung an BRUNNBERG (1987). Wichtige Knochenpunkte im Kniegelenk sind: Tibiakondylen, Femurkondylen, Ossa sesamoidea, Patella; im Hüftgelenk: Gelenkpfanne, Gelenkspalt, Oberschenkelkopf und -hals.

#### **3.3.1 Graduierung röntgenologischer Veränderungen bei OCD im Schultergelenk (Tabelle 2)**

Grad 0: Osteoarthritisfrei: keine Konturverluste im Bereich des Caput humeri und im Sulcus intertubercularis, keine Veränderungen feststellbar.

Grad 1: Geringgradige OA: geringgradige subchondrale Sklerosierung im Bereich des kaudalen Randes des Caput humeri und der Cavitas glenoidalis, Konturverluste im Bereich des Caput humeri und im Sulcus intertubercularis.

Grad 2: Mittelgradige OA: Exostosenbildung < 1 mm an mindestens einer der folgenden Lokalisationen: Tuberculum infaglenoidale, caudaler Rand der Cavitas glenoidalis, Sulcus intertubercularis, Kaudalrand des Caput humeri.

Grad 3: Hochgradige OA: Exostosenbildung bis zu 3 mm in mindestens einer dieser Lokalisationen.

**3.3.2 Graduierung röntgenologischer Veränderungen bei Ellenbogengelenkdysplasie: OCD der Trochlea humeri (Tabelle 3); bei fragmentiertem Processus coronoideus medialis ulnae (Tabelle 4); bei isoliertem Processus anconaeus ulnae (Tabelle 5)**

Grad 0: Osteoarthritisfrei: kaum bis geringgradige Sklerosierung im Bereich der Incisura trochlearis, keine weiteren Veränderungen feststellbar.

Grad 1: Geringgradige OA: Sklerosierung im Bereich der Incisura trochlearis; Exostosenbildung < 1 mm an mindestens einer der folgenden Lokalisationen: Processus anconaeus, Kranialrand Caput radii und/oder Epikondylus medialis/lateralis humeri.

Grad 2: Mittelgradige OA: Exostosenbildung bis zu 3 mm in mindestens einer Lokalisation mit deutlicher Sklerosierung der Incisura trochlearis.

Grad 3: Hochgradige OA: Exostosenbildung von über 3 mm in mindestens einer Lokalisation mit deutlicher Sklerosierung der Incisura trochlearis.



### **3.3.3 Graduierung röntgenologischer Veränderungen bei Kreuzbandruptur, Lahmheitsdauer < 5 Tage (Tabelle 6); Kreuzbandruptur, Lahmheitsdauer > 5 Tage (Tabelle 7) und Patellaluxation (Tabelle 8)**

Grad 0: Osteoarthritisfrei, keine Zeichen der OA: die Tibiakondylen sind scharf konturiert; die Eminentia interkondylica ist deutlich erhaben; nur die kaudale Begrenzung des Sulcus extensorius ist erkennbar; die Femurkondylen und die Ossa sesamoidea sind scharf konturiert; die Femurkondylen sind kaudal stärker gekrümmt, die Fossa extensoria ist als kleine Grube erkennbar; die Patella ist scharf konturiert; Basis und Apex patellae sind leicht angeschrägt und glatt.

Grad 1: Geringgradige OA: die Tibiakondylen sind unscharf konturiert, oder die Eminentia interkondylica erscheint abgeflacht, oder die kaudale und kraniale Begrenzung des Sulcus extensorius ist erkennbar; die Femurkondylen oder die Ossa sesamoidea sind unscharf konturiert, oder die Fossa extensoria ist als große Grube erkennbar, Auflagerungen sind nicht sichtbar; die Patella ist unscharf konturiert; Basis und Apex patellae sind glatt, Auflagerungen sind nicht erkennbar.

Grad 2: Mittelgradige OA: die Tibiakondylen sind unscharf konturiert, die Eminentia interkondylica ist abgeflacht, die Grenzen des Sulcus extensorius sind deutlich erkennbar; die Femurkondylen und die Ossa sesamoidea sind unscharf konturiert; die Fossa extensoria ist als große Grube erkennbar; Auflagerungen sind seitlich am Condylus lateralis bzw. medialis nachweisbar; die Patella ist unscharf konturiert; ihre Basis oder die Apex patellae sind durch Auflagerungen ausgezogen.

Grad 3: Hochgradige OA: die Tibiakondylen sind unscharf konturiert, die Eminentia interkondylica ist abgeflacht, der Sulcus extensorius ist deutlich begrenzt, durch Auflagerungen ist der Tibiakopf kaudal balkonartig ausgezogen; die Femurkondylen und die Ossa sesamoidea sind unscharf konturiert; die Fossa extensoria ist groß; Auflagerungen an den Ossa sesamoidea, an den Kondylen und in der Trochlea ossis femoris sind nachweisbar; die Krümmung der Femurkondylen sind dadurch abgeflacht; die Patella ist unscharf konturiert; Basis und Apex patellae sind durch Auflagerungen ausgezogen.

### **3.3.4 Graduierung röntgenologischer Veränderungen bei Hüftdysplasie (Tabelle 9)**

Grad 0: Osteoarthritisfrei: die Gelenkpfanne ist tief und scharf konturiert, Auflagerungen sind nicht nachweisbar, die Gelenkspalte ist konzentrisch begrenzt; der Oberschenkelkopf ist kugelförmig und scharf konturiert, er sitzt tief in der Pfanne; der Oberschenkelhals ist schlank, deutlich abgesetzt, scharf konturiert und in der Knochenstruktur dicht.

Grad 1: Geringgradige OA: die Gelenkpfanne ist abgeflacht oder unscharf konturiert, oder es sind Auflagerungen nachweisbar, oder die Gelenkspalte ist divergent; der Oberschenkelkopf ist entrundet und unscharf konturiert; der Oberschenkelkopf ist walzenförmig oder verkürzt, oder unscharf konturiert oder in der Struktur aufgelockert.

Grad 2: Mittelgradige OA: die Gelenkpfanne ist abgeflacht, unscharf konturiert, und Auflagerungen sind nachweisbar, oder die Gelenkspalte ist divergent; der Oberschenkelkopf ist pilzförmig oder eckig; der Oberschenkelhals ist walzenförmig oder verkürzt, unscharf konturiert und in der Knochenstruktur aufgelockert.

Grad 3: Hochgradige OA: die Gelenkpfanne ist flach, unscharf konturiert, und Auflagerungen sind nachweisbar, die Gelenkspalte ist divergent; der Oberschenkelkopf ist abgeflacht oder pilzförmig oder eckig und subluxiert; der Oberschenkelhals ist walzenförmig, verkürzt, unscharf konturiert sowie aufgelockert.

### **3.3.5 Beurteilung der Gelenke der Kontrolltiere (Tabelle 10)**

Bei den Kontrolltieren ließen sich röntgenologisch keine Befunde erheben, die auf eine OA hinwiesen.

### **3.4 Operative Befunde**

Bei der Probenentnahme intra operationem wurde das eröffnete Gelenk untersucht, die Gelenkkapsel, der Gelenkknorpel sowie die knöchernen Strukturen – soweit einsehbar – befundet und graduiert (Grad 0 – 3).

Grad 0: Die Gelenkkapsel ist dünn, elastisch mit einer feuchten, glatten und glänzenden Synovialmembran; der Gelenkknorpel ist einheitlich weiß, feucht, glatt und glänzend; der Knochen ist glatt ohne Auflagerungen; die Gelenkstrukturen sind unverändert.

Grad 1: Die Gelenkkapsel ist dünn, elastisch, und/oder die Synovialmembran ist gerötet; oder der Gelenkknorpel ist teilweise verfärbt mit erkennbaren Rauigkeiten; oder im Ansatzbereich der Gelenkkapsel ist der Knochen angeraut.

Grad 2: Die Gelenkkapsel ist verdickt, derb elastisch und die Entzündung zeigt sich in ausgeprägter villöser Form; der Gelenkknorpel ist fleckig und von Usuren durchsetzt oder Exostosen sind erkennbar.

Grad 3: Die Gelenkkapsel ist fibrotisch verändert; eine deutlich hypertrophe, villöse Entzündung ist sichtbar; der Gelenkknorpel ist partiell oder vollständig aufgefasert, Knochenglatzen und/oder Ulcerationen sind sichtbar; massiv ausgeprägte Exostosen sind zu erkennen; sämtliche Gelenkstrukturen sind verändert.

### 3.5 Statistische Auswertung

Die Erfassung der Daten und ihre statistische Analyse wurden mit dem Statistikprogramm SPSS 11 im Institut für Biometrie des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin bearbeitet. Bei den Parametern wurden arithmetisches Mittel, Median, Minimum und Maximum der einzelnen Patientengruppen und der Kontrolltiere ermittelt und tabellarisch aufgelistet.

Die Parameter Zellzahl, Proteingehalt, spezifisches Gewicht, MPO-Synovia-Aktivität und MPO-Serum-Aktivität wurden zudem in Box-Plots dargestellt. Damit läßt sich zur graphischen Darstellung von Median, Minimal- und Maximalwert auch die Streubreite erfassen.

Die Box beinhaltet den Quartilsabstand, d.h. die Werte, die sich zwischen dem ersten und dritten Quartil befinden. Sie machen 50 % der Werte aus.

Die senkrechte Linie entspricht rechnerisch maximal dem 1,5 -fachen Quartilabstand. Die durch einen Kreis gekennzeichneten Meßwerte beschreiben Werte, die zwischen dem 1,5- und 3 -fachen Quartilsabstand liegen. Der Stern bezeichnet einzelne Meßwerte, die sich außerhalb des 3fachen Quartilsabstand befinden.

Der Median ist durch einen Querstrich innerhalb der Box gekennzeichnet. Die Box gibt zusätzlich Aufschluss darüber, ob es sich um eine symmetrische oder schiefe Verteilung handelt. Bei einer symmetrischen Verteilung sind beide Quartile gleich weit vom Median entfernt, bei einer schiefen Verteilung besitzen erstes und drittes Quartil unterschiedliche Abstände zum Median.

Bei den Synoviaparametern kann nicht von einer symmetrischen Verteilung ausgegangen werden. Deswegen wurden die einzelnen Patientengruppen mit den Kontrolltieren mit einem verteilungsfreien statistischen Verfahren verglichen. Die Testergebnisse sind im explorativen Sinne zu verstehen, da es sich bei den Daten nicht um representative Stichproben einer definierten Population handelt.

Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollgruppen wurden mit der Teststatistik des Mann-Whitney U-Test bewertet. Die zwei zu vergleichenden Gruppen, für die sich beim U-

Test eine Überschreitungswahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ergibt, werden als „deutlich unterschiedlich“ im explorativen Sinne bezeichnet.

Bei der Darstellung der MPO-Serum- und MPO-Synovia-Aktivitäten mit zunehmenden klinischen, röntgenologischen und operativen OA-Befunden wurden alle Gruppen untereinander verglichen.

Der Beurteilung der Ergebnisse wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  zugrunde gelegt.

Die Bonferroni-Korrektur für multiple Tests wurde nicht angewandt, da die Daten mit dem Mann-Whitney U-Test kritisch bewertet wurden und keine verallgemeinernde Teststatistik ergeben.

Um Korrelationen zwischen Synovialisparametern und MPO-Serum- sowie Synovia-Aktivitäten aufzudecken, wurde der Spearman-Korrelationskoeffizient als verteilungsfreie Statistik berechnet. Eine Korrelation bestand, wenn die Überschreitungswahrscheinlichkeit  $p < 0,01$  war. Graphisch wurden die Werte in einem Streudiagramm dargestellt.