

Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere  
und dem Institut für Veterinär-Biochemie  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

---

**Biomarker der Osteoarthritis des Hundes:  
Untersuchung von Myeloperoxidase, C-reaktivem Protein,  
Hyaluronsäure und C2C in Synovia und Serum**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Hanna Dorothee Plickert  
Tierärztin aus Stade

Berlin 2011  
Journal-Nr.: 3513

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg  
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg  
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Ralf Einspanier  
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Susanne Hartmann

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

dogs, dog diseases, osteoarthritis, biochemical markers, C-reactive protein,  
hyaluronic acid, peroxidases, joint diseases, synovial fluid

Tag der Promotion: 12.03.2012

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-132-1

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2011**

Dissertation, Freie Universität Berlin

**D 188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2012

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

<b>INHALT</b>	<b>I-V</b>
<b>ABKÜRZUNGEN</b>	<b>VI-VIII</b>
<b>1 EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>2 LITERATURÜBERSICHT</b>	<b>2</b>
<b>2.1 Physiologie synovialer Gelenke</b>	<b>2</b>
2.1.1 Definition echter synovialer Gelenke	2
2.1.2 Gelenkkapsel und Synovialmembran	2
2.1.3 Synovia	3
2.1.4 Artikulärer Knorpel	5
2.1.4.1 Chondrozyten	6
2.1.4.2 Extrazelluläre Matrix	6
2.1.4.3 Interstitielles Wasser	9
2.1.4.4 Struktureller Aufbau des Knorpels	9
2.1.5 Subchondraler Knochen	11
<b>2.2 Osteoarthritis</b>	<b>12</b>
2.2.1 Definition der Osteoarthritis	12
2.2.2 Pathogenese der Osteoarthritis	12
2.2.3 Pathologie synovialer Gelenke bei Osteoarthritis	13
2.2.3.1 Gelenkkapsel und Synovialmembran	13
2.2.3.2 Synovia	14
2.2.3.3 Artikulärer Knorpel	14
2.2.3.4 Subchondraler Knochen	16
2.2.4 Erscheinungsbilder der Osteoarthritis beim Hund	17
2.2.4.1 Schultergelenk	17
2.2.4.2 Ellenbogengelenk	19
2.2.4.3 Kniegelenk	21
<b>2.3 Bildgebende Verfahren</b>	<b>25</b>
2.3.1 Röntgen	25
2.3.2 Computertomographie und Magnetresonanztomographie	25
<b>2.4 Arthroskopie</b>	<b>26</b>

<b>2.5 Arthrozentese</b>	<b>27</b>
<b>2.6 Biomarker der Osteoarthritis</b>	<b>29</b>
2.6.1 Allgemeines zu Biomarkern	29
2.6.2 Myeloperoxidase	30
2.6.3 C-reaktives Protein	32
2.6.4 Hyaluronsäure	35
2.6.5 C2C	37
<b>3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN</b>	<b>40</b>
<b>3.1 Ziel der Studie</b>	<b>40</b>
<b>3.2 Material und Methoden</b>	<b>40</b>
3.2.1 Patienten	40
3.2.2 Anamnese	41
3.2.3 Klinische Allgemeinuntersuchung	41
3.2.4 Orthopädische Untersuchung	42
3.2.4.1 Lahmheit	42
3.2.4.2 Schmerzhaftigkeit	42
3.2.4.3 Gelenkfüllung	42
3.2.4.4 Krepitation	43
3.2.5 Röntgenologische Untersuchung	43
3.2.5.1 Schultergelenk	44
3.2.5.2 Ellenbogengelenk	45
3.2.5.3 Kniegelenk	46
3.2.6 Hämatologische Untersuchung und Gewinnung von Serum	47
3.2.7 Makroskopische Untersuchung des Gelenks intra operationem	48
3.2.7.1 Gelenkkapsel und Synovialmembran	48
3.2.7.2 Gelenkknorpel	49
3.2.7.3 Veränderungen der knöchernen Struktur	49
3.2.8 Gewinnung und Untersuchung von Synovia	49
3.2.9 Einteilung in Ausprägung der Osteoarthritis	50
3.2.10 Bestimmung der Myeloperoxidase-Aktivität	50
3.2.11 Bestimmung der Konzentration von C-reaktivem Protein	51
3.2.12 Bestimmung der Konzentration von Hyaluronsäure	52
3.2.13 Bestimmung der Konzentration von C2C	53

<b>3.3 Statistische Auswertung</b>	<b>54</b>
<b>4 ERGEBNISSE</b>	<b>55</b>
<b>4.1 Patienten und Kontrolltiere</b>	<b>55</b>
4.1.1 Rassen	55
4.1.2 Alter	57
4.1.3 Geschlecht	58
4.1.4 Körpergewicht	58
<b>4.2 Anamnese und klinische Allgemeinuntersuchung</b>	<b>58</b>
<b>4.3 Orthopädische Untersuchung</b>	<b>60</b>
4.3.1 Erkrankte Gelenke und primäre Gelenkerkrankungen	60
4.3.2 Lahmheit, Schmerzhaftigkeit, Gelenkfüllung und Krepitation	61
<b>4.4 Röntgenologische Untersuchung</b>	<b>61</b>
<b>4.5 Hämatologische Untersuchung</b>	<b>62</b>
<b>4.6 Intraoperative Befunde</b>	<b>62</b>
<b>4.7 Synoviaanalytik</b>	<b>63</b>
4.7.1 Viskosität der Synovia	63
4.7.2 Gesamtzellzahl in der Synovia	66
<b>4.8 Ausprägung der Osteoarthritis</b>	<b>67</b>
<b>4.9 Myeloperoxidase-Aktivität</b>	<b>68</b>
4.9.1 MPO-Aktivität bei Patienten, Kontrollen und Folgeuntersuchungen	68
4.9.2 Korrelation der MPO-Aktivität in Synovia und Serum	70
4.9.3 MPO-Aktivität erkrankter Gelenke	71
4.9.4 MPO-Aktivität und Befunde der orthopädischen Untersuchung	71
4.9.5 MPO-Aktivität und Röntgenbefunde	71
4.9.6 MPO-Aktivität und intraoperative Befunde	71
4.9.7 MPO-Aktivität und Ausprägung der Osteoarthritis	71
<b>4.10 CRP-Konzentration</b>	<b>73</b>
4.10.1 CRP-Konzentration bei Patienten, Kontrollen und Folgeuntersuchungen	73
4.10.2 Korrelation der CRP-Konzentration in Synovia und Serum	74

4.10.3	CRP-Konzentration erkrankter Gelenke	75
4.10.4	CRP-Konzentration und Befunde der orthopädischen Untersuchung	75
4.10.5	CRP-Konzentration und Röntgenbefunde	76
4.10.6	CRP-Konzentration und intraoperative Befunde	76
4.10.7	CRP-Konzentration und Ausprägung der Osteoarthritis	76
<b>4.11</b>	<b>Hyaluronsäure-Konzentration</b>	<b>78</b>
4.11.1	Validierung des Hyaluronsäure-ELISA an eigenen Synoviaprobe	78
4.11.2	HA-Konzentration bei Patienten, Kontrollen und Folgeuntersuchungen	79
4.11.3	Korrelation der HA-Konzentration in Synovia und Serum	81
4.11.4	HA-Konzentration erkrankter Gelenke	81
4.11.5	HA-Konzentration und Befunde der orthopädischen Untersuchung	82
4.11.6	HA-Konzentration und Röntgenbefunde	83
4.11.7	HA-Konzentration und intraoperative Befunde	83
4.11.8	HA-Konzentration und Ausprägung der Osteoarthritis	83
<b>4.12</b>	<b>C2C-Konzentration</b>	<b>85</b>
4.12.1	C2C-Konzentration bei Patienten, Kontrollen und Folgeuntersuchungen	85
4.12.2	Korrelation der C2C-Konzentration in Synovia und Serum	87
4.12.3	C2C-Konzentration erkrankter Gelenke	87
4.12.4	C2C-Konzentration und Befunde der orthopädischen Untersuchung	88
4.12.5	C2C-Konzentration und Röntgenbefunde	88
4.12.6	C2C-Konzentration und intraoperative Befunde	88
4.12.7	C2C-Konzentration und Ausprägung der Osteoarthritis	88
<b>4.13</b>	<b>Osteoarthritis-Grade und Verlauf der Marker über 16 Wochen</b>	<b>90</b>
<b>4.14</b>	<b>Osteoarthritis-Grade und Quotienten der Marker</b>	<b>94</b>
4.14.1	C2C/HA-Quotient	94
4.14.2	MPO/HA-Quotient	95
4.14.3	CRP/HA-Quotient	96
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>97</b>
<b>5.1</b>	<b>Patienten und Kontrolltiere</b>	<b>97</b>
<b>5.2</b>	<b>Anamnese und klinische Allgemeinuntersuchung</b>	<b>99</b>
<b>5.3</b>	<b>Orthopädische Untersuchung</b>	<b>100</b>

<b>5.4 Röntgenologische Untersuchung</b>	<b>103</b>
<b>5.5 Hämatologische Untersuchung</b>	<b>103</b>
<b>5.6 Intraoperative Befunde</b>	<b>104</b>
<b>5.7 Synoviaanalytik</b>	<b>104</b>
<b>5.8 Ausprägung der Osteoarthritis</b>	<b>106</b>
<b>5.9 Myeloperoxidase-Aktivität</b>	<b>107</b>
<b>5.10 CRP-Konzentration</b>	<b>111</b>
<b>5.11 Hyaluronsäure-Konzentration</b>	<b>114</b>
<b>5.12 C2C-Konzentration</b>	<b>118</b>
<b>5.13 Osteoarthritis-Grade und Verlauf der Marker über 16 Wochen</b>	<b>121</b>
<b>5.14 Osteoarthritis-Grade und Quotienten der Marker</b>	<b>124</b>
<b>6 ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>126</b>
<b>7 SUMMARY</b>	<b>128</b>
<b>8 LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>130</b>
<b>9 ANHANG</b>	<b>179</b>

**ABKÜRZUNGEN**

ABAH	4-Aminobenzoische saure Hydrazide
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
APP	Akute Phase Protein
AST	Aspartat-Aminotransferase
Biotin-HABP	biotinyliertes Hyaluronsäure-Bindungsprotein
BIPED	Burden of Disease, Investigative, Prognostic, Efficacy of Intervention, Diagnostic
bzw.	beziehungsweise
CII	Typ II Kollagen
Cl <sup>-</sup>	Chloridion
Cl <sub>2</sub>	Chlorgas
cm	Zentimeter
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
CV%	Variationskoeffizient
dl	Deziliter
DMSO	Dimethylsulfoxid
DSPG	Dermatan-Sulfat-Proteoglykan
ED	Ellenbogendysplasie
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetraacetat
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
etc.	et cetera
EZM	Extrazelluläre Matrix
fl	Femtoliter
FPC	Fragmentierter Processus coronoideus
G	Giga
g	Erdbeschleunigung
ggf.	gegebenenfalls
GLDH	Glutamatdehydrogenase
H <sub>2</sub> O	Wasser
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
HA	Hyaluronsäure
Hb	Hämoglobin
HCl	Salzsäure

## ABKÜRZUNGEN

---

Hkt	Hämatokrit
HOCl	hypochlorige Säure
hsCRP	high-sensitivity CRP
IEWG	International Elbow Working Group
IL	Interleukin
IPA	Isolierter Processus anconaeus
IU	Internationale Einheit
kDa	Kilodalton
kg	Kilogramm
l	Liter
Lcc	Ligamentum cruciatum craniale
M	Molar
Max	Maximum
MCH	Mittlerer Zellhämoglobingehalt
MCHC	Mittlere Zellhämoglobinkonzentration
MCV	Mittleres Erythrozyteneinzelvolumen
mg	Milligramm
Min	Minimum
min	Minute
ml	Milliliter
mM	Millimolar
mmol	Millimol
MMP	Matrix Metalloproteinase
MPO	Myeloperoxidase
MRT	Magnetresonanztomographie
mU	Milliunit
n	Anzahl
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
NO	Stickoxid
NSAID	Nicht-steroidale Antiphlogistika
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Superoxid-Anion
OA	Osteoarthritis
OC	Osteochondrose
OCD	Osteochondrosis dissecans

## ABKÜRZUNGEN

---

OD	optische Dichte
ONOO <sup>-</sup>	Peroxynitrit
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
pg	Pikogramm
pH	potentia Hydrogenii
PLT	Thrombozyten
r <sub>s</sub>	Korrelationskoeffizient nach Spearman
RBC	Erythrozyten
resp.	respectively
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
SA-HRP	Streptavidin-Peroxidase Konjugat
SD	Standardabweichung
T	Tera
TIMP	Tissue Inhibitor of Metalloproteinases
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF- $\alpha$	Tumor Nekrose Faktor- $\alpha$
TS	Trockensubstanz
U	Unit
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
WBC	Leukozyten
x <sub>0,25</sub>	unteres Quartil
x <sub>0,5</sub>	Median
x <sub>0,75</sub>	oberes Quartil
$\bar{x}$	Mittelwert
z.B.	zum Beispiel
$\mu\text{g}$	Mikrogramm
$\mu\text{l}$	Mikroliter

# 1 Einleitung

Die Osteoarthritis (OA) des Hundes ist eine häufig vorkommende, degenerative Gelenkerkrankung, von der Tiere jeden Alters, Geschlechts und jeder Rasse betroffen sein können. Im Gegensatz zum Menschen handelt es sich beim Hund überwiegend um eine sekundäre Erkrankung als Folge verschiedener Form- und Funktionsstörungen der Gelenke. Trotz unterschiedlicher Ätiologien erscheint die zelluläre und molekulare Pathophysiologie der OA einheitlich. Inflammatorische Prozesse sind bei der Entstehung und Progression der OA von wesentlicher Bedeutung.

Die Diagnose wird in der Regel anhand der Anamnese, Klinik und einer röntgenologischen Untersuchung der betroffenen Gelenke gestellt. Weitere diagnostische Verfahren wie Arthroskopie, Computertomographie und Magnetresonanztomographie können angewandt werden, sind jedoch mit einem hohen apparativen und finanziellen Aufwand verbunden. Röntgenuntersuchungen sind daher derzeit das Mittel der Wahl. Die Befunde korrelieren jedoch nicht mit dem Grad der degenerativen Veränderungen und können lediglich in der Vergangenheit liegende Prozesse aufzeigen.

Die OA hat einen progressiven Charakter und ist nicht heilbar. Therapeutische Maßnahmen zielen darauf ab degenerative Prozesse im Gelenk zu verlangsamen, die Funktionalität zu verbessern und Schmerzen zu lindern. Je früher therapeutische Maßnahmen ergriffen werden, desto besser ist die Prognose für den Patienten.

Biochemische Marker stehen sowohl bei Mensch als auch Hund im Fokus der aktuellen Forschung. Sensitive Marker könnten ein rechtzeitiges therapeutisches Eingreifen ermöglichen. Die Überwachung des Krankheitsverlaufs und Therapieerfolgs anhand einer präziseren Graduierung pathologischer Prozesse im Gelenk sind denkbar. Biomarker könnten zudem als Grundlage zur Entwicklung neuer Therapiestrategien dienen.

Ziel dieser Studie war die Bestimmung der Aktivität bzw. Konzentration ausgewählter Marker in Synovia und Serum in Bezug auf die Präsenz und Ausprägung von OA bei Hunden, insbesondere in Hinblick auf die Möglichkeiten zur Früherkennung der OA. Als Marker lokaler und systemischer Entzündungsprozesse wurden Myeloperoxidase und C-reaktives Protein bestimmt. Degenerative Prozesse des Knorpelmetabolismus sollten durch Hyaluronsäure und C2C nachgewiesen werden. Anhand von Verlaufsuntersuchungen ausgewählter Fälle sollte gezeigt werden, ob die Marker auch über einen längeren Zeitraum in der Lage sind, osteoarthritische Prozesse zu reflektieren. Die vorgestellten Ergebnisse können dazu beitragen, die Diagnose zu sichern, und Aussagen über die Aktivität der Erkrankung zu treffen.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Physiologie synovialer Gelenke

Zum besseren Verständnis der pathologischen Prozesse im Gelenk wird zunächst der physiologische Aufbau echter synovialer Gelenke, auch *Articulatio synovialis* oder *Diarthros*, beschrieben.

#### 2.1.1 Definition echter synovialer Gelenke

Ein echtes synoviales Gelenk weist einen Gelenkspalt auf, der durch die Enden von zwei (*Articulatio simplex*) oder mehr Knochen (*Articulatio composita*) begrenzt wird, die mit hyalinem Gelenkknorpel überzogen sind. Das Gelenk ist von einer Gelenkkapsel umgeben, die Gelenkhöhle enthält die Gelenkflüssigkeit (*Synovia*) und gelenkspezifisch gegebenenfalls intraartikuläre Menisken (HILL, 1978; NICKEL *et al.*, 1992; BUDRAS *et al.*, 2000).

#### 2.1.2 Gelenkkapsel und Synovialmembran

Die Gelenkkapsel ist die Fortsetzung des Periost. Sie besteht aus einem äußeren *Stratum fibrosum* und einem inneren *Stratum synoviale*. Die Faserschicht ist derb und enthält die kapsulären Gelenkbänder, die *Ligamenta articularia capsularia*. Zudem unterscheidet man zwischen intra- und extrakapsulären Gelenkbändern. Die äußere fibröse Schicht hat eine Stützfunktion, ihre Stärke ist je nach lokaler mechanischer Beanspruchung unterschiedlich ausgeprägt (NICKEL *et al.*, 1992).

Das innere *Stratum synoviale* besteht aus einer *Intima* und einer *Subintima*. Die äußere *Subintima* wird je nach vorherrschendem Gewebetyp als *areolar*, *adipös* oder *fibrös* bezeichnet. Sie enthält Blut- und Lymphgefäße zur Versorgung der intraartikulären Strukturen (HILL, 1978).

Die *Intima* besteht aus zwei Typen von Synovialzellen, die locker aneinander gefügt sind und in ein bis drei Schichten übereinander liegen. Lokal bildet sie unterschiedlich prominente Villi aus.

BARLAND *et al.* (1962) differenzierten erstmals zwischen makrophagischen (Typ A) und fibroblasten-ähnlichen (Typ B) Synoviozyten.

Die beweglichen Typ A-Zellen stammen von mononukleären Zellen des Blutes ab und phagozytieren Zelldebris, extrazelluläre Bestandteile, Mikroorganismen und andere

Antigene. Sie werden auch als residuale Gewebemakrophagen mit Antigen-präsentierenden Fähigkeiten betrachtet (MAPP und REVELL, 1987; NOZAWA-INOUE *et al.*, 1998; IWANAGA *et al.*, 2000). Ihr Anteil an den gesamten Synovialzellen beträgt etwa 33%.

Zu etwa 64% sind in der Synovialmembran die Typ B-Synoviozyten ansässig (GREISEN *et al.*, 1982). Sie sezernieren Matrixkomponenten wie Hyaluronsäure, Kollagen, Fibronectin und andere Glykosaminoglykane in die Gelenkhöhle (IWANAGA *et al.*, 2000).

Die Zellschicht wird nicht durch eine Basalmembran begrenzt, jedoch scheinen die tiefer gelegenen B-Synoviozyten eine basalmembran-ähnliche Verankerung aus Fibronectin, Laminin, Kollagen Typ I, III, V und VI, Chondroitinsulfat und Heparansulfat zu bilden (REVELL *et al.*, 1995; GARNERO *et al.*, 2000).

### **2.1.3 Synovia**

Die Synovia ist ein Ultrafiltrat des Plasmas, angereichert mit Proteoglykanen, Kollagenen, Fibronectin, Hyaluronsäure und Lubricin, die von den B-Synoviozyten sezerniert werden. Für Wasser und kleinere Lösungstoffe wie Elektrolyte, Glukose, Harnstoff oder Kreatinin sind die fenestrierten Kapillaren der Subintima frei permeabel. Durch die interzellularen Spalten des lockeren Zellgefüges der Intima gelangen die Stoffe in die Gelenkhöhle. Analog der Gibbs-Donnan-Gleichung liegen die Solventien in einem stabilen Gleichgewicht mit denen des Plasmas vor (LEVICK, 1995; GARNERO *et al.*, 2000).

Hyaluronsäure (HA) ist ein negativ geladenes, stark hydrophiles Glykosaminoglykan, das aus den sich wiederholenden Disaccharideinheiten D-Glukuronsäure und N-acetyl-D-Glukosamin besteht. Sie wird von Chondrozyten und B-Synoviozyten produziert und ist sowohl ein wesentlicher Bestandteil der Extrazellulären Matrix des Knorpels als auch der Gelenkflüssigkeit (KUROKI *et al.*, 2002). Darüber hinaus ist die HA am Aufbau der Extrazellulären Matrix verschiedener Gewebe des Körpers wie der Haut, dem gesamten Bewegungsapparat und inneren Organen beteiligt (FRASER *et al.*, 1997).

HA ist ein bedeutender Lubrikant und spielt eine wichtige Rolle bei der Absorption von Stößen und der Umverteilung von auf das Gelenk einwirkenden Kräften (KUROKI *et al.*, 2002). Zudem inhibiert HA die Migration von Entzündungszellen (FORRESTER und WILKINSON, 1981; PARTSCH *et al.*, 1989) sowie die zytokininduzierte Produktion von Matrix Metalloproteinasen (MMP) (LARSEN *et al.*, 1992; WANG *et al.*, 2006; WADDELL *et al.*, 2007) und hat analgetische Effekte durch Wirkung auf intraartikuläre Schmerzrezeptoren (GOTOH *et al.*, 1993; POZO *et al.*, 1997; GOMIS *et al.*, 2007).

Durch Polymerisation mit Proteinen entsteht in der Synovia ein Hyaluron-Protein-Komplex, sogenanntes Hyaluronat. Zusammen mit Lubricin, einem mucinösen Glykoprotein das von

synovialen Fibroblasten sezerniert wird, verleiht es der Synovia ihre visköse Natur (JAY *et al.*, 2001; MACWILLIAMS und FRIEDRICHS, 2003). Die Viskosität hängt von der Länge und Struktur der Hyaluron-Polymere ab.

Synovia ist eine thixotrophe Substanz. Die im Ruhezustand bestehenden Hyaluronaggregate werden bei Bewegung depolymerisiert und die Diffusionsvorgänge durch die nun verflüssigte Synovia erleichtert (FERNANDEZ *et al.*, 1983).

Die Hauptfunktionen der Synovia sind die Ernährung des Gelenkknorpels durch den Transport von Stoffen wie Glukose und die Unterstützung der mechanischen Funktionen durch die Lubrikation der Gelenkflächen. Hierbei werden die einwirkenden punktuellen Kräfte durch die als Lubrikant wirkende Synovia umverteilt (LEVICK, 1995; MACWILLIAMS und FRIEDRICHS, 2003). Knorpelschäden und eine veränderte Zusammensetzung der Synovia können diese schmierende Funktion beeinträchtigen (KUROKI *et al.*, 2002; ELSAID *et al.*, 2005).

Synovia ist transparent und farblos bis hellgelb oder strohfarben (FERNANDES, 2008).

Das normale Volumen der Gelenkflüssigkeit variiert je nach Gelenk und Größe des Tieres zwischen 0,1 und 1 ml (SAWYER, 1963; FERNANDEZ *et al.*, 1983).

Die Viskosität der Gelenkflüssigkeit ist hoch. Sie kann mit einem Viskosimeter erfasst werden. Um die Viskosität zu beurteilen, ist es aber ausreichend, die Länge des Fadens zu messen, der entsteht, wenn man einen Tropfen Synovia aus einer Spritze mit Kanüle abtropfen lässt. Eine Fadenlänge von wenigstens 5 cm lässt auf normale Viskosität schließen (FERNANDES, 2008).

Die Gelenkflüssigkeit enthält zu 88 bis 100% mononukleäre Zellen (Monozyten, Lymphozyten und Synoviozyten) und bis zu 12% polymorphkernige Leukozyten. Erythrozyten sind selten in normaler Gelenkflüssigkeit und vorwiegend auf eine entnahmebedingte Kontamination zurückzuführen (SAWYER, 1963).

Der Gesamtzellgehalt variiert von Gelenk zu Gelenk und von Individuum zu Individuum. Angaben zum Zellgehalt in der Synovia schwanken in der Literatur daher stark. FERNANDEZ *et al.* (1983) untersuchten 12 gesunde Gelenke, darunter Knie, Schulter und Karpus, und fanden eine Spanne von 33-1495 Zellen/ $\mu$ l. 55 Gelenke (Hüfte, Knie, Tarsus, Ellenbogen, Schulter und Karpus) wurden von SAWYER (1963) untersucht und Gesamtzellzahlen von 0-2900 Zellen/ $\mu$ l festgestellt. In weiteren Untersuchungen wurde die Synovia von Kniegelenken analysiert. Es konnten folgende Zellgehalte gefunden werden: 700-4400 Zellen/ $\mu$ l (n=20

Kniegelenke) (ATILOLA *et al.*, 1984), 50-2725 Zellen/ $\mu$ l (n=58 Kniegelenke) (MCCARTY *et al.*, 1966), 209-2070 Zellen/ $\mu$ l (n=19 Kniegelenke) (ATILOLA *et al.*, 1986).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die meisten gesunden Gelenke einen Zellgehalt von <3000 Zellen/ $\mu$ l aufweisen. Bei der Messung durch ein Hemacytometer werden niedrigere Zellgehalte als durch das Coulter Counter Verfahren festgestellt (ATILOLA *et al.*, 1986).

Der Proteingehalt in der Synovia beträgt etwa 25% des Proteingehalts im Plasma (BRANNAN und JERRARD, 2006). Die Messung des Gesamtproteingehalts erfolgt am Besten durch eine quantitative biochemische Methode (BRADFORD, 1976). Durch den Einsatz eines Refraktometers sind je nach Autor Proteingehalte zwischen 1,5 und 3,0 g/dl (MACWILLIAMS und FRIEDRICH, 2003) und zwischen 1,8 bis 4,8 g/dl (ELLISON, 1988) beschrieben.

Die Synovianalytik ist eine günstige, einfache und effektive Methode, einen aktiven Entzündungsprozess im Gelenk aufzuzeigen oder gegebenenfalls einen ursächlichen Erreger auszumachen.

#### **2.1.4 Artikulärer Knorpel**

Der hyaline artikuläre Gelenkknorpel überzieht die Enden der Knochen in der synovialen Gelenkhöhle. Er dient der Kräfteverteilung im Gelenk und damit auch der Abdämpfung der auf den subchondralen Knochen wirkenden aktiven und passiven Zug-, Reibungs- und Kompressionskräfte (KUETTNER, 1992; GARDNER, 1994). Seine glatte Oberfläche ermöglicht ein nahezu reibungsloses Gleiten der Gelenkflächen in der Bewegung.

Artikulärer Knorpel enthält keine Nerven, Blut- und Lymphgefäße und bezieht seine Nährstoffe per diffusionem aus der Synovia und zu einem geringeren Anteil auch aus den subchondralen Gefäßen (HILL, 1978; KUETTNER, 1992; IMHOF *et al.*, 2000; WEISBRODE, 2007).

Der Gelenkknorpel besteht aus einer hydratisierten Extrazellulären Matrix (EZM) in die in geringer Menge gewebespezifische Zellen, die Chondrozyten, eingelagert sind. Der Wassergehalt des Knorpels liegt bei etwa 70% bis 80% (MANKIN und THRASHER, 1975; BROCKLEHURST *et al.*, 1984; MOW *et al.*, 1984). Knorpel kann als mehrphasiges Material verstanden werden, wobei die flüssige Phase aus Wasser und Elektrolyten besteht und die feste aus Kollagenen (50% Trockensubstanz (TS)), Proteoglykanen (35% TS), Glykoproteinen (10% TS), Mineralien (3% TS), Lipiden (1% TS) und Chondrozyten (1-12% TS) (TODHUNTER und JOHNSTON, 2003).

#### **2.1.4.1 Chondrozyten**

Obwohl die Chondrozyten nur einen geringen Anteil im Knorpel ausmachen, sind sie für die Synthese, Sekretion und Regulation der EZM verantwortlich (ARNOCZKY und WILSON, 1990). Nährstoffe, insbesondere Glukose, Sauerstoff und Aminosäuren, werden ihnen lediglich durch Diffusion aus der Synovia bereitgestellt. Der Diffusionsgrad ist abhängig von der Größe, Form und Ladung der Moleküle (TORZILLI *et al.*, 1987; LEDDY und GUILAK, 2003), sowie von der Dichte der Proteoglykane im Knorpel (MAROUDAS, 1970) und dem herrschenden Kompressionsdruck (QUINN *et al.*, 2001). Der Stoffwechsel befindet sich unter physiologischen Bedingungen im Gleichgewicht zwischen enzymatischem Abbau und der Aktivität von Enzym-Inhibitoren.

Chondrozyten sind mesenchymale Zellen, die sich während der individuellen Wachstumsphase differenzieren. In der postmitotischen Phase ist im gesunden adulten Knorpelgewebe keine Teilungsaktivität mehr erkennbar (MANKIN, 1963).

Es besteht eine negative Beziehung zwischen der Anzahl der Zellen und der Knorpeldicke, was durch eine begrenzte Diffusionskapazität zu erklären ist (MUIR, 1995). Der einzelne Chondrozyt ist von einer perizellulären Matrix und einer Kapsel umgeben (Knorpelhöhle, Lacuna). Diese Funktionseinheit, als Chondron bezeichnet, dient der Aufrechterhaltung einer „Mikroumwelt“ und der Sicherstellung möglichst optimaler Bedingungen für die Syntheseleistungen der Zellen (POOLE *et al.*, 1987). Innerhalb einer Knorpelhöhle können auch mehrere Knorpelzellen lokalisiert sein, sie werden dann als isogene Gruppe bezeichnet (LIEBICH, 2010).

#### **2.1.4.2 Extrazelluläre Matrix**

Die EZM besteht zu 10-15% aus einem Netzwerk von Kollagenfibrillen das in eine gel-artige Substanz aus Proteoglykanen (10-15%) und Wasser (70-80%) eingebettet ist (ARNOCZKY und WILSON, 1990).

Derzeit sind 28 Kollagen-Typen bekannt (VEIT *et al.*, 2006). Sie können in 5 Kategorien eingeteilt werden: fibrilläre Kollagene (Typ I, II, III, V, VII, XI, XXIV, XXVII), „Netzwerk-Kollagene“ (Typ IV, VI, VIII, X), FACIT (Typ IX, XII, XIV, XVI, XIX, XX, XXI, XXII, XXVI), MACIT (XIII, XVII, XXIII, XXV) und MULTIPLEXIN (Typ XV, XVIII). Typ XXVIII ist derzeit noch nicht klassifiziert (SHOULDERS und RAINES, 2009). Den Hauptanteil der kartilaginären Kollagene macht Typ II mit >90% aus (MAYNE, 1989; EYRE *et al.*, 2006). Des Weiteren sind in geringen Anteilen Typ VI, IX-XI und Typ XXVII (je 1-3%) mit verschiedenen Funktionen am Aufbau der EZM beteiligt.

Kollagene sind extrazelluläre Proteine, die aus drei Polypeptidketten ( $\alpha$ -Ketten) bestehen. Die einzelnen  $\alpha$ -Ketten besitzen eine charakteristische Tripeptid-Sequenz (Gly-X-Y) und

bilden jeweils linksgewundene Helices. Die drei  $\alpha$ -Ketten eines Moleküls bilden wiederum eine rechtsgewundene Helix, die durch Peptid- und Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert wird (MUIR, 1995).

Zunächst werden am endoplasmatischen Retikulum der Chondrozyten sogenannte einzelsträngige Protokollagene mit langen C- und N-terminalen Propeptiden synthetisiert. Durch posttranslationale enzymatische Umbauvorgänge entstehen daraus tripelhelikale Prokollagene die bis zur Fertigstellung der Kollagen-Mikrofibrillen modifiziert werden (SHOULDERS und RAINES, 2009).

*Typ II Kollagen* (CII) ist das Strukturprotein hyalinen Knorpels. Es ist damit Bestandteil des Knorpelgewebes in Gelenken, Rippen und Respirationstrakt. Darüber hinaus ist CII am Aufbau elastischen Knorpels, wie im äußeren Ohr, und Faserknorpels, wie im Anulus fibrosus der Disci intervertebralia, beteiligt (EYRE und MUIR, 1975; LIEBICH, 2010).

CII ist aus drei identischen  $\alpha$ -Helices aufgebaut ( $\alpha 1[II]_3$ ). Typ II Prokollagen kann in zwei Isoformen exprimiert werden, die sich durch verschiedenes Spleißen unterscheiden. Die zwei möglichen mRNA differieren darin, ob Exon 2 vorhanden ist (Typ 2 A) oder nicht (Typ II B) (RYAN und SANDELL, 1990). Während der Chondrogenese wird Exon 2 exprimiert, es entsteht Kollagen Typ II A. In adultem Knorpelgewebe wird lediglich Typ II B exprimiert (SANDELL, 1994). Die Synthese und der Umsatz von Kollagen in adultem Knorpelgewebe sind langsam. Bei osteoarthritischen Prozessen erhöht sich der Umsatz auf ein 10-faches (EYRE *et al.*, 1980).

Durch eine Vielzahl enzymatischer Prozesse erfolgt extrazellulär die Bildung verschiedener intra- und intermolekularer kovalenter Quervernetzungen (KIVIRIKKO und MYLLYLÄ, 1985). Dabei bilden sich fibrilläre Arkaden, die in den tiefer gelegenen Schichten des Gewebes aus stärkeren und in den oberflächlichen Bereichen aus dünneren Fibrillen bestehen (KUETTNER, 1992). Diese Anordnung sichert die Zugbelastbarkeit, und ist essentiell, um das Volumen und die Form des Gewebes aufrecht zu erhalten.

*Typ VI Kollagen* kommt in geringen Mengen (<1% der Kollagene) im hyalinen Knorpel vor. Vor allem ist es in Menisci und Disci intervertebralia, aber auch in Knochen, der Cornea, der Dermis und diversen anderen Bindegeweben vorzufinden (WU *et al.*, 1987). Es zählt zu den sogenannten „Netzwerk-Kollagenen“ und ist in der gesamten EZM anzutreffen, vorzugsweise aber perizellulär lokalisiert (CHANG und POOLE, 1996).

Das heterotrimere *Typ IX Kollagen* ist eine typische Komponente des feinen fibrillären Netzwerks im Bereich der Chondrozyten in adultem Knorpelgewebe (HAGG *et al.*, 1998). In bovinem und humanem Knorpel konnten Querverbindungen zu CII und anderen Kollagen IX

Molekülen nachgewiesen werden (WU *et al.*, 1992; DIAB *et al.*, 1996). Es wird angenommen, dass dies funktionell zu einer erhöhten mechanischen Stabilität und der Hemmung einer übermäßigen osmotischen Schwellung führt (EYRE, 2002).

*Typ X Kollagen* ist ein Homotrimer, das in den tiefen Schichten des artikulären Knorpels zu finden ist. Es wird in Zonen provisorischer Kalzifikation der Wachstumsplatten während der enchondralen Ossifikation durch hypertrophe Chondrozyten exprimiert. Ebenso konnte Typ X Kollagen aber auch in Bereichen von kalzifiziertem, reifem Knorpelgewebe in der Nähe der „Tidemark“ lokalisiert werden. In diesen Bereichen scheinen Charakteristika von Wachstumsplatten auch in adultem Gewebe erhalten zu bleiben und dadurch ist eine Regulation der Mineralisation möglich. Auf- und Umbauprozesse sind somit auch unter pathologischen Zuständen denkbar (POOLE und PIDOUX, 1989; GANNON *et al.*, 1991; LU VALLE *et al.*, 1993).

Als integraler Bestandteil des kartilaginären fibrillären Netzwerks ist *Kollagen Typ XI* anzusehen. Es ist homogen im gesamten Knorpelgewebe verteilt und bildet Quervernetzungen zu Kollagen II und Kollagen IX (MENDLER *et al.*, 1989). Somit kommen ihm wesentliche Aufgaben der Organisation des Gewebes zu.

Neben den Kollagenen sind die *Proteoglykane* maßgeblich am Aufbau der EZM beteiligt. Proteoglykane sind zu etwa 95% aus Polysacchariden und zu 5% aus Proteinen zusammengesetzt (STRYER, 1991). Sie fungieren als große Polyanionen, sind damit äußerst hydrophil und bedingen den hydrostatischen Gewebedruck, der von den Kollagenen begrenzt wird. Bei mechanischer Druckbelastung werden die Proteoglykane komprimiert und das Wasser wird aus dem Gewebe gedrückt. Dadurch erhöht sich die Dichte der negativen Ladungen und bei Entlastung wird erneut Wasser gebunden. Neben der Pufferwirkung gewährleistet dieser Mechanismus die Bereitstellung von Nährstoffen durch das Wasser und erleichtert die Diffusion kleiner Kationen (KUETTNER, 1992).

Proteoglykane bestehen aus einem „Core-Protein“ mit kovalent gebundenen Glykosaminoglykanen, die aus sich repetitierenden Disaccharid-Einheiten bestehen. Die Glykosaminoglykane des Knorpelgewebes sind HA, Chondroitinsulfat, Keratansulfat und Dermatansulfat (JOHNSTON, 1997).

Das vorherrschende Proteoglykan des artikulären Knorpels ist Aggrekan. Es bildet eine flaschenbürstenartige Struktur mit einem „Core-Protein“ von 220-225 kDa an das etwa 100 Chondroitinsulfat-Ketten und etwa 30 Keratansulfat-Ketten gebunden sind. Aggrekan gehört zu den „Hyaluron-bindenden Proteinen“ (DOEGE *et al.*, 1991; HARDINGHAM und FOSANG, 1992; MUIR, 1995). Die N-terminale „Hyaluronsäure-Bindungsregion“ ermöglicht eine nicht-

kovalente Bindung zu einem Hyaluronmolekül, die durch ein „Link-Protein“ stabilisiert wird. Es entsteht ein multimolekulares Aggregat aus etwa 100-200 Aggrekan Molekülen (HARDINGHAM und MUIR, 1972; HASCALL und HEINEGARD, 1974).

Neu synthetisierte Aggrekanmoleküle haben eine niedrige Bindungsaffinität zu HA, die erst langsam zunimmt. Dies gewährleistet eine Diffusion der Aggrekane in der Matrix bis sie durch die stattgefundenene Bindung immobilisiert werden (SANDY und PLAAS, 1989).

In geringen Mengen sind weitere Proteoglykane wie Dermatan-Sulfat-Proteoglykan (DSPG)-I (Biglycan) und DSPG-II (Decorin) im artikulären Knorpel enthalten. Ihre Konzentration nimmt bei steigendem Alter zu (POOLE *et al.*, 1986; CHOI *et al.*, 1989). Sie binden nicht-kovalent an die Oberfläche von Kollagenfasern und hemmen damit die Fibrillogenese. Ebenso verhindern sie die Bindung von Fibronectin und damit die Adhäsion von Fibroblasten. Eine Beteiligung von DSPG in der Pathogenese von Osteoarthritis wird diskutiert, weitere Untersuchungen dazu sind jedoch noch ausstehend (VOGEL *et al.*, 1984; LEWANDOWSKA *et al.*, 1987; CHOI *et al.*, 1989).

#### **2.1.4.3 Interstitielles Wasser**

Das Wasser im artikulären Knorpel ist zu 90% im Extrazellularraum verteilt (WEISS, 1979). Es dient als Medium zur Versorgung der Chondrozyten mit Nährstoffen. Insbesondere werden niedermolekulare Substrate und solche mit neutraler oder kationischer Ladung, sowie die Stoffwechselprodukte der Chondrozyten transportiert. Zudem spielt es eine wesentliche Rolle bei der Dämpfung und Verteilung der auf das Gelenk einwirkenden Kräfte. Die Glykoproteine des Knorpels schöpfen ihr hydrophiles Potenzial nur bis zu etwa 20% aus. Begrenzt wird das Volumen, und damit der hydrostatische Gewebedruck, durch das kollagene Netzwerk und die Konzentrationen der gelösten Ionen in der interstitiellen Flüssigkeit gemäß des Gibbs-Donnan Gleichgewichts. Der osmotische Druck trägt zu etwa 50% zum Kompressionswiderstand des Knorpels bei (LINN und SOKOLOFF, 1965; MANKIN und THRASHER, 1975; LAI *et al.*, 1991; JOHNSTON, 1997).

#### **2.1.4.4 Struktureller Aufbau des Knorpels**

Der Gelenkknorpel besteht aus vier biologischen Schichten oder Zonen. Jede Zone besitzt Eigenschaften, die den Knorpel in der Gesamtheit zu einem starken und widerstandsfähigen Gewebe machen, das axialen Kräften und Scherkräften standhalten kann (WEISS *et al.*, 1968; HAYES *et al.*, 2001). Die einzelnen Schichten gehen fließend ineinander über, ihre Einteilung basiert auf der Verteilung und Anordnung der Chondrozyten, der Kollagenfasern und der Proteoglykane (BENNINGHOFF, 1925; LANE und WEISS, 1975; POOLE *et al.*, 1984).

Die Knorpeldicke variiert über die Gelenkoberfläche und ist generell stärker an der Peripherie konkaver Gelenkflächen und in der Mitte der konvexen Oberflächen (KINCAID und VAN SICKLE, 1981).

Die oberflächlichste Schicht (Zone I) (10-20%) (MOW *et al.*, 1999) ist die Tangentialzone. Sie ist charakterisiert durch einen geringen Zellgehalt, wenigen Proteoglykanen und parallel zur Knorpeloberfläche angeordneten Kollagenfibrillen, die in engen Bündeln aneinander liegen. Die Chondrozyten erscheinen klein und abgeflacht und weisen eine geringe metabolische Aktivität auf (WEISS *et al.*, 1968; CLARK, 1985; TODHUNTER und JOHNSTON, 2003).

In Zone II, der Übergangszone (40-60%) (MOW *et al.*, 1999), sind mehr Chondrozyten vorzufinden, die runder und größer sind. Auch der Proteoglykangehalt ist erhöht. Die Kollagenfasern sind in einem komplexen dreidimensionalen Netzwerk angeordnet (CHEN und BROOM, 1998). Die größeren Fasern ziehen senkrecht zur Knorpeloberfläche, die kleineren Fibrillen verzweigen sich astartig. Im Bereich der Chondrozyten orientieren sich die Fibrillen kapselartig und bilden die Knorpelzellakunen (WEISS *et al.*, 1968; ARNOCKY und WILSON, 1990).

Zusammen mit der Zone II befindet sich in Zone III (Radiärzone) (30%) (MOW *et al.*, 1999) der Hauptanteil der kartilaginären Matrix. Die Kollagenfasern sind radiär angeordnet, die langen Fasern ziehen senkrecht zur Knorpeloberfläche (ASPDEN und HUKINS, 1981). Der Chondrozyten- und Proteoglykangehalt erhöht sich basalwärts (TODHUNTER und JOHNSTON, 2003). Die Chondrozyten der Zone II und III sind metabolisch aktiv (WEISS *et al.*, 1968).

Die drei oberen unmineralisierten Schichten sind durch die „Tidemark“ von der vierten mineralisierten Schicht (Zone IV, Kalzifizierte Zone) abgegrenzt (REDLER *et al.*, 1975; BULLOUGH und JAGANNATH, 1983).

In den tiefen Schichten, der Radiärzone und der kalzifizierten Schicht sind die Kollagenfasern überwiegend senkrecht zur Oberfläche des Knorpels ausgerichtet. Sie bilden ein starres Netzwerk, das in der Zone IV durch die Einlagerung von Hydroxyapatitkristallen zusätzlich versteift wird (ARNOCKY und WILSON, 1990; TODHUNTER und JOHNSTON, 2003). Die Schicht dient als Bindeglied zwischen dem elastischeren hyalinen Knorpel und der steiferen subchondralen Platte. Sie vermindert die einwirkenden Scherkräfte (REDLER *et al.*, 1975; BULLOUGH und JAGANNATH, 1983; RADIN und ROSE, 1986).

Es besteht keine strukturelle Kontinuität zwischen der kalzifizierten Zone und dem subchondralen Knochen. Beide Schichten sind lediglich durch das Ineinanderhaken ihrer unregelmäßigen Oberflächen verbunden (ARNOCKY und WILSON, 1990).

### **2.1.5 Subchondraler Knochen**

Der subchondrale Knochen unterstützt die Funktionen des artikulären Knorpels und verteilt die einwirkenden Kräfte auf den peripheren kortikalen Knochen (RADIN *et al.*, 1970; KAWCAK *et al.*, 2001). In der subchondralen Region besteht eine gitterartige Verbindung des epiphysealen kortikalen Knochens mit der kalzifizierten Knorpelschicht (Zone IV). Strukturell besteht der subchondrale Knochen aus einer Mischung von trabekulärem und kompaktem Knochen. Der trabekuläre Knochen ist aus einem Netzwerk sich verzweigender Lamellen und Trabekeln mit relativ großen Zwischenräumen aufgebaut (TODHUNTER und JOHNSTON, 2003). Die subchondrale Region ist sehr gut vaskularisiert. Die terminalen Gefäße haben zum Teil direkten Kontakt zu den tiefsten Schichten des hyalinen Knorpels und die Perfusionsrate trägt zu über 50 % der Versorgung des Knorpels mit Wasser, Glukose und Sauerstoff bei (DUNCAN *et al.*, 1987; IMHOF *et al.*, 2000).

## 2.2 Osteoarthritis

### 2.2.1 Definition der Osteoarthritis

Die Osteoarthritis (OA) ist eine degenerative Gelenkerkrankung, die durch abbauende und reaktive Veränderungen des Gelenkknorpels, des subchondralen Knochens sowie gegebenenfalls auch der Gelenkkapsel und der angrenzenden Bänder und Muskeln charakterisiert ist (KUETTNER und GOLDBERG, 1995).

Auch wenn viele Faktoren, die bei der Ätiologie und Pathogenese der OA eine Rolle spielen, weiterhin ungeklärt sind, geht man heute von der Beteiligung inflammatorischer Prozesse, insbesondere auf molekularer Ebene, bei der Entstehung und der Progression der Erkrankung aus (PELLETIER *et al.*, 2001; BOS *et al.*, 2009). Daher wurden frühere Bezeichnungen wie „Arthrose“ oder „Osteoarthrose“ weitgehend durch die Begriffe „degenerative joint disease“ oder „Osteoarthritis“ ersetzt.

### 2.2.2 Pathogenese der Osteoarthritis

Obwohl die OA durch verschiedene Ursachen bedingt sein kann, erscheint die zelluläre und molekulare Pathophysiologie einheitlich. Typischerweise sind bei osteoarthritischen Veränderungen alle Gewebe des Gelenks betroffen. Es besteht eine komplexe Interaktion biochemischer und biomechanischer Faktoren, welche die degenerativen Prozesse aufrechterhalten (GARDNER, 1994).

Zunächst entsteht eine Fibrillation der oberflächlichen Knorpelschicht (OHNO *et al.*, 1988). Damit einhergehend ist ein Funktionsverlust, wodurch tiefere Schichten einem abnormen Stress ausgesetzt sind, und sich Fissuren der tieferen Knorpelschichten bis hin zum subchondralen Knochen entwickeln (BURR und RADIN, 2003). In Bereichen hoher Druckeinwirkungen kommt es zu Nekrosen und einer vermehrten Apoptose von Chondrozyten (CHEN *et al.*, 2001; BORRELLI *et al.*, 2003). Die Homöostase des katabolen und anabolen Knorpelstoffwechsels wird in Richtung knorpelabbauende Prozesse verschoben. Die Freisetzung von Knorpelfragmenten führt zu einer vermehrten Ausschüttung von Entzündungsmediatoren wie den Zytokinen Interleukin (IL)-1 und Tumor Nekrose Faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), die ihrerseits eine inflammatorische Antwort initiieren (FERNANDES *et al.*, 2002; RIYAZI *et al.*, 2005; BOTHA-SCHEEPERS *et al.*, 2008). Durch die Zerstörung der Chondrozyten werden Enzyme, vorwiegend Serinproteasen, Cysteinproteasen und MMP, freigesetzt.

Insbesondere drei Kollagenasen der MMP-Familie (MMP-1, MMP-8, MMP-13) sind für den initialen Abbau der Tripelhelix von CII verantwortlich (BILLINGHURST *et al.*, 1997; VANKEMMELBEKE *et al.*, 1998). Im Zuge der Veränderungen werden abnorme Proteoglykane synthetisiert (CARNEY *et al.*, 1992), und ein Nettoverlust dieser ist festzustellen (RIZKALLA *et al.*, 1992). Die Zerstörung der Knorpelstruktur führt zu einer vermehrten Wassereinlagerung. Daraus folgt ein verminderter Widerstand gegen einwirkende Kräfte und die Degeneration setzt sich fort.

### **2.2.3 Pathologie synovialer Gelenke bei Osteoarthritis**

Im Zuge der OA sind die am Gelenk beteiligten Strukturen von pathologischen Veränderungen betroffen. Diese werden im Folgenden eingehender dargestellt.

#### **2.2.3.1 Gelenkkapsel und Synovialmembran**

Im Verlauf der OA reagiert die Gelenkkapsel auf entzündliche Reize mit einer fibroblastischen Proliferation. Möglicherweise hilft dies initial, das Gelenk zu stabilisieren, und Schmerzen zu vermindern. In der Regel wird dadurch aber eher eine verminderte Mobilität des Gelenks mit einem verstärkten Schmerzreiz durch den erhöhten synovialen Druck erreicht (JOHNSTON, 1997; MORGAN, 1997).

Bei der histologischen Untersuchung der Synovialmembranen von 54 Hunden nach Ruptur des Ligamentum cruciatum craniale zeigten GALLOWAY und LESTER (1995) bei 36 Hunden eine lymphoplasmazelluläre Synovialitis mit der Bildung nodulärer Aggregate. Bei den übrigen Tieren wurde eine chronische Synovialitis mit einer diffusen Invasion mononukleärer Zellen nachgewiesen. Die nodulären Aggregate können als Fremdkörperreaktion auf kartilaginäres Debris unter Beteiligung von Riesenzellen angesprochen werden (WILKINSON *et al.*, 1993; BONNET und WALSH, 2005).

In der entzündeten Synovialmembran proliferieren zudem Fibroblasten und Blutgefäße, Makrophagen werden rekrutiert und es findet eine vermehrte zelluläre Apoptose statt (WALSH, 1999; BONNET und WALSH, 2005) Neben den inflammatorischen Zellinfiltraten und einer entzündlichen Angiogenese, kommt es zu einer reaktiven villösen Hypertrophie und Hyperplasie (LIPOWITZ *et al.*, 1985). Es erfolgt eine vermehrte Synthese und Sekretion von Entzündungsmediatoren wie IL-1, IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$  durch Makrophagen (Typ A Synoviozyten). Diese fördern die Sekretion von Prostaglandinen, Stickoxid (NO) und Proteasen (z.B. MMP) aus den synovialen Fibroblasten und Chondrozyten. Die erhöhten Konzentrationen dieser Substanzen führen zu einer verminderten Matrixsynthese und

verstärkten Matrixzerstörung (MCDEVITT *et al.*, 1977; PELLETIER *et al.*, 1985; FERNANDES *et al.*, 2002; FRASER *et al.*, 2003; BENITO *et al.*, 2005; WEISBRODE, 2007; SUTTON *et al.*, 2009).

### **2.2.3.2 Synovia**

Als Reaktion auf Verletzungen oder Entzündungen wird vermehrt Synovia produziert. Die Freisetzung von Entzündungsmediatoren resultiert in einer erhöhten Permeabilität der synovialen Blutgefäße (MACWILLIAMS und FRIEDRICH, 2003). Dadurch treten höhermolekulare Stoffe (z.B. Protein) aus dem Blut in die Synovia über und führen zu einer Veränderung des osmotischen Drucks. Eine zusätzliche Zunahme des Volumens der Synovia erfolgt (JOHNSTON, 1997).

Die Zerstörung der Hyaluron-Aggregate durch Fragmentierung und Depolymerisation sowie eine fehlerhafte Synthese können zu einer Abnahme der Viskosität führen (PREHM, 1990; HENDERSON *et al.*, 1991; KUROKI *et al.*, 2002). Die Synovia kann klar oder strohfarben bis blutig erscheinen (SAWYER, 1963; PEDERSEN, 1978; MACWILLIAMS und FRIEDRICH, 2003).

### **2.2.3.3 Artikulärer Knorpel**

Artikulärer Knorpel hat sehr begrenzte Möglichkeiten, auf Verletzungen zu reagieren oder Reparaturleistungen zu vollbringen. Oberflächliche Erosionen bleiben bestehen ohne auszuheilen. Zwar bilden sich sogenannte proliferative „Cluster“ oder „Clones“ von Chondrozyten, jedoch ist dies als Regenerationsversuch ungenügend (HULTH *et al.*, 1972; LUST und SUMMERS, 1981; POOLE *et al.*, 1991; AIGNER *et al.*, 2001).

Eine Progression des Defekts muss nicht erfolgen, kann aber bei einer zusätzlichen Sklerosierung des subchondralen Knochens auftreten (MEACHIM und EMERY, 1974). Tiefere Läsionen, die in den subchondralen Knochen hineinreichen, werden meist mit fibrösem Gewebe ausgefüllt. Nach metaplastischen Veränderungen entsteht überwiegend fibroartilaginärer Knorpel (WEISBRODE, 2007).

Veränderte Druckeinwirkungen führen zu einer verminderten Diffusion von Nährstoffen in den und von Abfallprodukten aus dem Knorpel (IMHOF *et al.*, 1999). Es resultiert eine Knorpelatrophie. Eine andauernde Überbelastung des Knorpels bedingt eine verminderte Synthese von Proteoglykanen und Fibronectin sowie den Verlust der Lebensfähigkeit von Chondrozyten (JEFFREY *et al.*, 1997; TORZILLI und GRIGIENE, 1998; STEINMEYER und ACKERMANN, 1999; STEINMEYER *et al.*, 1999; TORZILLI *et al.*, 1999; KURZ *et al.*, 2001).

Durch die direkte Schädigung des Knorpels oder indirekt durch entzündliche und destruktive Prozesse im Synovialapparat schreiten die Zerstörung des Knorpels und der Zelltod der Chondrozyten fort (CLEMENTS *et al.*, 2001; D'LIMA *et al.*, 2001; KIM *et al.*, 2001). Bedingt wird dies einerseits durch den enzymatischen Abbau der Knorpelmatrix, andererseits durch die gestörte Syntheseleistung und die überwiegend katabolen Prozesse degenerierter oder

nekrotischer Chondrozyten (MANKIN *et al.*, 1971; AIGNER *et al.*, 1997). Insbesondere MMP (v.a. MMP-1, -8, -13) werden durch Produkte von Entzündungszellen und degenerierten Chondrozyten aktiviert (NGUYEN *et al.*, 1989; BILLINGHURST *et al.*, 1997; DAHLBERG *et al.*, 2000). Eine wesentliche Rolle spielen hierbei IL-1 und TNF- $\alpha$  (CAWSTON *et al.*, 1999; AIGNER *et al.*, 2002; YASUDA und POOLE, 2002; FUJITA *et al.*, 2006). Durch das Einwirken dieser Zytokine und unter Beteiligung von IL-17 und IL-18 produzieren Chondrozyten zudem eine größere Menge reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) wie NO und Superoxid Anionen ( $O_2^-$ ) (PELLETIER *et al.*, 2000; MAZZETTI *et al.*, 2001; HENROTIN *et al.*, 2003). Es entstehen vermehrt Radikale wie Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) und Peroxynitrit ( $ONOO^-$ ). Die ROS und ihre Derivate sind wesentlich an der Zerstörung der Knorpelstrukturen beteiligt. So werden die Synthese von Matrixkomponenten wie Proteoglykan inhibiert (TASKIRAN *et al.*, 1994), MMP aktiviert (AIGNER *et al.*, 2002), Glykosaminoglykane (besonders HA) und Proteoglykane zerstört (MCNEIL *et al.*, 1985; SAARI *et al.*, 1990; MOSELEY *et al.*, 1997; TIKU *et al.*, 1999; KENNETT und DAVIES, 2009) sowie eine Dysfunktion (YUDOH *et al.*, 2005) und Apoptose von Chondrozyten induziert (DEL CARLO und LOESER, 2002).

Es entsteht ein Ungleichgewicht zwischen den MMP und den regulatorisch wirkenden Tissue Inhibitor of Metalloproteinases (TIMP) deren verstärkte Expression ungenügend ist (CAWSTON *et al.*, 1999).

Antiinflammatorische Zytokine wie IL-4, IL-10 und IL-13 oder werden ebenfalls exprimiert. Die suppressiven Effekte bieten vielversprechende Ansatzpunkte für therapeutische Interventionen (LUBBERTS *et al.*, 2000a; LUBBERTS *et al.*, 2000b; WATANABE *et al.*, 2000).

Die mechanischen und enzymatischen Einwirkungen führen weiterhin zum Verlust von Proteoglykanen. Damit werden die kräfte-tragende Funktion und die hydraulische Permeabilität des Knorpels stark beeinträchtigt (CARNEY und MUIR, 1988). BLAIN *et al.* (2001) wiesen zudem eine erhöhte Aktivität von MMP-2 und MMP-9 bei zyklisch einwirkenden Kompressionskräften auf Knorpel nach.

Neu synthetisierte Proteoglykane weisen Veränderungen in der molekularen Zusammensetzung und der Kettenlänge auf (BOLLET und NANCE, 1966; HJERTQUIST und WASTESON, 1972; CARNEY *et al.*, 1985). Durch die Zerstörung des kollagenen Netzwerks wird vermehrt Wasser in den Knorpel aufgenommen. Der osmotische Druck nimmt ab und damit auch die Widerstands- und Resorptionsfähigkeiten des Knorpels, äußere Krafteinwirkungen abzapuffern (MAROUDAS, 1976; TORZILLI *et al.*, 1999).

Es folgt eine fortschreitende mechanische Zerstörung des Knorpels (CLEMENTS *et al.*, 2001). Die oberflächlichen Kollagenfibrillen werden auseinandergerissen, verdichten sich und fransen aus. Dies wird als Fibrillation bezeichnet. Bei fortschreitender Schädigung entstehen Fissuren entlang der vertikalen Arkaden der Kollagenfasern (HOLLANDER *et al.*, 1995). Die

Fibrillationen, Erosionen, Fissuren und damit verbundene Nekrosen der Chondrozyten führen zu einer Hypozellularität des Knorpels (AIGNER und KIM, 2002).

Ein vollständiger Verlust der Integrität des artikulären Knorpels wird bei der Freisetzung des subchondralen Knochens (Ulzeration) erreicht.

#### **2.2.3.4 Subchondraler Knochen**

Die Versteifung des subchondralen Knochens ist mit der Entwicklung von OA assoziiert (ABERNETHY *et al.*, 1978; HAYAMI *et al.*, 2004; CHALMERS *et al.*, 2006). Verschiedene Tierversuchsmodelle wurden zur Untersuchung der Veränderungen des subchondralen Knochens bei OA entwickelt. Vor allem in frühen Stadien der OA wurde eine Abnahme des Knochenvolumens und der Dicke der subchondralen Knochenplatte nachgewiesen (BOYD *et al.*, 2000b; PELLETIER *et al.*, 2004; BOYD *et al.*, 2005). Im Gegensatz dazu beschreiben andere Autoren eine Zunahme dieser Parameter (LAYTON *et al.*, 1988; DAUBS *et al.*, 2006; DING *et al.*, 2006). Die Unterschiede lassen sich durch die verschiedenen angewandten Tiermodelle und die verschiedenen Untersuchungszeitpunkte erklären. So konnte eine initiale Abnahme der Knochendichte mit nachfolgendem Anstieg beobachtet werden (BOYD *et al.*, 2000a; BATISTE *et al.*, 2004).

Es ist jedoch nicht restlos geklärt, ob Veränderungen im subchondralen Knochen einen initiierenden Effekt auf die Entstehung von OA haben oder Folgeerscheinungen sind (DEQUEKER *et al.*, 1997).

Einerseits können die auf das Gelenk einwirkenden Kräfte mit der fortschreitenden Degradation der EZM nicht mehr abgeschwächt und verteilt werden. Größere Krafteinwirkungen werden auf den subchondralen Knochen übertragen. Der Knochen reagiert mit einer verstärkten Knochenzubildung und einer verminderten Resorption. Dies führt zu einer Verdichtung (Sklerosierung) des Knochens (DEDRICK *et al.*, 1993; HAYAMI *et al.*, 2006).

Eine andere Theorie besagt, dass sich wiederholende Traumata die Auslöser von Mikrofrakturen und Versteifungen des subchondralen Knochens sind (RADIN *et al.*, 1984; RADIN und ROSE, 1986; LAHM *et al.*, 2007), ohne dass Veränderungen an der Knorpeloberfläche erkennbar werden (DONOHUE *et al.*, 1983; THOMPSON *et al.*, 1991). Die Sklerosierung verhindert die normale Deformierbarkeit des Knorpels (RADIN *et al.*, 1970). Durch die nun einwirkenden größeren Kräfte werden nachfolgend die Chondrozyten und die EZM geschädigt (LAHM *et al.*, 2006; MROSEK *et al.*, 2006).

Vermutlich können, je nach Insult, Schäden im Knorpel oder Schäden im subchondralen Knochen als auslösend für osteoarthritische Prozesse angenommen werden. Im Verlauf der Erkrankung bedingen sich die Veränderungen gegenseitig.

## **2.2.4 Erscheinungsbilder der Osteoarthritis beim Hund**

Die primäre OA beim Hund wird auch als „Altersarthrose“ bezeichnet. Eine ätiologische Klassifikation kann nicht erfolgen. Sie spielt beim Hund eine untergeordnete Rolle und es wird nicht weiter auf sie eingegangen.

Die sekundäre OA lässt sich ätiologisch auf präarthrotische Form- und Funktionsstörungen zurückführen. Diese können sowohl angeboren sein, als auch erworben werden. Risikofaktoren wie Alter, Rasse, Körpergewicht oder starke körperliche Belastung beeinflussen die Entwicklung von OA.

Im Nachfolgenden wird auf die präarthrotischen Form- und Funktionsstörungen der Gelenke eingegangen von denen Synoviaproben in dieser Studie untersucht wurden.

### **2.2.4.1 Schultergelenk**

Die häufigste Ursache der Entwicklung einer sekundären OA im Schultergelenk ist die Osteochondrosis dissecans (OCD). Osteochondrose (OC) entsteht durch eine fokale abnorme enchondrale Ossifikation mit beeinträchtigter Differenzierung der Knorpelzellen im Bereich der osteochondralen Verbindung. Die physiologische Kalzifikation des Knorpels bleibt aus und in der Folge entsteht eine verdickte Knorpelschicht. Durch Malnutrition der tiefergelegenen Chondrozyten kann es zur Chondromalazie mit Ablösung der oberen Knorpelschichten bis hin zum subchondralen Knochen und damit zur Bildung freier Dissekte im Gelenk kommen. Man spricht nun von OCD (PAATSAMA *et al.*, 1971; KINCAID und VAN SICKLE, 1981; WHITEHAIR und RUDD, 1990; FOX und WALKER, 1993b; TACKE *et al.*, 1999; TROSTEL *et al.*, 2002). In die Synovia freigesetzte Knorpelfragmente lösen inflammatorische Prozesse aus, die eine weitere Degeneration des Gelenkes und damit die Entstehung einer OA fördern (MILTON, 1983).

Die Ätiologie ist noch nicht geklärt, ein multifaktorielles Geschehen mit einer Kombination von nutritiven, hormonellen und genetischen Einflüssen bei schnellwachsenden Hunderassen wird angenommen (MILTON, 1983; TROSTEL *et al.*, 2002).

Neben Schulter-Instabilitäten und Bizepssehnenläsionen ist die OC bzw. OCD eine der drei dominierenden Erkrankungen des Schultergelenkes (BARDET, 2002). Der typische Manifestationsort ist der kaudale Bereich des Caput humeri.

OC kommt vor allem bei jungen, schnellwüchsigen Hunden mittelgroßer bis großer Rassen und Riesenrassen vor. Die Tiere werden meist in einem Alter von 6 bis 12 Monaten vorgestellt. Mit einer Ratio von 2:1 bis 4,5:1 sind männliche Tiere häufiger betroffen (VAUGHAN und JONES, 1968; BRUNNBERG *et al.*, 1978; RUDD *et al.*, 1990; NECAS *et al.*, 1999; TACKE *et al.*, 1999). Röntgenologisch lassen sich in 25 bis 69% der Fälle bilaterale Läsionen

feststellen (BRUNNBERG *et al.*, 1978; RUDD *et al.*, 1990; NECAS *et al.*, 1999; TACKE *et al.*, 1999; OLIVIERI *et al.*, 2007).

Klinisch wird eine gemischte Lahmheit unterschiedlichen Schweregrades festgestellt (BRUNNBERG *et al.*, 1978), die oft nach Belastung zunimmt (MILTON, 1983). Im Stand kann eine geringgradige Entlastung der Gliedmaße erfolgen. In der Bewegung sind meist eine partielle Entlastung und eine Schrittverkürzung erkennbar. Eine Abduktionshaltung der Gliedmaße ist möglich. (GRIFFITHS, 1968; VAUGHAN und JONES, 1968; BERZON, 1979; FOX und WALKER, 1993a). Der Bewegungsradius des Schultergelenks ist bei der orthopädischen Untersuchung meist nicht eingeschränkt, bei der Hyperextension oder Flexion ist aber eine deutliche Schmerzreaktion auslösbar. Eine vermehrte Gelenkfüllung ist aufgrund der überlagernden Muskulatur nicht palpierbar. In den Bereichen der Mm. supraspinatus, infraspinatus et deltoideus kann eine Muskelatrophie erkennbar sein (VAUGHAN und JONES, 1968; BRUNNBERG *et al.*, 1978; LENEHAN und VAN SICKLE, 1985).

Die Diagnose stützt sich auf die Anamnese und klinische Untersuchung und wird röntgenologisch bestätigt. Initial kann eine Veränderung der Knochenkontur und eine subchondrale Sklerosierung im Bereich der Läsion festgestellt werden. Knorpelschuppen können ossifizieren und dann sichtbar werden. Fortgeschrittene degenerative Prozesse als Folge der OC oder OCD führen zur Bildung periartikulärer Osteophyten (MILTON, 1983; TROSTEL *et al.*, 2002). Kontrast-Arthrogramme können für die Unterscheidung zwischen OC und OCD hilfreich sein (STORY, 1978).

Die *Bizepstendinitis* ist eine Entzündung der Sehne des M. biceps brachii und ihrer synovialen Sehnenscheide. Betroffen sind mittelalte bis alte Hunde mittel- und großwüchsiger Rassen. Eine Rasseprädisposition konnte bislang nicht gezeigt werden (STOBIE *et al.*, 1995; BRUCE *et al.*, 2000; WERNHAM *et al.*, 2008). Dem entzündlichen Prozess kann eine Vielzahl von Ursachen wie Traumata, chronische Überbeanspruchung oder mechanische Reizungen durch Osteophyten zugrunde liegen (STOBIE *et al.*, 1995; KRAMER *et al.*, 1997; DAVIDSON *et al.*, 2000). Die fortschreitende Erkrankung bedingt eine synoviale villöse Hypertrophie und eine Fibrosierung der Sehne (GILLEY *et al.*, 2002). Bei längerem Krankheitsprozess können sich Exostosen im Sulcus intertubercularis bilden (KRAMER *et al.*, 1997), die Sehne fokal kalzifizieren (MUIR und JOHNSON, 1994; GILLEY *et al.*, 2002; WALL und TAYLOR, 2002) und infolge der chronisch-entzündlichen Prozesse eine OA im Schultergelenk begünstigt werden. BARDET (1998) berichtet von einer begleitenden OA bei 57% der Patienten mit Schultergelenksinstabilität.

Erkrankte Hunde werden mit einer progressiven oder intermittierenden mittel- bis hochgradigen Lahmheit der Schultergliedmaße vorgestellt. Unter Belastung wird die Funktionsstörung ausgeprägter. Beugung der Gliedmaße im Schulter- und/oder Streckung

im Ellenbogengelenk, sowie die Palpation der Bizepssehne im Sulcus intertubercularis sind schmerzhaft (KRAMER *et al.*, 1997; BRUCE *et al.*, 2000; WERNHAM *et al.*, 2008).

Die Diagnosestellung erfolgt anhand der klinischen Untersuchung sowie von röntgenologischen, arthrographischen, sonographischen, computer- oder magnetresonanztomographischen oder arthroskopischen Verfahren (JON, 1999; KRAMER *et al.*, 2001; MCKEE und MACIAS, 2004; SCHAEFER und FORREST, 2006; MURPHY *et al.*, 2008; WERNHAM *et al.*, 2008).

#### **2.2.4.2 Ellenbogengelenk**

Der Oberbegriff Ellenbogendysplasie (ED) fasst mehrere hereditäre Erkrankungen des Ellenbogengelenkes wie OC und OCD, Fragmentierter Processus Coronoideus (FPC), Isolierter Processus Anconaeus (IPA), und Ellenbogeninkongruenz zusammen. Die International Elbow Working Group (IEWG) definiert ED als alle Zustände im Ellenbogengelenk junger, wachsender Hunde mittel- und großwüchsiger Rassen, die sich durch eine Lahmheit der Schultergliedmaße äußern können, und aus denen unabhängig der zugrunde liegenden Ursache eine sekundäre OA resultiert (GRONDALEN, 1979c; BENNETT *et al.*, 1981; LANG *et al.*, 1998; HAZEWINDEL, 2008). Die verschiedenen Erkrankungsbilder der ED können einzeln oder additiv auftreten (BERZON und QUICK, 1980; BENNETT *et al.*, 1981).

Eine der häufigsten Ursachen für die Entstehung einer sekundären OA ist der *FPC*.

Typisch ist die Erkrankung für Hunde großwüchsiger Rassen wie Rottweiler, Berner Sennhund, Retriever, Neufundländer, Deutscher Schäferhund oder Chow Chow. Die Tiere werden meist bis zu einem Alter von 1,5 Jahren vorgestellt. (GRONDALEN, 1979c; UBBINK *et al.*, 1999; MÄKI *et al.*, 2000; MEYER-LINDENBERG *et al.*, 2002; COOPMAN *et al.*, 2008; JANUTTA und DISTL, 2008; HEINE *et al.*, 2009).

Die Ätiologie des FPC ist nicht vollständig geklärt. Angenommen werden genetische Faktoren, Überbelastung und nutritive Einflüsse (GRONDALEN, 1979b, c; GUTHRIE und PIDDUCK, 1990; ZENTEK *et al.*, 1995; EVERTS *et al.*, 2000; MÄKI *et al.*, 2000; JANUTTA *et al.*, 2006; HAZEWINDEL, 2008).

OLSSON (1983) nahm an, dass das Ossifikationszentrum des Processus coronoideus von osteochondrotischen Veränderungen betroffen ist und es damit zu einer unvollständigen Ossifikation mit folgender Loslösung des Coronoids kommt. Histologisch scheint jedoch eher eine Frakturierung in diesem Bereich vorzuliegen (GUTHRIE *et al.*, 1992). Nach READ (1993) liegt kein gesondertes den Processus coronoideus medialis betreffendes Ossifikationszentrum vor. Derzeit wird angenommen, dass eine entwicklungsbedingte Inkongruenz im Ellenbogengelenk zu einer unverhältnismäßig hohen Kraffteinwirkung auf das mediale Kompartiment des Gelenks führt. Daraus resultieren Knorpelschäden mit

Fissurbildung und zuletzt die Fraktur des Processus coronoideus medialis ulnae (GRONDALEN und GRONDALEN, 1981; WIND, 1986; GEMMILL *et al.*, 2005; GEMMILL und CLEMENTS, 2007).

Erkrankte Tiere werden oft wegen einer Steifheit der Vordergliedmaße, vor allem nach Ruhephasen, vorgestellt. Sie laufen sich ein, verschlechtern sich aber wieder nach ausgedehnter Belastung. Bei Vorstellung ist eine intermittierende gering- bis mittelgradige Lahmheit auffallend. Nicht selten wird die Gliedmaße im Ellenbogengelenk abduziert und supiniert. Bei passiver Hyperflexion oder Hyperextension des Ellenbogengelenks kann meist eine deutliche Schmerzreaktion ausgelöst werden. Das Gelenk kann eine vermehrte Gelenkfüllung aufweisen (GRONDALEN, 1979c; BENNETT *et al.*, 1981; BOULAY, 1998; HAZEWINKEL *et al.*, 1998).

Röntgenologisch ist eine Sklerosierung im Bereich der Incisura trochlearis, insbesondere an der Basis des Processus coronoideus medialis, und die Bildung von Osteophyten ersichtlich (HAZEWINKEL, 2008). Zur Sicherung der Diagnose ist eine computertomographische, magnetresonanztomographische oder arthroskopische Untersuchung, oder aber eine Kombination dieser Verfahren empfehlenswert (SNAPS *et al.*, 1997; TROMBLEE *et al.*, 2007; MOORES *et al.*, 2008).

Die OC bzw. OCD des Ellenbogengelenks betrifft ebenfalls Hunde schnellwachsender, großwüchsiger Rassen wie vor allem Retriever und Rottweiler (WOOD *et al.*, 1975; WOLFE, 1976; BENNETT *et al.*, 1981; GRONDALEN und GRONDALEN, 1981; GUTHRIE *et al.*, 1992). Die Prädispositionsstelle ist die Trochlea humeri (WOOD *et al.*, 1975; FOX *et al.*, 1983; READ, 1993). Klinisch lassen sich FPC und OC/OCD nicht differenzieren. Die Koinzidenz beider Erkrankungen ist vielfach beschrieben (WOLFE, 1976; GRONDALEN, 1979c; BERZON und QUICK, 1980; MASON *et al.*, 1980; BENNETT *et al.*, 1981; BOUDRIEAU *et al.*, 1983; REMY *et al.*, 2004). Röntgenologisch ist die OCD der Trochlea humeri in der Regel zweifelsfrei nachweisbar. Ein negativer Befund schließt eine OCD jedoch nicht sicher aus (BENNETT *et al.*, 1981; READ, 1993). Sekundäre osteoarthritische Zubildungen oder Osteophyten geben Hinweise auf Knorpelschädigungen. Sicher kann aber auch dann nicht zwischen FPC und OC bzw. OCD differenziert werden (BOUDRIEAU *et al.*, 1983; READ, 1993). Nach READ (1993) muss zudem zwischen oberflächlichen Knorpelerosionen, sogenannten „kissing lesions“, und einer OCD unterschieden werden. Knorpelerosionen entstehen häufig an der Trochlea humeri durch einen FPC, betreffen aber nicht den subchondralen Knochen und sind daher von einer OCD abzugrenzen. Bei unklaren Befunden sollten weitere bildgebende Verfahren angewandt werden.

Ein *IPA* entsteht aufgrund einer fehlenden Fusion des Ossifikationskerns des Processus anconaeus ulnae mit der Ulna während der Wachstumsphase. Die Fusion erfolgt beim gesunden Hund bis zur 20. Lebenswoche (LJUNGGREN *et al.*, 1966; DIETZ *et al.*, 1972). Ein Persistieren der Wachstumszone über dieses Alter hinaus ist als pathologisch anzusehen (FOX *et al.*, 1983).

Ein asynchrones Wachstum von Radius und Ulna bei einer im Verhältnis verkürzten Ulna („short ulna syndrom“) oder die ellipsoide Ausbildung der Incisura trochlearis führen zu einer erhöhten Drucklast auf die Trochlea humeri. Diese Druckerhöhung wird auf den Processus anconaeus ulnae übertragen und verhindert die Fusion im Ossifikationszentrum (WIND, 1986; WIND und PACKARD, 1986; READ, 1993; SJÖSTRÖM *et al.*, 1995).

Es sind schnellwüchsige Hunde großwüchsiger Rassen wie Bernhardiner und Deutsche Dogge, aber auch solche chondrodystropher Rassen, wie Basset, betroffen. Besonders prädisponiert ist der Deutsche Schäferhund (LJUNGGREN *et al.*, 1966; GUTHRIE, 1989; MEYER-LINDENBERG *et al.*, 1991; SJÖSTRÖM *et al.*, 1995).

Oft wird die bisher subklinische Erkrankung durch ein Bagateltrauma aktiviert, und erkrankte Tiere werden in einem Alter von 4 bis 5 Monaten oder auch später wegen einer Lahmheit vorgestellt (SJÖSTRÖM *et al.*, 1995). Es ist eine gering- bis mittelgradige, intermittierende oder persistierende Stützbeinlahmheit festzustellen. Meist ist eine vermehrte Gelenkfüllung palpierbar. Der Bewegungsradius des Gelenks ist eingeschränkt und passive Flexion, vor allem aber Extension, sind schmerzhaft. Nicht selten ist eine Krepitation auslösbar (HERRON, 1971; READ, 1993). Die Diagnose wird röntgenologisch abgesichert.

Aufgrund der Instabilität entstehen schnell sekundäre osteoarthritische Veränderungen (GUTHRIE, 1989; READ, 1993). Nach MEYER-LINDENBERG *et al.* (1991) führt sowohl die konservative Therapie, als auch die Exstirpation des isolierten Processus anconaeus zur sekundären OA. Dagegen wird das Risiko einer OA durch Fixation des Processus anconaeus und gleichzeitiger Ulnaosteotomie deutlich minimiert (MEYER-LINDENBERG *et al.*, 1999).

#### **2.2.4.3 Kniegelenk**

Im Kniegelenk sind die Luxatio patellae congenita und OC bzw. OCD sowie die Ruptur des Ligamentum cruciatum craniale ursächlich für eine sekundäre OA.

Bei der *Patellaluxation* (Luxatio patellae) muss zwischen der Luxatio patellae congenita und der Luxatio patellae traumatica unterschieden werden (LOEFFLER, 1964). Letztere ist selten und entsteht meist durch eine Ruptur der Gelenkkapsel oder des Ligamentum patellae (GITTERLE, 1991).

Die Luxatio patellae congenitalis medialis macht 75-90% aller Patellaluxationen aus. Betroffen sind zu 70-90% Hunde kleinwüchsiger Rassen wie Yorkshire Terrier, Pudel,

Pekinese oder Chihuahua (FRITZ, 1989). Die Prävalenz der Erkrankung bei größeren Hunderassen scheint jedoch zuzunehmen, besonders beim Labrador Retriever (GIBBONS *et al.*, 2006; BOUND *et al.*, 2009). Zu 25-50% liegt die Erkrankung bilateral vor. Die Luxatio patellae congenitalis lateralis kommt bei Hunden klein- und großwüchsiger Rassen gleichermaßen vor und tritt in 20-25% beidseits auf (FRITZ, 1989; HAYES *et al.*, 1994; LAFOND *et al.*, 2002; ALAM *et al.*, 2007).

Die Patellaluxation wird nach SINGLETON (1969) in 4 Grade eingeteilt. Nach ROY *et al.* (1992) entwickeln sich sowohl bei chirurgischer als auch bei konservativer Therapie, abhängig vom Grad der Luxation und dem Alter des Tieres, sekundäre osteoarthritische Veränderungen. Der chirurgische Eingriff verbessert jedoch signifikant die Gliedmaßenfunktion. Die OA trifft insbesondere die mediale und distale Gelenkfläche der Patella (ROY *et al.*, 1992; DAEMS *et al.*, 2009) sowie den medialen Rand der Trochlea ossis femoris (TORRINGTON, 2004).

Das klinische Erscheinungsbild variiert in Abhängigkeit des Luxationsgrades und bestehender osteoarthritischer Veränderungen (MARTINEZ, 1997). Patienten mit einer Patellaluxation Grad I sind meist symptomlos. Die Luxation wird als Nebenbefund oder im Rahmen zuchthygienischer Untersuchungen festgestellt. Patienten mit einer Grad II Luxation ziehen die Gliedmaße intermittierend bei gebeugtem Kniegelenk an, während dies bei Grad III zwischen einem gelegentlichen Anziehen im Laufen und einer Stützbeinlahmheit wechselt. Eine Luxation Grad IV ist durch eine permanente hochgradige Lahmheit mit deutlichen Deformationen von Os femoris und Tibia gekennzeichnet (MARTINEZ, 1997; FOSSUM, 2007).

4-8% aller OC bzw. OCD Fälle beim Hund betreffen das Kniegelenk (MONTGOMERY *et al.*, 1994; HARARI, 1998; HORST, 2000). Prädilektionsstelle ist zu 90% der gewichtstragende axiale Anteil des Condylus lateralis ossis femoris. Die Erkrankung kann uni-, häufiger aber bilateral vorkommen (ARBESSER, 1974; DENNY und GIBBS, 1980; MONTGOMERY *et al.*, 1989). Es sind überwiegend Hunde großwüchsiger Rassen wie Doggen, Retriever, Neufundländer und Deutsche Schäferhunde im Wachstum betroffen (ARBESSER, 1974; SLATER *et al.*, 1991; LAFOND *et al.*, 2002). Die Tiere werden meist in einem Alter von 5-7 Monaten mit einer gering- bis mittelgradigen Lahmheit vorgestellt (ARBESSER, 1974; LEIGHTON, 1981). Klinisch fallen meist eine vermehrte Gelenkfüllung, Krepitation, Muskelatrophie der angrenzenden Muskulatur und ein verminderter Bewegungsradius des Gelenks auf (MONTGOMERY *et al.*, 1989; HARARI, 1998).

Röntgenologisch kann eine Abflachung des Condylus ossis femoris mit einer Lyse des subchondralen Knochens festgestellt werden. Häufig ist ein freies Dissekat sichtbar (ARBESSER, 1974; DENNY und GIBBS, 1980; LEIGHTON, 1981).

Es entsteht immer eine sekundäre OA, deren Ausmaß und Progression vom Grad der OCD und den Therapieverfahren abhängt (ARBESSER, 1974; MILTON, 1983; MARTINEZ, 1997).

Die *Ruptur des Ligamentum cruciatum craniale* (Lcc) beim Hund und die nachfolgende Entwicklung von OA sind häufige Ursachen einer dauerhaften Lahmheit der Hintergliedmaße.

Epidemiologisch stellten WHITEHAIR *et al.* (1993) an 10769 Hunden fest, dass Tiere mit einem Körpergewicht von über 22 kg eine höhere Prävalenz für die Ruptur des Lcc aufweisen als leichtere. Meist waren die Hunde zwischen 7 und 10 Jahre alt. Schwere Hunde waren jünger. Nach BENNETT *et al.* (1988) waren 55 von 111 Hunden mit einer Ruptur des Lcc jünger als 4 Jahre. DUVAL *et al.* (1999) wiesen ein erhöhtes Rupturrisiko bei Hunden großwüchsiger Rassen wie Neapolitanischer Mastiff, Akita, Rottweiler, Bernhardiner, etc. in einem Alter <2 Jahre auf. Rottweiler, Neufundländer und Staffordshire Terrier haben die höchste Rupturinzidenz in allen Altersgruppen (WHITEHAIR *et al.*, 1993).

In verschiedenen Untersuchungen wurden Inzidenzen für eine bilaterale Ruptur des Lcc von 20,0 bis 61,3% angegeben. Das Zeitintervall zwischen der Diagnose der initialen und der folgenden Ruptur des andersseitigen Lcc betrug im Mittel 10-16 Monate (POND und CAMPBELL, 1972; BENNETT *et al.*, 1988; DOVERSPIKE *et al.*, 1993; MOORE und READ, 1995; HARASEN, 2003; CABRERA *et al.*, 2008).

Die Pathophysiologie der Ruptur des Lcc beim Hund ist primär nicht durch ein Trauma sondern mehr in progressiven degenerativen Veränderungen des Kreuzbandes begründet. Diese führen zu einem Verlust von Fibroblasten, der Metaplasie verbleibender Fibroblasten zu Chondrozyten und der Zerstörung des Aufbaus der Kollagenfibrillen (VASSEUR *et al.*, 1985; REESE, 1995; NARAMA *et al.*, 1996; HAYASHI *et al.*, 2003). Bei kleineren Hunderassen ist die Degeneration verzögert (VASSEUR *et al.*, 1985). Die Ätiologie der Degeneration ist bisher nicht hinreichend geklärt. Immun-medierte Prozesse wurden im Zusammenhang mit einer Ruptur des Lcc beim Hund nachgewiesen (NIEBAUER *et al.*, 1987; GALLOWAY und LESTER, 1995; REESE, 1995; LAWRENCE *et al.*, 1998; DOOM *et al.*, 2008; ERNE *et al.*, 2009). Es ist nicht gesichert, ob dies Ursache oder Folge der Bandschädigung ist. Neben den Prädispositionen Rasse, Alter und Gewicht scheinen auch veränderte Gelenkkonformationen wie eine schmale Weite der Tuberositas tibiae (INAUEN *et al.*, 2009), eine Stenose der Fossa intercondylaris (AIKEN *et al.*, 1995) und/oder eine steile Neigung des Tibiaplateaus (SLOCUM und DEVINE, 1983; MORRIS und LIPOWITZ, 2001; SELMI und PADILHA FILHO, 2001; OSMOND *et al.*, 2006; MOSTAFA *et al.*, 2009) die Pathogenese der Ruptur des Lcc mit zu induzieren.

Nach Ruptur des Lcc wird die Gliedmaße entlastet und eine deutlich gering- bis mittelgradige Lahmheit ist auffallend. Bei zusätzlicher Schädigung des medialen Meniskus ist die Lahmheit ausgeprägter (BRUNNBERG, 1999). Über die Zeit hinweg kann eine Kapselfibrose das Gelenk wieder stabilisieren, so dass die Funktion sich verbessern kann. Periodisch rezidivierende

Entzündungsreaktionen verursachen intermittierende Funktionseinbußen. Die Progression der OA führt zur zunehmenden Verschlechterung des Gangbildes (JOHNSON und JOHNSON, 1993; MOORE und READ, 1996).

Es besteht ein Gelenkhydrops, der medial und lateral des Ligamentum patellae palpierbar ist und die Kontur des Bandes unscharf abgrenzt. Passives Beugen und Strecken im Kniegelenk sind schmerzhaft. Ist das Kaudalhorn des medialen Meniskus mit verletzt, lässt sich nicht selten ein „Meniskusklick“ auslösen (BRUNNBERG, 1999; VASSEUR, 2003; FEHR, 2007).

Die Instabilität des Gelenks wird durch das „Schubladenphänomen“ und/oder den positiven Tibiakompressionstest nachgewiesen. CAROBBI und NESS (2009) geben für beide Tests eine niedrige Sensitivität (um 60%) an. Bei anästhetisierten Patienten erhöhen sich die Sensitivitäten auf über 90%. Die Palpation des Ligamentum patellae und die Auswertung der röntgenologischen Untersuchung weisen hingegen Sensitivitäten von 100% auf.

Röntgenologisch lässt sich ein „Kapselschatten“ durch die Verlagerung des infrapatellaren Fettkörpers und die Ausdehnung der kaudalen Anteile der Gelenkkapsel feststellen. Periartikuläre Osteophyten bilden sich zunächst medial und lateral an der Trochlea ossis femoris und am Apex patellae. Die fortschreitende OA führt zu Osteophytenbildung an den Kondylen des Os femoris, der Tibia und den Ossa sesamoidea (BRUNNBERG *et al.*, 1992; WIDMER *et al.*, 1994; FEHR, 2007).

Bei Diagnosestellung werden bei der Mehrheit der Patienten bereits osteoarthritische Veränderungen röntgenologisch festgestellt. Trotz chirurgischer Intervention ist eine Zunahme des Arthrosegrades zu beobachten, die Entwicklung schreitet bei Hunden >15 kg Körpergewicht schneller voran (HEFFRON und CAMPBELL, 1979; ELKINS *et al.*, 1991; BRUNNBERG *et al.*, 1992; VASSEUR und BERRY, 1992; CHAUVET *et al.*, 1996; INNES *et al.*, 2004).

Die umgehende chirurgische Stabilisierung des Gelenks ist indiziert, um weitere degenerative Prozesse zu hemmen, und die Funktionalität zu verbessern. Bei Hunden unter 15 kg Körpergewicht kann eine nicht-chirurgische Therapie in Betracht gezogen werden, es ist mit einer Rekonvaleszenzzeit von 4-5 Monaten zu rechnen, in der das Hinterhorn des mediale Meniskus durch die Instabilität verletzt werden kann (VASSEUR, 1984).

## **2.3 Bildgebende Verfahren**

Bildgebende Verfahren wie Röntgen, Magnetresonanz- oder Computertomographie und die Arthroskopie werden zur Beurteilung osteoarthritischer Prozesse und gegebenenfalls zur Ermittlung der zugrunde liegenden Ursachen eingesetzt.

### **2.3.1 Röntgen**

Röntgenologisch lassen sich Weichteilschwellungen, eine veränderte Röntgendichte des subchondralen Knochens, Osteophyten- oder Enthesiophytenbildungen, Verkalkungen und eine veränderte Gelenkmorphologie aufzeigen (ALLAN und NICOLL, 2009). So sind nicht nur osteoarthritische Veränderungen, sondern auch einer sekundären OA zugrunde liegende Ursachen gegebenenfalls darstellbar.

Das Röntgen ist nach wie vor das bildgebende Verfahren der Wahl und findet Einsatz bei Diagnose und Verlaufskontrollen der OA. Allerdings korrelieren klinischer Verlauf und der Grad degenerativer Veränderungen nicht mit den radiologischen Befunden (VAN BREE und VAN RYSSSEN, 1995; GORDON *et al.*, 2003; KIJOWSKI *et al.*, 2006; AKERBLOM und SJÖSTRÖM, 2007; WONDRATSCHKEK, 2008; GOLDHAMMER *et al.*, 2010). Auch bleiben dem Röntgen meist initiale osteoarthritische Prozesse verborgen, da nur die Auswirkungen vergangener Veränderungen dargestellt werden können (SUGIYAMA *et al.*, 2003; BAUER *et al.*, 2006).

### **2.3.2 Computertomographie und Magnetresonanztomographie**

Zunehmend angewandt werden in der Kleintiermedizin die bildgebenden Verfahren der Computertomographie (CT) und der Magnetresonanztomographie (MRT).

Durch die CT können insbesondere mineralisierte Komponenten der Gelenke beurteilt werden. Auch Muskeln, größere Blutgefäße und Nerven sind darstellbar. Neuere Softwareanwendungen bieten eine gute Grundlage für eine 3-D-Auswertung des Bildmaterials. Intra- und periartikuläre Weichteilgewebe wie Bänder, Sehnen, Menisken oder der Gelenkknorpel können eher durch die MRT dargestellt werden (DE RYCKE *et al.*, 2002; ALLAN und NICOLL, 2009; COOK und COOK, 2009). MRT ist die einzige bildgebende Technik, die die Knorpel-Knochen-Grenze differenzieren lässt (ECKSTEIN *et al.*, 2002) und mit den heutigen technischen Möglichkeiten können das Knorpelvolumen berechnet (PETERFY *et al.*,

1994; LINDSEY *et al.*, 2004) und die Struktur des Knorpels dargestellt werden (LÜSSE *et al.*, 2000; NIEMINEN *et al.*, 2001; LIESS *et al.*, 2002).

CT-Untersuchungen des Schultergelenks eignen sich zur Lokalisation und Klärung der Herkunft von Verkalkungen oder Fragmenten die bereits röntgenologisch oder arthrographisch diagnostiziert wurden. Insbesondere knöcherne Zubildungen infolge einer Tenosynovitis des M. biceps brachii lassen sich klar darstellen (VAN BREE und GIELEN, 2009). MOORES *et al.* (2008) verglichen CT-Untersuchungen mit arthroskopischen Befunden am Ellenbogen. Einige Parameter zeigten gute Übereinstimmungen beider Techniken, jedoch konnte sowohl durch das Fehlen von CT-Befunden, als auch durch unauffällige arthroskopische Befunde eine ED nicht sicher ausgeschlossen werden. Es wurde eine Kombination beider Verfahren zur sicheren Diagnosestellung empfohlen.

SAMII *et al.* (2009) nutzten eine CT-Arthrographie, um Läsionen der Kreuzbänder und Menisken zu diagnostizieren. Pathologische Veränderungen wie insbesondere die partielle Ruptur des Lcc ließen sich gut darstellen (HAN *et al.*, 2008), nicht aber die der Menisken. TIVERS *et al.* (2009) geben für das Verfahren gute Sensitivitäten und Spezifitäten auch für den medialen Meniskus an.

Nach MURPHY *et al.* (2008) stimmen MRT- und chirurgische Befunde bei Schultergelenkserkrankungen gut überein.

Für das Ellenbogengelenk ist die Leistungsfähigkeit der MRT wegen der geringen Größe, des komplexen Aufbaus und der dünnen kartilaginären Oberflächen von Humerus, Radius und Ulna begrenzt (COOK und COOK, 2009). Sie kann zur Diagnostik des FPC und subchondraler Läsionen nach SNAPS *et al.* (1999) in Form der Magnetresonanz-Arthrographie verbessert werden.

Nach BOILEAU *et al.* (2008) korrelieren MRT-Befunde beim im Experiment induzierten Kreuzbandriss beim Hund gut mit den chirurgischen Befunden. Die MRT kann zur Darstellung einer Progression der OA aufgrund der höheren Sensitivität und der Möglichkeit alle Strukturen zu beurteilen, besser geeignet sein als das Röntgen (D'ANJOU *et al.*, 2008).

## **2.4 Arthroskopie**

Arthroskopisch lassen sich minimalinvasiv intraartikuläre Strukturen und Läsionen wie Knorpelschäden, Fissuren, chondromalazie-ähnliche Läsionen, Dissekte, der Grad der Entzündung der Synovialmembran und intraartikulärer Bandstrukturen sowie Verletzungen von Bändern und Menisken direkt sichtbar machen und auch behandeln (VAN BREE und VAN RYSSSEN, 1998; CAPALDO *et al.*, 2005b, a).

Die Arthroskopie des Schultergelenks ist nach AKERBLOM und SJÖSTRÖM (2007) und DEVITT *et al.* (2007) der klinischen und röntgenologischen Diagnostik deutlich überlegen.

Das Röntgen spiegelt beim FPC nur unzulänglich das Ausmaß der arthroskopisch evidenten Gelenkschädigung wider (FITZPATRICK *et al.*, 2009). Arthroskopisch lassen sich aber Läsionen aufdecken, die röntgenologisch nicht sichtbar sind (PUNKE *et al.*, 2009). Eine Inkongruenz ist arthroskopisch besser als im CT feststellbar (WAGNER *et al.*, 2007; AUMARM, 2008). MOORES *et al.* (2008) empfehlen, beide Verfahren zur Diagnose einer ED zu kombinieren. Nach GOLDHAMMER *et al.* (2010) ist die Arthroskopie nicht ausreichend sensitiv, den Schweregrad von Knorpelschäden und Synovialitis zu bewerten.

Zur Meniskus-Diagnostik ist die Arthroskopie sensitiver als Arthrotomie oder MRT (POZZI *et al.*, 2008; BÖTTCHER *et al.*, 2010).

## **2.5 Arthrozentese**

Über eine Arthrozentese Gelenkflüssigkeit zur weiteren Diagnostik zu aspirieren ist ein einfaches Verfahren. Indiziert ist die Arthrozentese unter anderem bei Fieber unklarer Genese, Gelenkschmerz, unklarer Lahmheit, Gelenkerguss sowie Poly- oder Monoarthropathien (CLEMENTS, 2006; FERNANDES, 2008). Es lassen sich infektiöse, immunmedierte und degenerative Erkrankungen voneinander abgrenzen (MACWILLIAMS und FRIEDRICH, 2003; FERNANDES, 2008).

Die Arthrozentese kann mit oder ohne Sedation sowie Allgemeinanästhesie erfolgen (MACWILLIAMS und FRIEDRICH, 2003; CLEMENTS, 2006). Der Patient wird entsprechend gelagert und für den Eingriff vorbereitet. Die Punktionsstelle wird geschoren und desinfiziert (CLEMENTS, 2006). Die Hände sind zu desinfizieren und sollten steril behandschuht sein. Punktiert wird das Gelenk mit einer sterilen 20 (0,9x40) Gauge Nadel mit aufgesetzter 2 ml Spritze.

Als Komplikationen können eine zu geringe Probenmenge und die Kontamination mit Blut auftreten. Unter immunsuppressiver Therapie, wie z.B. bei immun-medierter Arthritis, besteht eine erhöhte Gefahr für iatrogene Infektionen. Auch kann iatrogen der Gelenkknorpel geringgradig geschädigt werden, entsprechend vorsichtig sollte punktiert werden (CLEMENTS, 2006; FERNANDES, 2008). Nach BERG *et al.* (2009) kann wiederholtes Gelenkpunktieren selten eine geringgradige mononukleäre, aber keine neutrophile Entzündung verursachen.

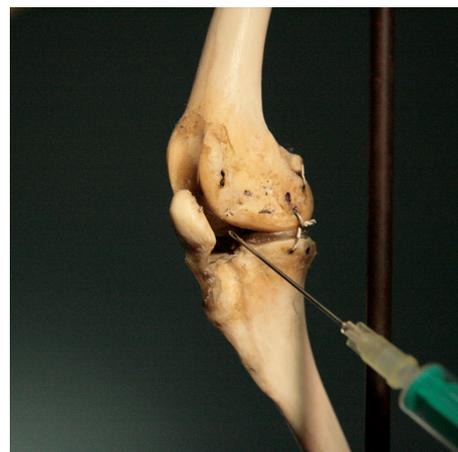
Die Punktionsstellen für Schulter-, Ellenbogen- und Kniegelenke sind in den Abbildungen 2-1 bis 2-5 dargestellt.



**Abbildung 2-1:** Punktion des Schultergelenks. Die Punktion erfolgt distal des Akromiums und kaudal des Tuberculum majus humeri.



**Abbildung 2-2 und 2-3:** Punktion des Ellenbogengelenks. Die Punktion erfolgt kaudo-lateral in Höhe des Capitulum humeri oder kraniolateral distal des Capitulum humeri.



**Abbildung 2-4 und 2-5:** Punktion des Kniegelenks. Die Punktion erfolgt lateral oder medial an der Kante des Ligamentum patellae.

## 2.6 Biomarker der Osteoarthritis

### 2.6.1 Allgemeines zu Biomarkern

Ein Biomarker ist als eine Kenngröße definiert, die objektiv gemessen und evaluiert wird, und als Indikator für physiologische oder pathologische biologische Prozesse oder für die pharmakologische Wirkung einer Therapie fungiert (ATKINSON *et al.*, 2001; DE GRUTTOLA *et al.*, 2001; WEIR und WALLEY, 2006).

Bei der OA wird das Gleichgewicht zwischen der Synthese und dem Abbau der EZM des artikulären Knorpels in Richtung der Degradation verschoben. Durch entzündliche Reaktionen der Synovialmembran werden weitere proinflammatorische Faktoren freigesetzt, die ihrerseits eine vermehrte Ausschüttung abbauender Enzyme fördern. Eine Vielzahl an Faktoren, die an den entzündlichen, abbauenden und reaktiven Prozessen beteiligt sind, können daher als potentielle Biomarker dieser Vorgänge dienen (FOX und COOK, 2001).

Die Einteilung der Biomarker erfolgt meist anhand ihrer Zugehörigkeit zu den verschiedenen Geweben des Gelenks (Knochen, Knorpel, Synovialmembran). Eine weitere Unterteilung in Marker der Synthese und der Degradation erscheint sinnvoll (POOLE, 1994; GARNERO und DELMAS, 2003).

BAUER *et al.* (2006) schlagen eine Klassifikation der Marker nach deren funktioneller Bedeutung vor. Die Einteilung („BIPED“) beinhaltet folgende Gruppierungen: Krankheitslast, Forschung, Prognose, Therapieerfolg und Diagnose.

Die Messung von Markern in der Synovia hat eine höhere Gelenkspezifität, die Messung in Serum, Plasma oder Urin reflektiert dagegen den systemischen Stoffwechsel, der weiteren Einflüssen unterliegen kann (ETTRICH *et al.*, 1998). Eine gute Korrelation zwischen Markern in der Synovia und Markern in Blut oder Urin böte den Vorteil, mit einer routinemäßigen Entnahme von Blut oder Urin eine Reflexion der degenerativen und reparativen Prozesse zu erhalten, ohne dass invasivere Maßnahmen wie die Punktion von Gelenken nötig wäre. Häufig kann jedoch keine Korrelation der Marker zwischen Synovia und Blut oder Urin festgestellt werden. Dies wird mit der geringen Konzentration der Marker in der Peripherie durch Verdünnung oder Abbau erklärt (FOX und COOK, 2001).

Der perfekte Biomarker wäre spezifisch für das erkrankte Gewebe, sensitiv bei Veränderungen wie der Progression der Erkrankung oder therapeutischen Maßnahmen und

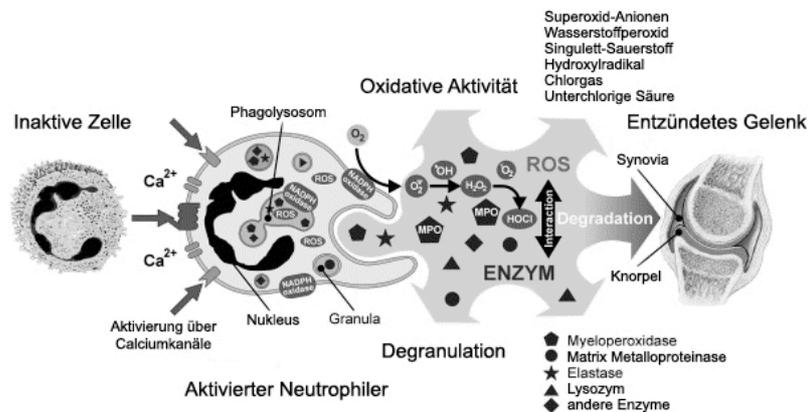
hätte prognostischen Wert für den Verlauf der Erkrankung. Die Entdeckung eines einzelnen Markers der dies in sich vereint erscheint sehr unwahrscheinlich, so dass sich die Forschung auf verschiedene Kombinationen von Markern fokussiert (GARVICAN *et al.*, 2010).

Im Folgenden werden die Marker, mit denen in dieser Studie gearbeitet wurde, detaillierter beschrieben.

## 2.6.2 Myeloperoxidase

Die Myeloperoxidase (MPO) ist ein Enzym, das in den zytoplasmatischen Granula neutrophiler Granulozyten und Monozyten gespeichert ist (KLEBANOFF, 1999). Auch Chondrozyten sind in der Lage MPO zu synthetisieren, bei OA wurde eine Überexpression des MPO-Gens nachgewiesen (ATTUR *et al.*, 2002).

Im Zuge des sogenannten „Respiratory Burst“, der Umwandlung von Sauerstoff ( $O_2$ ) zu ROS wie  $O_2^-$  und  $H_2O_2$ , wird MPO aus den Granula freigesetzt. Das Enzym katalysiert eine Reaktion von Chloridionen ( $Cl^-$ ) mit  $H_2O_2$  zu aggressiver unterchloriger Säure (HOCl) und Chlorgas ( $Cl_2$ ) (BABIOR, 1984, 2000).



**Abbildung 2-6:** „Respiratory Burst“, Freisetzung von MPO aus aktivierten neutrophilen Granulozyten. Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) und Schädigung des Knorpelgewebes. Nach SCHILLER *et al.* (2000).

Neutrophile Granulozyten phagozytieren und zerstören Mikroorganismen. Nach Aufnahme von Mikroorganismen in das Phagosom entsteht durch Freisetzung von MPO und  $H_2O_2$  ein mikrobizider Effekt. MPO und  $H_2O_2$  können jedoch auch aus der Zelle freigesetzt werden. Die Reaktion mit  $Cl^-$  kann das umliegende Gewebe schädigen (KLEBANOFF, 1970, 1999; BABIOR, 2000; KLEBANOFF, 2005).

Neben der Aktivität des MPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Cl<sup>-</sup> Systems bei der Abwehr viraler, bakterieller und mykoider Noxen ist MPO in ein weites Spektrum nicht-infektiöser Krankheiten involviert (HOY *et al.*, 2002). Studien aus der Humanmedizin zeigen die Rolle von MPO in der Pathogenese von akuten myeloischen Leukämien (REYNOLDS *et al.*, 1997; TAN *et al.*, 2009), Lungentumoren (MALLETT *et al.*, 1991; KADLUBAR *et al.*, 1992; WU *et al.*, 2003), Atherosklerose (DAUGHERTY *et al.*, 1994; LAU und BALDUS, 2006; SHAO *et al.*, 2010), Schlaganfällen (BARONE *et al.*, 1991; BRECKWOLDT *et al.*, 2008), Multipler Sklerose (NAGRA *et al.*, 1997; GRAY *et al.*, 2008; SAJAD *et al.*, 2009), Vaskulitis (KALLENBERG, 2008; CHEN und KALLENBERG, 2009) und Herzversagen (MOCATTA *et al.*, 2007; TRACHTENBERG und HARE, 2009; RUDOLPH *et al.*, 2010) auf. Die MPO dient dabei als Marker und teilweise auch als mögliches therapeutisches Ziel.

Beim Hund wurde MPO als Marker bei akuten myeloischen Leukämien (VILLIERS *et al.*, 2006) und zur Bestimmung des Ausmaßes von Infarkten des Myokards analysiert (MULLANE *et al.*, 1985).

Die Beteiligung von MPO bei degenerativen Gelenkerkrankungen wurde mehrfach aufgezeigt. Das MPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Cl<sup>-</sup> System führt direkt zu einer proteolytischen Zerstörung von Knorpelstrukturen, insbesondere zur Fragmentierung von Kollagen (DAVIES *et al.*, 1993; DAUMER *et al.*, 2000), der Reduktion des Radius von Kollagen Typ II-Aggregaten (OLSZOWSKI *et al.*, 2003) und zum Abbau von Proteoglykanen (KOWANKO *et al.*, 1989; KATRANTZIS *et al.*, 1991; REES *et al.*, 2003; REES *et al.*, 2005). HOCl induziert den Abbau von HA und reduziert die Viskosität der Synovia (BAKER *et al.*, 1989; GREEN *et al.*, 1990; HAWKINS und DAVIES, 1998). MPO dient damit als Marker für entzündliche und immunologische Mechanismen und gibt indirekt Hinweise auf eine Zerstörung von Knorpelstrukturen.

STEINBECK *et al.* (2007) zeigten am Menschen, dass im Frühstadium der OA ein erhöhter Gehalt an MPO in der Synovia zu messen war. In einer weiteren Studie wurden verminderte MPO-Gehalte im Serum nach künstlichem Gelenkersatz beobachtet (DEBERG *et al.*, 2008).

LAMMER (2001), SPELLMEYER (2003) und BAUER (2006) konnten bei Hunden mit OA in Synovia deutlich höhere MPO-Aktivitäten nachweisen als in der gesunden Kontrollgruppe. SPELLMEYER (2003) stellte für Serum keine signifikanten Unterschiede der Aktivität zwischen beiden Gruppen fest. Es bestand keine Korrelation zwischen MPO-Aktivitäten in Serum und Synovia (SPELLMEYER, 2003; BAUER, 2006). WONDRATSCHEK *et al.* (2009) setzten bei Hunden mit OA histopathologische Befunde an Gelenkkapsel und -knorpel in Bezug zur

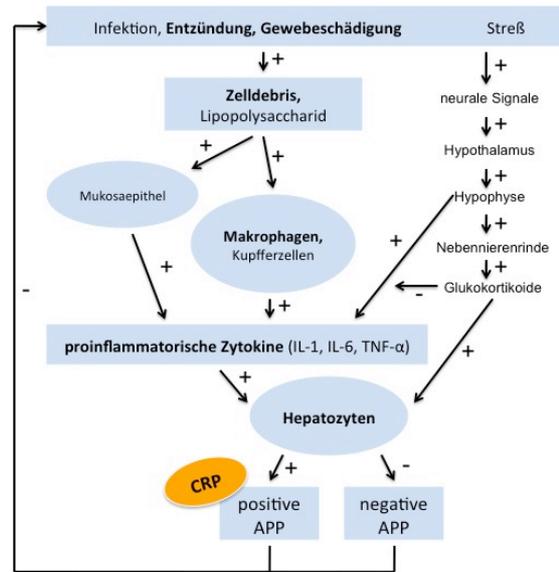
MPO-Aktivität in Synovia. Hochgradige und chronische Veränderungen gingen eher mit niedrigen Aktivitäten einher.

Zur Konzentrationsmessung von MPO stehen speziesspezifische kommerzielle ELISA-Kits zur Verfügung. Für die Aktivitätsbestimmung wurde durch KUMAR *et al.* (2002) ein photometrischer Aktivitätsassay entwickelt, der durch FIETZ *et al.* (2008) und BAUER (2006) modifiziert wurde.

### **2.6.3 C-reaktives Protein**

Die Akute-Phase-Reaktion ist eine unspezifische Immunantwort auf infektiöse, entzündliche oder traumatische Erkrankungen, die von einer Konzentrationsänderung bestimmter Plasmaproteine, den Akute Phase Proteinen (APP) begleitet wird (CERON *et al.*, 2005). C-reaktives Protein (CRP) ist ein positives APP, das in der Leber nach Stimulation durch proinflammatorische Zytokine wie vor allem IL-6, aber auch IL-1 und TNF- $\alpha$ , produziert wird (YAMASHITA *et al.*, 1994; KUSHNER *et al.*, 1995; MURATA *et al.*, 2004).

Durch die Interaktion mit verschiedenen Liganden kann CRP den klassischen Pfad der Komplementkaskade aktivieren, Phagozytose stimulieren und an Immunglobulin-Rezeptoren binden (BLACK *et al.*, 2004; MURATA *et al.*, 2004). Sowohl pro-inflammatorische (BALLOU und LOZANSKI, 1992), als auch anti-inflammatorische (TILG *et al.*, 1993; MOLD *et al.*, 2002; SZALAI *et al.*, 2002) Aktivitäten von CRP wurden beschrieben. Im Gegensatz zu anderen APP, wie z.B. Haptoglobin, besteht kein Einfluss endo- oder exogener Glukokortikoide auf die CRP-Konzentration beim Hund (MARTINEZ-SUBIELA *et al.*, 2004; CALDIN *et al.*, 2009). BORER *et al.* (2003) untersuchten CRP-Konzentrationen bei Hunden mit induzierter Synovialitis die mit verschiedenen nicht-steroidalen Antiphlogistika (NSAID) behandelt wurden. Sie beobachteten keine veränderten CRP-Konzentrationen im Serum der behandelten Gruppe gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe. Es wurde vermutet, dass kein direkter Einfluss nicht-steroidaler Antiphlogistika auf die CRP-Produktion besteht, da eine Blockade der Produktion von IL-6 durch NSAID nicht bekannt ist.



**Abbildung 2-7:** Stimulation der Akuten-Phase-Reaktion. Produktion von CRP in der Leber aufgrund entzündlicher Prozesse. Nach MURATA *et al.* (2004).

CRP dient in der Human- und Veterinärmedizin als Marker entzündlicher Prozesse. In der Humanmedizin wird die Bestimmung von CRP zur Diagnose, Prognose und Überwachung von kardiovaskulären Erkrankungen (RIDKER, 2003; CORRADO *et al.*, 2010), Organversagen (WAYDHAS *et al.*, 1996; PINILLA *et al.*, 1998; LOBO *et al.*, 2003), Sepsis (YENTIS *et al.*, 1995; PÓVOA *et al.*, 1998), Neoplasien (OREMEK *et al.*, 2007; POLTERAUER *et al.*, 2007; MOSES *et al.*, 2009; OTAKE *et al.*, 2009; PIERCE *et al.*, 2009; WANG und SUN, 2009; MIYAKE *et al.*, 2010) und immun-medierten Erkrankungen wie systemischem Lupus erythematodes (BERTOLI *et al.*, 2008; TAN *et al.*, 2008) oder rheumatoider Arthritis (MOLENAAR *et al.*, 2001; CYLWIK *et al.*, 2010) genutzt.

Beim Hund wurde ein Anstieg von CRP bei verschiedenen inflammatorischen Prozessen nachgewiesen (YAMAMOTO *et al.*, 1993; NAKAMURA *et al.*, 2008). Eine Bedeutung für die Diagnose, Prognose und Therapieüberwachung wurde für Infektionskrankheiten wie Leishmaniose (MARTINEZ-SUBIELA *et al.*, 2002), Babesiose (MATIJATKO *et al.*, 2007) oder Ehrlichiose (RIKIHISA *et al.*, 1994), das „systemic inflammatory response syndrome“ und Sepsis (GEBHARDT *et al.*, 2009), Pankreatitis (HOLM *et al.*, 2004), Pyometra (FRANSSON *et al.*, 2004; DABROWSKI *et al.*, 2009), Magenulzera (OTABE *et al.*, 2000; BAYRAMLI und ULUTAS, 2008), kardiale Erkrankungen (RUSH *et al.*, 2006; SAUNDERS *et al.*, 2009), Lymphome (MISCHKE *et al.*, 2007; NIELSEN *et al.*, 2007), und immun-medierte Erkrankungen wie steroid-responsive Meningitis Arteritis (BATHEN-NOETHEN *et al.*, 2008; LOWRIE *et al.*, 2009), Polyarthrit (KJELGAARD-HANSEN *et al.*, 2006; OHNO *et al.*, 2006) und immunbedingter hämolytischer Anämie (GRIEBSCH *et al.*, 2009; MITCHELL *et al.*, 2009) nachgewiesen. Bei

Hunden mit Hyperadrenokortizismus können gleichzeitig ablaufende maskierte Entzündungsreaktionen aufgedeckt werden (CALDIN *et al.*, 2009).

CRP wurde traditionell in der Humanmedizin eingesetzt, um primär (systemisch) entzündliche Arthritiden wie rheumatoide Arthritis von „nicht-entzündlichen“ Erkrankungen wie OA zu differenzieren und die Therapie zu überwachen. Die Beteiligung inflammatorischer Prozesse bei OA ist heute jedoch unumstritten (PELLETIER *et al.*, 2001; BOS *et al.*, 2009).

Verschiedene Untersuchungen ergaben, dass bei Patienten mit OA höhere CRP-Konzentrationen im Serum vorliegen als bei gesunden Kontrollen (SPECTOR *et al.*, 1997; WOLFE, 1997; CONROZIER *et al.*, 2000). Aggressiver fortschreitende Degenerationen oder schwerwiegendere Erkrankungen scheinen mit stärker erhöhten CRP-Konzentrationen einherzugehen (WOLFE, 1997; CONROZIER *et al.*, 2000; SOWERS *et al.*, 2002) und höhere CRP-Konzentrationen deuten auf eine Progression der Erkrankung innerhalb von 3 bis 4 Jahren hin (SPECTOR *et al.*, 1997; SHARIF *et al.*, 2000).

Durch die höhere Sensitivität derzeitiger Testmethoden können durch CRP auch geringgradige lokal ablaufende Entzündungen widergespiegelt werden. So konnten PEARLE *et al.* (2007) mittels eines in der Humanmedizin gebräuchlichen high-sensitivity CRP (hsCRP)-Assay zeigen, dass systemische CRP-Konzentrationen das Ausmaß der entzündlichen Komponente bei Patienten mit OA reflektieren. STÜRMER *et al.* (2004) stellten eine Assoziation zwischen dem Grad der Schmerzhaftigkeit und hsCRP-Konzentrationen in Serum fest.

Nach KUMON *et al.* (1999) besteht eine positive Korrelation zwischen den CRP-Konzentrationen in Synovia und Serum von Patienten mit OA. Mit Ausnahme von 3/55 gepaarten Serum- und Synoviaprobe n wies die CRP-Konzentration in Serum höhere Werte als in der Synovia auf. Vergleiche zwischen CRP-Werten in Synovia und Serum wurden ansonsten bei Patienten mit rheumatoider Arthritis durchgeführt, ergaben aber analoge Kernaussagen (ROWE *et al.*, 1987; DELPUECH *et al.*, 1989; WALTERS *et al.*, 1989).

Im Serum von Hunden mit OA konnten HURTER *et al.* (2005) signifikant höhere CRP-Konzentrationen als im Serum der Kontrollgruppe (BORER *et al.*, 2003) feststellen. Aufgrund des nur geringen Anstiegs der CRP-Werte in der Patientengruppe wurde jedoch gefolgert, dass die Bestimmung von CRP keine Aussage über die Erkrankung an OA zulässt. In einer Untersuchung von FUJIKI *et al.* (2007) konnten keine Unterschiede zwischen den CRP-Konzentrationen im Serum der an OA erkrankten und der gesunden Kontrolltiere gefunden werden. BAUER (2006) stellte im Serum der Kontrolltiere höhere CRP-Konzentrationen als in dem der OA-Patienten fest, führte dies aber auf die Auswahl der Kontrollen zurück, da es sich um systemisch erkrankte Tiere handelte.

Es liegen keine Untersuchungen zu CRP-Konzentrationen in der Synovia von Hunden vor.

Die Bestimmung von CRP erfolgt mit verschiedenen Immunoassays, die spezifische canine Antikörper verwenden. Entwickelt und beschrieben wurden ein Immunturbidimetrischer Assay für automatisierte Analysegeräte (ECKERSALL *et al.*, 1991), ELISA (ECKERSALL *et al.*, 1989; RIKIHISA *et al.*, 1994), slide/capillary reverse passive Latex Agglutinations-Tests (YAMAMOTO *et al.*, 1994; TAGATA *et al.*, 1996) und ein Time-resolved Immunfluorometrischer Assay (PARRA *et al.*, 2006). Kommerziell erhältlich sind spezifische ELISA-Kits (KJELGAARD-HANSEN *et al.*, 2003b), ein Nephelometrischer Immunoassay (ONISHI *et al.*, 2000; NAKAMURA *et al.*, 2008) und ein automatisierter Turbidimetrischer Immunoassay für humanes Serum, der für den Hund validiert wurde (KJELGAARD-HANSEN *et al.*, 2003a).

#### **2.6.4 Hyaluronsäure**

Die Synthese und Funktion der Hyaluronsäure (HA) im Gelenk wurden bereits zuvor besprochen (2.1.3 und 2.1.4.2).

Bei der OA von Mensch und Hund weist HA eine verminderte Konzentration in der Synovia und ein abnormes Molekulargewicht auf (BALAZS *et al.*, 1967; DAHL *et al.*, 1985; SMITH *et al.*, 2001; VENABLE *et al.*, 2008). Diese Veränderungen werden auf die Verdünnung der Synovia durch einen Gelenkerguss, eine Depolimerisierung durch abbauende Enzyme und eine veränderte Synthese von HA in den Synoviozyten zurückgeführt (PREHM, 1990; HENDERSON *et al.*, 1991; KUROKI *et al.*, 2002).

Eine neuere Studie aus der Humanmedizin widerspricht diesem Ansatz jedoch. Es konnten keine Unterschiede der Konzentrationen und des Molekulargewichts von HA zwischen an OA erkrankten Patienten und der gesunden Kontrollgruppe festgestellt werden (DUNN *et al.*, 2009).

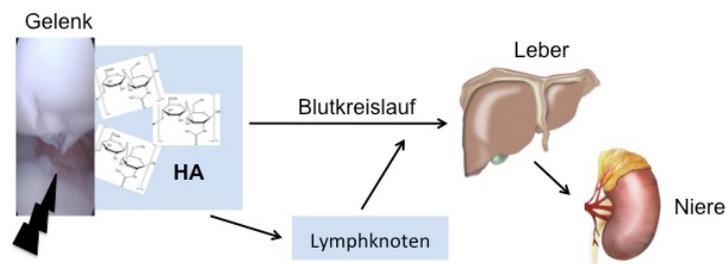
Therapeutisch wird HA als intraartikuläre Injektion bei Patienten mit OA eingesetzt. Klinische Studien zeigen beim Menschen nach der Injektion eine Verbesserung der Symptomatik über mehrere Wochen (BRZUSEK und PETRON, 2008; MIGLIORE und GRANATA, 2008; CHEVALIER *et al.*, 2010).

Beim Hund liegen nur wenige Studien vor. Die Ergebnisse differieren stark: In experimentellen Untersuchungen konnte eine Reduktion von Schmerzhaftigkeit und Lahmheit und eine Abnahme des Schweregrades der OA beobachtet werden (ABATANGELO *et al.*, 1989; SCHIAVINATO *et al.*, 1989; WENZ *et al.*, 2000). ECHIGO *et al.* (2006) zeigten eine Suppression der Apoptose von Chondrozyten nach intravenöser oder intraartikulärer Injektion von HA. In einer klinischen Studie von HELLSTRÖM *et al.* (2003) wies die Gruppe,

die mit intraartikulären HA-Injektionen behandelt wurde, eine signifikante Reduktion der Lahmheit gegenüber Patienten auf, die mit NSAID behandelt wurden. SMITH *et al.* (2005) (experimentelle Untersuchung) berichteten dagegen von keiner Verbesserung der arthroskopischen Befunde und der Belastung der Gliedmaße in der Gruppe mit intraartikulärer HA-Injektion.

Die meist hochmolekulare synoviale HA gelangt über die Lymphgefäße in den Blutkreislauf und wird in der Leber nach Bindung an Leberendothelzell-Rezeptoren zu überwiegend niedermolekularer HA umgebaut. In der Niere wird die HA teilweise metabolisiert und im Urin ausgeschieden (ETTRICH *et al.*, 1998). Der Großteil von HA wird jedoch bereits in den Lymphknoten extrahiert und abgebaut (FRASER *et al.*, 1997).

Mit der Bestimmung von HA als Marker in Serum oder Synovia sind Synovialitiden detektierbar (ETTRICH *et al.*, 1998; GARNERO *et al.*, 2000). Hohe HA Werte im Blut können auch aus Schäden des Leberendothels oder Nierenerkrankungen resultieren (ENGSTRÖM-LAURENT, 1989; ARICAN *et al.*, 1994).



**Abbildung 2-8:** Stoffwechselweg von HA bei OA. Nachweis in Synovia, Blut und Urin.

Humanmedizinische Studien belegen signifikant höhere HA-Werte im Serum von Patienten mit OA gegenüber gesunden Kontrollen (GOLDBERG *et al.*, 1991; HEDIN *et al.*, 1991; GARNERO *et al.*, 2001; TURAN *et al.*, 2007). Darüber hinaus kann anhand des HA-Wertes die Progression der Erkrankung über einen Zeitraum von 2 bis 4 Jahren prognostiziert werden (SHARIF *et al.*, 1995; PAVELKA *et al.*, 2004; BRUYERE *et al.*, 2006; MAZIERES *et al.*, 2006; CIBERE *et al.*, 2009; FILKOVA *et al.*, 2009). PRAEST *et al.* (1997) konnten auch in der Synovia von Gelenken mit degenerativen Prozessen erhöhte HA-Werte nachweisen. Dagegen zeigten BELCHER *et al.* (1997), dass bei Patienten mit OA signifikant erniedrigte HA-Konzentrationen in der Synovia vorliegen.

In einer Untersuchung von ARICAN *et al.* (1994) wiesen Hunde mit OA oder nach Ruptur des Lcc im Vergleich zu gesunden Kontrolltieren signifikant höhere HA-Konzentrationen im Serum und signifikant niedrigere HA-Konzentrationen in der Synovia auf. Es bestand keine

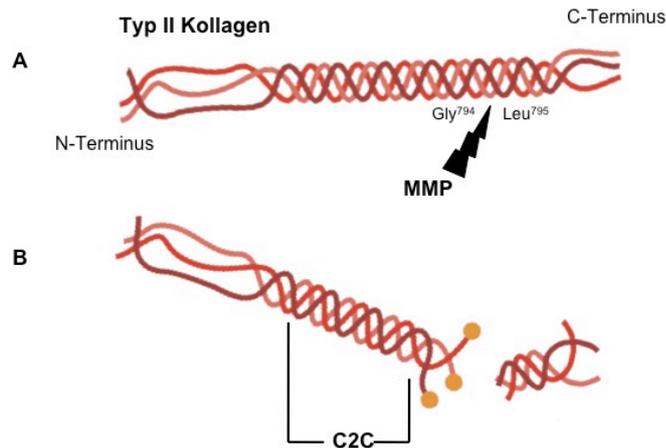
Korrelation zwischen HA-Konzentrationen in Serum und Synovia. BUDSBERG *et al.* (2006) bestimmten die Konzentrationen von HA in Serum und Synovia von Hunden mit experimentell induzierter OA. Nach 1, 2 und 3 Monaten post operationem war die HA-Konzentration in der Synovia signifikant niedriger als der Ausgangswert prae operationem. Die Serumkonzentrationen von HA zeigten keine signifikanten Unterschiede zum Ausgangswert. VENABLE *et al.* (2008) analysierten sowohl die Qualität als auch die Quantität von HA in Synovia von Hunden mit bestehender OA und Hunden nach experimentell induzierter OA. Die Konzentration der HA bei Hunden mit bestehender OA war signifikant niedriger als bei gesunden Kontrolltieren, bei Hunden mit experimentell induzierter OA bestand nach 12 Wochen jedoch kein Unterschied. Qualitativ konnte bei Hunden mit experimentell induzierter OA ein Proteinfragment detektiert werden, das bei den anderen Gruppen nicht nachzuweisen war. Die Autoren schlossen daraus, dass eine quantitative Bestimmung von HA nicht zur frühzeitigen Diagnose von OA geeignet sei, möglicherweise aber eine qualitative Analyse.

Zur Bestimmung der Konzentration von HA in Serum und Synovia von Hunden finden ELISA (KONGTAWELERT und GHOSH, 1989; ARICAN *et al.*, 1994; BUDSBERG *et al.*, 2006; NGANVONGPANIT *et al.*, 2008; VENABLE *et al.*, 2008) und eine modifizierte Fluorophor-assistierte Karbohydrat Elektrophorese (CANAPP *et al.*, 2005) Anwendung. ELISA-Kits sind kommerziell erhältlich. Die qualitative Bestimmung der HA wurde mittels Western Blot durchgeführt und beschrieben (VENABLE *et al.*, 2008).

### **2.6.5 C2C**

Typ II Kollagen (CII) ist ein Hauptbestandteil des artikulären Knorpels. Bei OA erfolgt ein proteolytischer Abbau von CII Fibrillen durch Kollagenasen wie MMP-1, -8 und -13 (HOLLANDER *et al.*, 1994; MITCHELL *et al.*, 1996; BILLINGHURST *et al.*, 1997; DAHLBERG *et al.*, 2000; WU *et al.*, 2002). Dies führt zur Erosion des Gelenkknorpels und fördert die weitere Degeneration des Gelenkes.

CII wird vorwiegend zwischen den Aminosäuren Gly<sup>794</sup> und Leu<sup>795</sup> gespalten, es entstehen zwei Fragmente von  $\frac{3}{4}$  und  $\frac{1}{4}$  der ursprünglichen Größe (MILLER *et al.*, 1976). Die Tripelhelix der Fragmente entwindet sich und ist nun Angriffspunkt für den fortschreitenden Abbau durch verschiedene proteolytische Enzyme. C2C (früher Col2-3/4C<sub>long mono</sub>) ist ein Biomarker der CII Degeneration und damit ein Marker des katabolen Kollagenmetabolismus. Antikörper gegen C2C detektieren ein Neopepitop am carboxy-terminalen Ende des  $\frac{3}{4}$  langen CII Fragments (BILLINGHURST *et al.*, 1997; POOLE *et al.*, 2004).



**Abbildung 2-9:** **A** Spaltung von CII an definierter Stelle durch MMP. **B** C2C ist ein Neopepitop am C-terminalen Ende nach Spaltung.

Experimentelle Studien an Mäusen (AMEYE *et al.*, 2007), Kaninchen (KOJIMA *et al.*, 2001), Meerschweinchen (HUEBNER und KRAUS, 2006) und Schafen (LU *et al.*, 2006) zeigen Anstiege von C2C bei den Tieren mit induzierter OA oder Knorpelläsionen auch über einen längeren Zeitraum hinweg.

Dagegen wiesen klinische Studien aus der Humanmedizin widersprüchliche Ergebnisse auf. So waren C2C-Konzentrationen in Serum und Urin in einem Zeitraum von 2 Jahren nicht prognostisch für einen mittels MRT nachgewiesenen Verlust des Knorpelvolumens in Kniegelenken (HUNTER *et al.*, 2007; BERRY *et al.*, 2010). KING *et al.* (2004) konnten jedoch eine positive Korrelation der MRT-Befunde des Knorpels mit C2C-Konzentrationen im Serum von Patienten mit OA des Kniegelenks feststellen.

Eine Studie zur unilateralen Gonarthrose konnte keine Assoziation zwischen C2C-Konzentrationen in Plasma und der röntgenologisch festzustellenden Verengung des Gelenkspaltes über 30 Monate nachweisen (MAZZUCA *et al.*, 2006). FRASER *et al.* (2003) fanden eine Korrelation von C2C in der Synovia von osteoarthritischen Knien zu CRP, TNF- $\alpha$ , MMP-1 und dem Grad der Bewegungseinschränkung des Gelenks. Eine umfassende Untersuchung von CIBERE *et al.* (2009) ergab, dass, verglichen mit gesunden Kontrollen, das Risiko für eine später radiologisch evident werdende OA mit steigendem C2C-Gehalt im Urin der Probanden zunahm. Zudem war C2C nützlich, zwischen Patienten ohne OA und Patienten mit früher, nur magnetresonanztomographisch ersichtlicher, OA zu unterscheiden.

Bei Hunden mit experimentell induzierter OA konnten signifikante Anstiege von C2C in Serum, Urin oder Synovia beobachtet werden. In Serum und Synovia war C2C 3 und 12 Wochen nach der Transsektion des Lcc und in Urin nach 12 Wochen erhöht (MATYAS *et al.*, 2004). In Langzeitstudien fanden CHU *et al.* (2002) erhöhte C2C-Werte in Synovia 4, 8 und

16 Wochen nach der induzierten Ruptur des Lcc, und von GORANOV *et al.* (2007) wurden erhöhte C2C-Konzentrationen bis 105 Tage danach im Serum von Hunden nachgewiesen.

In einer klinischen Studie an Hunden mit Ruptur des Lcc konnten dagegen keine signifikanten Unterschiede von C2C-Konzentrationen in Serum, Urin und Synovia im Vergleich zu gesunden Tieren festgestellt werden. Es bestand keine Korrelation zum klinischen Grad der Erkrankung (HAYASHI *et al.*, 2009).

PRINK *et al.* (2010) bestimmten die C2C-Konzentrationen in der Synovia von Hunden mit ED. Gegenüber gesunden Kontrolltieren konnten signifikant erhöhte Werte ermittelt werden. Es bestand eine positive Korrelation zu arthroskopisch ermittelter Knorpelläsion.

POOLE *et al.* (2004) entwickelten einen CII-spezifischen kompetitiven ELISA der auf einem monoklonalen Antikörper gegen C2C basiert. Der ELISA wurde auch für die Anwendung beim Hund beschrieben (CHU *et al.*, 2002) und ist inzwischen kommerziell erhältlich. Die Hersteller geben eine breite Kreuzreaktion für den Antikörper an, der damit auch canines C2C erkennt.

## **3 Eigene Untersuchungen**

### **3.1 Ziel der Studie**

Es sollte geklärt werden, ob sich MPO, CRP, HA und C2C in Synovia oder Serum als diagnostische Marker für osteoarthritische Prozesse beim Hund eignen, und ob anhand der Konzentrationen bzw. Aktivitäten der Marker zwischen gering- und hochgradiger OA unterschieden werden kann.

Mit dieser Zielsetzung wurden die Konzentration bzw. Aktivitäten der Marker zwischen Tieren mit gesunden und osteoarthritisch veränderten Gelenken verglichen. Es wurde geprüft, ob Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen der Synoviauntersuchung, den klinisch-orthopädischen, röntgenologischen oder intraoperativen Befunden und den Aktivitäten oder Konzentrationen von MPO, CRP, HA und C2C in Synovia und Serum bestehen. Anhand der erhobenen Befunde wurden die Gelenke in drei Ausprägungsgrade der OA eingestuft. Es wurde untersucht, ob zwischen Gelenken ohne, mit gering- und mit hochgradiger OA Unterschiede in den Konzentrationen bzw. Aktivitäten der Marker vorlagen. Um zu prüfen, ob die alleinige Bestimmung von Serum zu zuverlässigen Aussagen führen kann, wurden die Konzentrationen bzw. Aktivitäten in Synovia und Serum verglichen. Unter Einbeziehung von jeweils 2 Markern wurden Quotienten errechnet und in Bezug zu den Ausprägungsgraden der OA gesetzt. Die Marker-Konzentrationen bzw. -aktivitäten in Synovia und Serum bei den unterschiedlichen Ausprägungsgraden der OA wurden in einigen Fällen über einen Zeitraum von 16 Wochen post operationem dargestellt. Für die HA-Messungen der eigenen Synoviaproben wurde ein kommerzieller ELISA validiert.

### **3.2 Material und Methoden**

#### **3.2.1 Patienten**

In die Studie einbezogen wurden Hunde, die von Februar 2009 bis Juli 2010 aufgrund unterschiedlicher primärer Erkrankungen des Schulter-, Ellenbogen- oder Kniegelenks in der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin vorgestellt und chirurgisch versorgt wurden. Die Hunde waren verschiedener Rassen, verschiedenen Alters und Geschlechts und wiesen Körpergewichte von über 10 kg auf.

Serumproben der OA-Patienten wurden gesammelt. Die Gelenke wurden zur Gewinnung von Synovia intra operationem kurz vor Öffnung der Gelenkkapsel oder dem Einbringen der Instrumente bei arthroskopischen Eingriffen punktiert. Acht und/oder 16 Wochen post operationem wurden klinische Kontrolluntersuchungen durchgeführt. Wiederholte Gelenkpunktionen zu diesen Zeitpunkten dienten einer routinemäßigen Beurteilung des Heilungserfolgs wobei die Gesamtzellzahl in der Synovia bestimmt wurde. Die anfallenden Synoviareste wurden zur Bestimmung der Aktivitäten bzw. Konzentrationen von MPO, CRP, HA und C2C verwendet.

In die Kontrollgruppe wurden Tiere aufgenommen, die keine klinisch-orthopädischen und röntgenologischen Anzeichen einer OA aufwiesen. Die Tiere wurden aus anderen Gründen eingeschläfert und die Gelenkpunktion erfolgte post mortem. Als Kontrollen dienten zusätzlich die Probenreste von Tieren, deren Gelenke im Zuge diagnostischer Verfahren punktiert wurden, sich eine Gelenkerkrankung aber nicht bestätigte.

Die Befunde wurden je Tier in einem Patientenprotokoll dokumentiert.

### **3.2.2 Anamnese**

In der Anamnese wurden Daten über das Signalement, die Haltung, den allgemeinen Gesundheits- und Impfstatus, die Art und Dauer der Beschwerden und etwaige traumatische Einwirkungen auf das Gelenk erhoben. Art und Dauer etwaiger medikamenteller Vorbehandlungen wurde dokumentiert.

### **3.2.3 Klinische Allgemeinuntersuchung**

In der klinischen Allgemeinuntersuchung wurden der Status praesens wie Schleimhäute (Farbe, Feuchtigkeit, Kapilläre Füllungszeit), Palpation der Lymphknoten (Größe, Konsistenz, Verschieblichkeit), Palpation des Pulses (Frequenz, Intensität, Rhythmus), Auskultation von Herz (Frequenz, Intensität, Rhythmus, Abgesetztheit, Geräusche) und Lunge (Geräusche), Beurteilung der Atmung (Frequenz, Intensität, Qualität), Messung der rektalen Körpertemperatur, Palpation des Abdomen (Spannungszustand, Dolenz) beurteilt. Bei pathologischen Veränderungen wurden auch die Befunde von Haut- und Haarkleid, Augen, Ohren und Nase, Maulhöhle und Zähnen, Respirations-, Verdauungs- und Urogenitaltrakt und des Nervensystems protokolliert.

### **3.2.4 Orthopädische Untersuchung**

Zunächst wurde eine allgemeine orthopädische Untersuchung des gesamten Bewegungsapparates durchgeführt. Dem folgte eine spezielle orthopädische Untersuchung der erkrankten Gliedmaße. Der Lahmheits-, Schmerzhaftigkeits-, Gelenkfüllungs- und Krepitationsbefund des Gelenks wurden in Anlehnung an PETERSON und KEEFE (2004), BAUER (2006), HANSON *et al.* (2006) und HAZEWINDEL *et al.* (2008) graduiert.

#### **3.2.4.1 Lahmheit**

- Grad 0: Gleichmäßige Belastung, keine Lahmheit
- Grad 1: Undeutliche geringgradige Lahmheit: kaum gestörter Bewegungsablauf
- Grad 2: Deutliche geringgradige Lahmheit: gestörter Bewegungsablauf, aber stetige Belastung der Gliedmaße
- Grad 3: Mittelgradige Lahmheit: gestörter Bewegungsablauf, keine stetige Belastung der Gliedmaße
- Grad 4: Hochgradige Lahmheit: gestörter Bewegungsablauf, keine Belastung der Gliedmaße

#### **3.2.4.2 Schmerzhaftigkeit**

- Grad 0: Keine Schmerzhaftigkeit
- Grad 1: Schmerz bei maximaler Flexion/Extension auslösbar
- Grad 2: Schmerz bei geringgradiger Manipulation auslösbar
- Grad 3: Schmerz bei Berührung

#### **3.2.4.3 Gelenkfüllung**

Der Füllungszustand des Schultergelenks ist nicht palpierbar.

Die Ellenbogengelenke wurden am stehenden Hund untersucht. Beurteilt wurde der Füllungszustand lateral zwischen Epicondylus lateralis humeri und Olekranon.

- Grad 0: Keine vermehrte Gelenkfüllung: die Knochenpunkte sind deutlich vom umgebenden Gewebe abgegrenzt
- Grad 1: Geringgradig vermehrte Gelenkfüllung: die Knochenpunkte sind gut vom umgebenden Gewebe abgegrenzt; zwischen Epicondylus lateralis humeri und Olekranon ist eine diffuse Schwellung palpierbar

- Grad 2: Mittelgradig vermehrte Gelenkfüllung: die Konturen der Knochenpunkte und der Gelenkkapsel gehen ineinander über
- Grad 3: Hochgradig vermehrte Gelenkfüllung: zwischen den Knochenpunkten ist eine deutliche Hervorwölbung der Gelenkkapsel palpierbar

Die Kniegelenke wurden am stehenden und liegenden Tier untersucht.

- Grad 0: Keine vermehrte Gelenkfüllung: Ligamentum patellae deutlich vom umliegenden Gewebe abgrenzbar
- Grad 1: Geringgradig vermehrte Gelenkfüllung: Ligamentum patellae lateral und medial noch deutlich abgrenzbar, Gelenkkapsel erscheint geringgradig vorgewölbt
- Grad 2: Mittelgradig vermehrte Gelenkfüllung: deutliche Schwellung beidseits des Ligamentum patellae palpierbar, Band nur bei Flexion tastbar
- Grad 3: Hochgradig vermehrte Gelenkfüllung: Ligamentum patellae nicht abgrenzbar

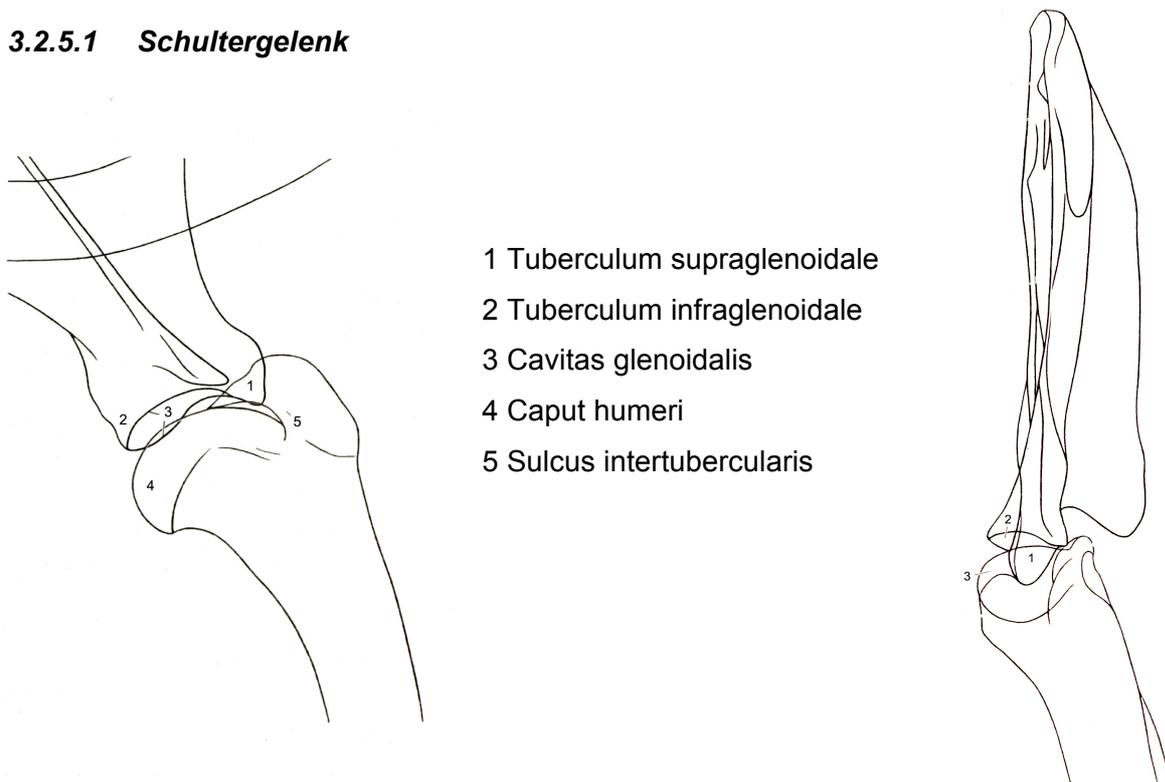
### **3.2.4.4 Krepitation**

- Grad 0: Keine Krepitation auslösbar
- Grad 1: Geringgradige Krepitation: nur bei starker Manipulation des Gelenks (Hyperflexion/Hyperextension) auslösbar
- Grad 2: Mittelgradige Krepitation: bei mäßiger Manipulation (Flexion/Extension) auslösbar
- Grad 3: Hochgradige Krepitation: bei geringer Manipulation auslösbar

### **3.2.5 Röntgenologische Untersuchung**

Von den Gelenken wurden Röntgenaufnahmen in zwei Ebenen (mediolateral und kaudokranial) angefertigt. Die Auswertung und Graduierung der röntgenologischen Untersuchung des Schultergelenks erfolgte nach LJUNGGREN und OLSSON (1975), MORGAN *et al.* (1987) und AKERBLOM und SJÖSTRÖM (2007), die des Ellenbogengelenks wurde in Anlehnung an die IEWG (HAZEWINKEL, 2008) durchgeführt und die des Kniegelenks nach BRUNNBERG (1987).

### 3.2.5.1 Schultergelenk



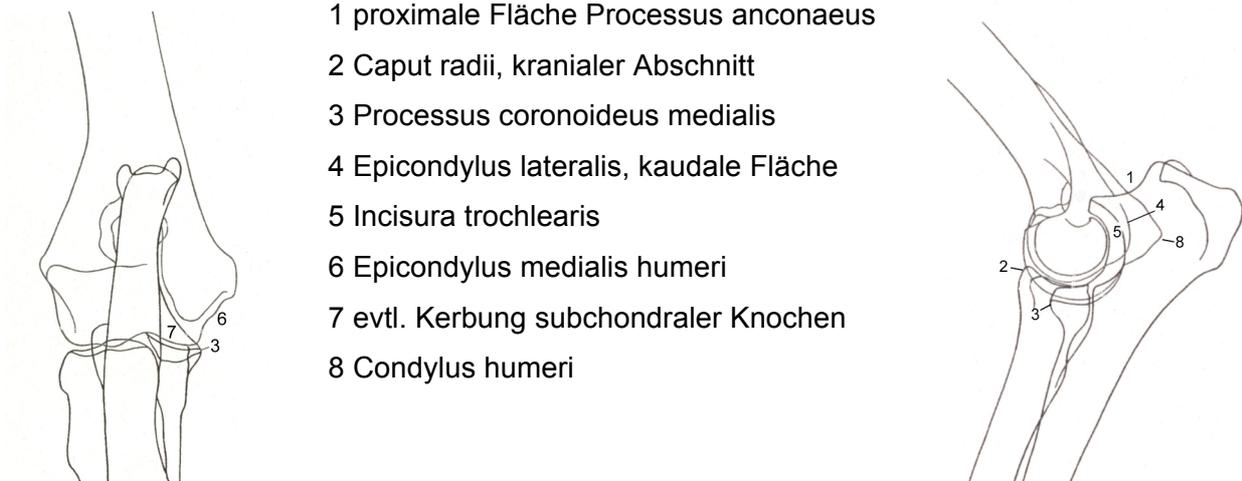
**Abbildung 3-1:** Beurteilung osteoarthritischer Veränderungen auf Basis der Röntgenuntersuchung des Schultergelenks. Abbildung nach WAIBL und BRUNNBERG (2003).

Folgende Lokalisationen werden beurteilt: Tuberculum infraglenoidale, Cavitas glenoidalis (v.a. kaudaler Rand), Ursprung des M. biceps brachii am Tuberculum supraglenoidale, Caput humeri (v.a. kaudaler Rand), Enthesiophyten oder Osteophyten im Bereich der Bizepssehne (Sulcus intertubercularis).

- Grad 0: Keine Anzeichen für osteoarthritische Veränderungen in den angegebenen Lokalisationen: einheitliche Knochendichte des Caput humeri und abgerundete Kontur; deutliche Kontur des Tuberculum infra- und supraglenoidale und des Sulcus intertubercularis
- Grad 1: Geringgradige osteoarthritische Veränderungen: Abflachung und Rauigkeit oder Aufhellung kaudaler Anteil Caput humeri; Osteophyten von 1-2 mm Durchmesser an den angegebenen Lokalisationen
- Grad 2: Mittelgradige osteoarthritische Veränderungen: Sklerotischer Randsaum oder deutlichere Abflachung des Caput humeri; Knorpelschuppe oder Flap; Osteophyten von 2-4 mm Durchmesser, mit oder ohne milder Sklerosierung des subchondralen Knochens an den angegebenen Lokalisationen
- Grad 3: Hochgradige osteoarthritische Veränderungen: unscharfe Kontur und

nasenförmige Ausziehung im Bereich Tuberculum infraglenoidale, Sulcus intertubercularis und kaudaler Rand Caput humeri; Corpora libra; Osteophyten >4 mm Durchmesser, mit Sklerosierung des subchondralen Knochens an den angegebenen Lokalisationen

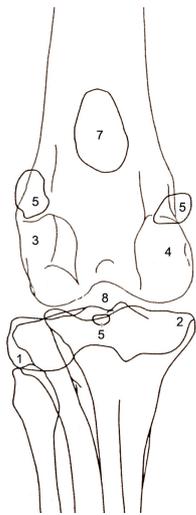
### 3.2.5.2 Ellenbogengelenk



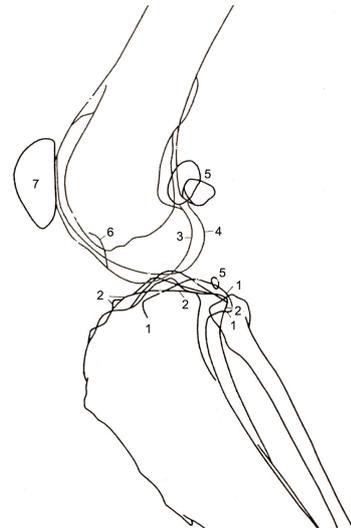
**Abbildung 3-2:** Beurteilung osteoarthritischer Veränderungen auf Basis der Röntgenuntersuchung der Ellenbogengelenke. Abbildung nach WAIBL und BRUNNBERG (2003).

- Grad 0: Keine Anzeichen für Osteophyten oder Osteosklerose
- Grad 1: Geringgradige osteoarthritische Veränderungen: Osteophyten < 2 mm Größe an einer oder mehreren der Lokalisationen 1 bis 8 oder Osteosklerose
- Grad 2: Mittelgradige osteoarthritische Veränderungen: Osteophyten 2-5 mm Größe an einer oder mehreren der Lokalisationen 1 bis 8
- Grad 3: Hochgradige osteoarthritische Veränderungen: Osteophyten > 5 mm Größe an einer oder mehreren Lokalisationen 1 bis 8

### 3.2.5.3 Kniegelenk



- 1 Condylus lateralis tibiae
- 2 Condylus medialis tibiae
- 3 Condylus lateralis ossis femoris
- 4 Condylus medialis ossis femoris
- 5 Ossa sesamoidea
- 6 Fossa extensoria
- 7 Patella
- 8 Eminentia intercondylaris



**Abbildung 3-3:** Beurteilung osteoarthritischer Veränderungen auf Basis der Röntgenuntersuchungen der Kniegelenke. Abbildung nach WAIBL *et al.* (2003).

- Grad 0: Keine Anzeichen für OA: Tibiakondylen scharf konturiert; Eminentia intercondylaris deutlich erhaben; nur kaudale Begrenzung des Sulcus extensorius erkennbar; Femurkondylen und Ossa sesamoidea scharf konturiert; Femurkondylen kaudal stärker gekrümmt; Fossa extensoria als kleine Grube erkennbar; Patella scharf konturiert; Basis und Apex patellae leicht angeschrägt und glatt
- Grad 1: Geringgradige OA: Tibiakondylen unscharf konturiert, oder Eminentia intercondylaris abgeflacht, oder kaudale und kraniale Begrenzung des Sulcus extensorius erkennbar; Femurkondylen oder Ossa sesamoidea unscharf konturiert, oder die Fossa extensoria als große Grube erkennbar; Patella unscharf konturiert; Basis und Apex patellae glatt, keine Auflagerungen
- Grad 2: Mittelgradige OA: Tibiakondylen unscharf konturiert; Eminentia intercondylaris abgeflacht; Grenzen des Sulcus extensorius deutlich erkennbar; Femurkondylen und Ossa sesamoidea unscharf konturiert; Fossa extensoria als große Grube erkennbar; Auflagerungen seitlich am Condylus lateralis respektive medialis erkennbar; Patella unscharf konturiert; Basis oder Apex patellae durch Auflagerungen ausgezogen
- Grad 3: Hochgradige OA: Tibiakondylen unscharf konturiert; Eminentia intercondylaris abgeflacht; Sulcus extensorius deutlich begrenzt; Tibiakopf durch Auflagerungen kaudal balkonartig ausgezogen; Femurkondylen und Ossa

sesamoidea unscharf konturiert; Fossa extensoria groß; Auflagerungen an Ossa sesamoidea, an Kondylen und in Trochlea ossis femoris nachweisbar; Femurkondylen abgeflacht; Patella unscharf konturiert; Basis und Apex patellae durch Auflagerungen ausgezogen

### 3.2.6 Hämatologische Untersuchung und Gewinnung von Serum

Um die Narkosefähigkeit des Tieres zu prüfen, wurde u.a. Blut aus der Vena cephalica, der Vena saphena oder der Vena jugularis entnommen und in ein EDTA-, ein Lithium-Heparinat- und ein Serumröhrchen verbracht.

Das rote Blutbild wurde aus EDTA-Blut mit dem automatisierten Analysegerät XT-2000iV (Sysmex Deutschland GmbH, Norderstedt) angefertigt. Folgende Parameter wurden bestimmt: Leukozyten- (WBC), Erythrozyten- (RBC), Thrombozytenzahlen (PLT), Erythrozytenindices (MCV, MCH, MCHC), Hämatokrit (Hkt) und Hämoglobinkonzentration (Hb).

**Tabelle 3-1:** Referenzbereiche für die hämatologische Untersuchung nach KRAFT (2005b).

Parameter	Einheit	Minimum	Maximum
WBC	G/l	6	12
RBC	T/l	5,5	8,5
Hb	g/dl	13,2	19
Hkt	%	40	55
MCV	fl	60	77
MCH	pg	21	27
MCHC	g/dl	32	36
PLT	G/l	150	500

Nach Zentrifugation des heparinisierten Vollbluts bei 6500 g für 3 Minuten wurde aus dem Heparinplasma eine klinisch-chemische Untersuchung in dem Analysegerät Konelab 30i (Thermo Electron GmbH, Dreieich) durchgeführt. Routinemäßig wurden Natrium, Kalium, Glukose, Harnstoff, Kreatinin, Protein, Albumin, Magnesium, Chlorid, Phosphor, Bilirubin, die Leberenzyme Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST), Alkalische Phosphatase (AP) und Glutamatdehydrogenase (GLDH) bestimmt.

**Tabelle 3-2:** Referenzbereiche für die klinisch-chemischen Blutparameter nach KRAFT (2005b).

Parameter	Einheit	Minimum	Maximum
Natrium	mmol/l	140	155
Kalium	mmol/l	3,5	5,2
Glukose	mg/dl	55	120
Harnstoff	mg/dl	20	50
Kreatinin	mg/dl	0,4	1,2
Calcium	mmol/l	2,3	3,0
Phosphor	mmol/l	0,7	1,6
ALT	IU/l	0	55
AST	IU/l	0	44
AP	IU/l	0	108
GLDH	IU/l	0	6
Bilirubin	mg/dl	0	0,2
Protein	g/dl	5,4	7,5
Albumin	g/dl	2,5	4,4

Das Serum wurde aus koaguliertem Vollblut nach Zentrifugation (1100 g, 5 Minuten) gewonnen und bei -80°C tiefgefroren.

### 3.2.7 Makroskopische Untersuchung des Gelenks intra operationem

Nach Arthrotomie oder bei der Arthroskopie wurden die Gelenkkapsel mit Synovialmembran, der Gelenkknorpel und die knöchernen Strukturen makroskopisch beurteilt und die Befunde graduiert.

#### 3.2.7.1 Gelenkkapsel und Synovialmembran

- Grad 0: Gelenkkapsel dünn, elastisch; Synovialmembran feucht, glatt und glänzend
- Grad 1: Gelenkkapsel dünn, elastisch; Synovialmembran gerötet, geringgradige villöse Hypertrophie
- Grad 2: Gelenkkapsel verdickt, derb elastisch; Synovialmembran gerötet, mittelgradige villöse Hypertrophie
- Grad 3: Gelenkkapsel fibrotisch; Synovialmembran deutlich gerötet, hochgradige villöse Hypertrophie

### **3.2.7.2 Gelenkknorpel**

- Grad 0: Gelenkknorpel einheitlich weiß, feucht, glatt, glänzend
- Grad 1: Gelenkknorpel teilweise verfärbt, erkennbare Rauigkeiten
- Grad 2: Gelenkknorpel fleckig, von Usuren durchsetzt
- Grad 3: Gelenkknorpel partiell oder vollständig aufgefasert, Ulzerationen ersichtlich

### **3.2.7.3 Veränderungen der knöchernen Struktur**

- Grad 0: Knochen glatt, keine Auflagerungen
- Grad 1: Knochen im Ansatz der Gelenkkapsel aufgerauht
- Grad 2: Exostosenbildung erkennbar
- Grad 3: Ausgeprägte Exostosenbildung

### **3.2.8 Gewinnung und Untersuchung von Synovia**

Die Gelenkflüssigkeit wurde entweder vor Öffnung der Gelenkkapsel intra operationem oder über eine perkutane Arthrozentese (Kapitel 2.5) gewonnen.

Sie wurde makroskopisch nach Farbe und etwaiger Trübung beurteilt. Die aspirierte Menge wurde gemessen und das Volumen in Millilitern (ml) angegeben.

Die Viskosität wurde als Fadenlänge eines von der Kanülenspitze abfallenden Synoviatropfens beurteilt und graduiert:

- Grad 0: Viskosität normal; fadenziehend > 5 cm Länge
- Grad 1: Viskosität geringgradig vermindert; fadenziehend 2-5 cm Länge
- Grad 2: Viskosität vermindert; fadenziehend < 2 cm
- Grad 3: Viskosität hochgradig vermindert; wässrig, nicht fadenziehend

Die Gesamtzellzahl der Synovia wurde manuell in einer Neubauer Zählkammer bestimmt. Dazu wurde die Synovia in einer Standardleukozytenpipette mit 0,9%-iger Natriumchloridlösung verdünnt (1:10) und mit 1% Methylenblaulösung (Giemsas Azur-Eosin-Methylenblaulösung, Merck KGaA, Darmstadt) gefärbt. Die Auszählung wurde analog zu der Leukozytenzählung in vier Großquadraten vorgenommen. Das Ergebnis wurde mit 25 multipliziert, um die Gesamtzellzahl in Zellen/ $\mu$ l angeben zu können.

Anschließend wurde die Synovia bei 200 g für 10 Minuten zentrifugiert, der zellfreie Überstand in Eppendorfröhrchen verbracht und bei -80°C tiefgefroren.

### 3.2.9 Einteilung in Ausprägung der Osteoarthritis

Aufgrund der Befunde der orthopädischen, röntgenologischen und intraoperativen Untersuchungen des jeweiligen Gelenks sowie der Viskosität der Synovia wurden die Patienten in drei Gruppen eingeteilt. Die einzelnen Grade der Befunde wurden dazu je Patient addiert.

- Grad 0: keine Osteoarthritis; Gesamtgrad 0
- Grad 1: geringgradige/frühe Osteoarthritis; Gesamtgrade 1 bis 8
- Grad 2: hochgradige/fortgeschrittene Osteoarthritis; Gesamtgrade 9 bis 28

### 3.2.10 Bestimmung der Myeloperoxidase-Aktivität

Die Aktivität der MPO in Serum und Synovia wurde photometrisch mit einem für den Hund modifizierten o-Dianisidine-Assay nach KUMAR *et al.* (2002) bestimmt. Die Messungen wurden eigenständig im Institut für Veterinär-Biochemie der Freien Universität Berlin durchgeführt.

Das Substrat für eine Probe wurde aus

- 0,08 M Citratpuffer (pH 5,5)
- 0,1 % Triton X-100 (Triton<sup>®</sup> X-100, Ferak Berlin GmbH, Berlin)
- 0,65 mM o-Dianisidine (o-Dianisidine, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen) in 1 ml DMSO (Dimethylsulfoxid, Merck KGaA, Darmstadt)

hergestellt.

Die Synovia- und Serumproben wurden mit Citratpuffer (pH 5,5) auf 1:3 bzw. 1:10 verdünnt. Je 30 µl der verdünnten Probe wurden mit Substrat und 0,08 M Citratpuffer versetzt und im Doppelansatz bestimmt. In einem weiteren Ansatz wurde statt des Citratpuffers 30 µM eines spezifischen MPO-Inhibitors (ABAH, Myeloperoxidase Inhibitor 1, Calbiochem, Bad Soden) zur Bestimmung der Restperoxidase-Aktivität eingesetzt.

Die Reaktion wurde mit 0,43 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Wasserstoffperoxid 30% wt.% sol. in H<sub>2</sub>O, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen) gestartet. Unverzöglich wurden die Ansätze in je ein Well einer 96-Well-Mikrotiterplatte pipettiert und die Absorption bei einer Wellenlänge von 450 nm in einem Photometer (Microplate Reader Model 550, BioRad Laboratories GmbH, München) bestimmt. Die Absorption wurde alle 5 Minuten über einen Zeitraum von 25 Minuten gemessen.

Zu Beginn jeder Messreihe wurde als Standard eine Doppelmessung mit 7 µM reiner MPO (Myeloperoxidase, Calbiochem, Bad Soden) vorgenommen.

Die Gesamtperoxidase-Aktivität wurde nach folgender Gleichung berechnet:

$$\text{Peroxidase-Aktivität [U/ml]} = \frac{\Delta E \times V}{t \times \varepsilon \times d \times v}$$

$\Delta E$	$E_{25 \text{ min}} - E_{0 \text{ min}}$
$V$	eingesetztes Endvolumen [ml]
$t$	Zeit [min]
$\varepsilon$	spezifischer Extinktionskoeffizient [ $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ]
$d$	Schichtdicke der Küvette [cm]
$v$	Probenvolumen [ml]

Der Extinktionskoeffizient bei einer Wellenlänge von 450 nm beträgt  $11,48 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  (LAMMER, 2001; SPELLMEYER, 2003).

Zur Berechnung der MPO-Aktivität wurde die Aktivität anderer Peroxidasen bei inhibierter MPO von der Gesamtperoxidase-Aktivität subtrahiert. Die Verdünnung der Proben wurde in der Berechnung der Aktivität berücksichtigt, das Ergebnis wird in mU/ $\mu\text{l}$  angegeben.

### 3.2.11 Bestimmung der Konzentration von C-reaktivem Protein

Zur Bestimmung der Konzentrationen von CRP in Serum und Synovia wurde ein kommerzieller ELISA (Tridelta Phase™ CRP Canine Assay, Tridelta Development Ltd., Kildare, UK) eingesetzt, der durch KJELGAARD-HANSEN *et al.* (2003b) zur Verwendung von caninem Serum validiert wurde. Die Validierung für Synovia von Hunden steht noch aus. Beim Testkit handelt sich um einen Festphasen-Sandwich Immunoassay. Das CRP der Proben oder Standards bindet an die beschichteten Mikrotiterplatten. Ungebundenes Material wird durch einen Waschschrift entfernt und das mit Meerrettich-Peroxidase markierte anti-canine-CRP-Antikörperkonjugat wird hinzugegeben. Nach einem weiteren Waschschrift wird Tetramethylbenzidin (TMB)-Substrat zugefügt. Die resultierende Farbentwicklung ist proportional zur CRP-Konzentration in der Probe. Die Reaktion wird nach 15 Minuten durch Zugabe einer Stop-Lösung beendet, und die Extinktion unmittelbar mit einem Photometer bei 450 nm gemessen.

Der Test wurde entsprechend der Angaben des Herstellers durch die Fa. TECOmedical GmbH (Bünde) ausgeführt. Die Proben wurden in einer Verdünnung von 1:500 als Einfachwerte gemessen. Die Angabe der Konzentration erfolgt in  $\mu\text{g/ml}$ .

### **3.2.12 Bestimmung der Konzentration von Hyaluronsäure**

Die HA-Konzentrationen in Serum und Synovia wurden mit einem kommerziellen ELISA (TECO<sup>®</sup> Hyaluronic Assay, TECOmedical GmbH, Bünde, Deutschland) gemessen. Nach Herstellerangaben besteht eine speziesübergreifende Kreuzreaktivität, so dass der Test zur Bestimmung der HA-Konzentrationen in biologischen Flüssigkeiten wie Serum, Urin oder Synovia von Mensch, Hund, Pferd, Ratte u.a. eingesetzt werden kann. Zur Überprüfung der Qualität des Assay bei Verwendung von caniner Synovia wurde der Assay an den eigenen Proben validiert. Die Messungen wurden eigenständig im Institut für Veterinär-Biochemie der Freien Universität Berlin durchgeführt.

Bei dem angewandten Test handelt es sich um einen kompetitiven ELISA zur quantitativen Bestimmung von HA, bei dem ein HA spezifisches biotinyliertes Bindungsprotein (Biotin-HABP) und mit HA beschichtete Mikrotiterplatten verwendet werden. Das Biotin-HABP bindet an die immobilisierte HA, wenn es nicht von freier HA der Probe gesättigt wurde. Nach einer Inkubation über 90 Minuten bei Raumtemperatur und dem anschließenden Waschschrift wird ein Streptavidin-Peroxidase Konjugat (SA-HRP) zugegeben. Dieses bindet an Biotin-HABP. Es erfolgt eine weitere Inkubation bei Raumtemperatur über 30 Minuten mit anschließendem Waschschrift. TMB-Substrat-Lösung wird hinzugegeben und die Platte bei Raumtemperatur in einem dunklen Raum erneut für 20 Minuten inkubiert.

Die Reaktion wird durch Zugabe von 0,5 M HCl gestoppt. Die Extinktion der Farbentwicklung wird direkt im Anschluss photometrisch bei 450 nm gemessen. Die optische Dichte (OD) ist umgekehrt proportional zu der HA-Konzentration in der Probe.

Die Messungen erfolgten in 5 Ansätzen, bei denen jeweils eine Standardkurve erstellt wurde. Zur Ermittlung der Standardkurve wurden 6 vom Hersteller vorgegebene Standards verwendet. Eine Kontrolle wurde mitgeführt. Standards und Kontrollen wurden doppelt gemessen.

In Vorversuchen wurde bereits festgestellt, dass bei Einsatz unverdünnter oder wenig verdünnter Synoviaprobe (1:100) die OD außerhalb der Standardkurve lag. Daher wurde zunächst die optimale Verdünnung in Verdünnungsreihen ermittelt. Es wurden Synoviaprobe eines OA-kranken und eines gesunden Gelenks verwendet, um ein weites Spektrum von HA-Konzentrationen einzubeziehen. Die Verdünnungen 1:1000, 1:2500 und 1:5000 wurden jeweils als Doppelwerte bestimmt. Bei einer Verdünnung von 1:5000 lagen die OD im mittleren Bereich der Standardkurve. Diese Verdünnung wurde jeweils in zwei Schritten hergestellt und für die weiteren Messungen angewandt. Für den Assay wurden jeweils 30 µl der verdünnten Probe eingesetzt.

Zur Überprüfung der Fehleranfälligkeit bei Erstellung der Verdünnungen wurden 3 Proben wiederholt verdünnt und die Abweichungen zwischen den Verdünnungen bestimmt. Es wurden hierfür Synoviaprobe mit hoher Viskosität verwendet.

Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wurde geprüft. Zur Bestimmung der Inter-Assay Präzision wurde eine Synoviaprobe und eine vom Hersteller vorgegebene Kontrolle bei jedem Ansatz mitgeführt. Die Intra-Assay Präzision wurde durch die Mehrfachmessung einer Synoviaprobe ermittelt.

Als externe Kontrolle wurden einige Messungen von Synoviaprobe (Verdünnung 1:5000) durch die Fa. TECOmedical GmbH (Bünde) wiederholt. Die ermittelten Konzentrationen wurden vergleichend gegenübergestellt.

Die Serumproben wurden unverdünnt eingesetzt und im Doppelansatz gemessen.

Alle Konzentrationen werden in  $\mu\text{g/ml}$  angegeben, die Verdünnungen wurden bei Angabe der Konzentration berücksichtigt.

### **3.2.13 Bestimmung der Konzentration von C2C**

Die Konzentrationen von C2C in Serum und Synovia wurden mit einem kommerziellen ELISA (Collagen Type II Cleavage ELISA, IBEX Pharmaceuticals Inc., Montreal, Canada) nach Angaben des Herstellers bestimmt.

Der Assay ist ein kompetitiver Immunoassay bei dem ein synthetisches C2C Peptid mit Protein konjugiert wird. Mit dem Konjugat wird die Mikrotiterplatte beschichtet. In einem zweiten Schritt wird das Probenmaterial oder der Standard mit spezifischen Maus-IgG-Antikörpern gemischt und auf einer weiteren Mikrotiterplatte vorinkubiert, um eine Bindung des Antikörpers mit den freien C2C Peptiden zu ermöglichen. Anschließend werden diese Proben auf die vorbereitete Mikrotiterplatte übertragen. Hier erfolgt eine Bindung des Antikörpers mit dem C2C Peptid Konjugat, den C2C Standards oder dem endogenen Neoepitop in den Proben. Nach einem Waschschrift wird ein Ziege-anti-Maus-Antikörper hinzugegeben, der mit Meerrettich-Peroxidase markiert ist. Dieser bindet an den Maus-Antikörper auf der Mikrotiterplatte. Nach einem weiteren Waschschrift wird TMB beigemischt. Die Reaktion wird durch Säurezugabe nach 30 Minuten gestoppt. Die entstehende Farbreaktion wird bei 450 nm photometrisch gemessen. Die OD ist umgekehrt proportional zur Neoepitopmenge in der Probe. Die Konzentration wird in  $\text{ng/ml}$  angegeben.

Aufgrund der geringen Menge des zur Verfügung stehenden Probenmaterials konnten nur Einfachmessungen erfolgen. Die Proben wurden im Verhältnis 1:2 verdünnt. Der Assay wurde durch die Fa. TECOmedical GmbH (Bünde) ausgeführt.

### 3.3 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse und graphische Darstellung der Daten wurde mit Hilfe des Statistikprogramms PASW Statistics 18.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois) vorgenommen.

Für die Beschreibung der Daten wurden der Median ( $x_{0,5}$ ), das arithmetische Mittel ( $\bar{x}$ ), Minimum und Maximum verwendet. Für die Bestimmung der Präzision im Zuge der Validierung des HA-Assay wurden die Standardabweichung (SD) und der Variationskoeffizient (CV%) berechnet. Akzeptabel waren ein CV% von 10-15% für die Inter-Assay Präzision und  $\leq 10\%$  für die Intra-Assay Präzision.

Die grafischen Darstellungen erfolgten durch Kreis-, Balken- und Streudiagramme sowie durch Boxplots. Letztere strukturieren sich wie folgt: Die Box beinhaltet Werte zwischen dem unteren ( $x_{0,25}$ ) und dem oberen Quartil ( $x_{0,75}$ ). Der Median wird als Querstrich innerhalb der Box angegeben. Der untere und der obere Whisker entsprechen maximal dem 1,5-fachen Interquartilsabstand. Durch einen Kreis gekennzeichnete Ausreißer liegen zwischen dem 1,5-fachen und 3-fachen Interquartilsabstand, durch einen Stern gekennzeichnete Extremwerte liegen außerhalb des 3-fachen Interquartilsabstand.

Zur Bestimmung der Korrelation der Parameter in Serum und Synovia wurde der Spearmans-Korrelationskoeffizient ( $r_s$ ) berechnet. Mit einem Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  wurde geprüft, ob die Korrelationskoeffizienten von Null verschieden waren. Koeffizienten von  $\leq 0,2$ ,  $\leq 0,5$ ,  $\leq 0,7$ ,  $\leq 0,9$  und  $> 0,9$  entsprachen einer sehr schwachen, schwachen, mittleren, starken oder sehr starken Korrelation (BÜHL, 2010). Zur Veranschaulichung bestimmter Zusammenhänge wurden Streudiagramme erstellt.

Eine Normalverteilung kann für die zugrunde liegenden Daten nicht unterstellt werden. Die Gruppenvergleiche zwischen den Markern und den klinischen Befunden wurden anhand des nicht-parametrischen Kruskal-Wallis-Tests zum Signifikanzniveau  $p < 0,05$  vorgenommen. Falls im Kruskal-Wallis-Test ein signifikanter Unterschied ermittelbar war wurden paarweise Vergleiche der Daten mit Bonferroni-Korrektur für multiples Testen durchgeführt.

Um zu untersuchen, ob die Aussagekraft der Marker hinsichtlich der Unterscheidung verschiedener Ausprägungen der OA zu verbessern ist, wurden aus jeweils zwei korrelierenden synovialen Markern Quotienten gebildet. Zur Vereinfachung der Darstellung wurden die Quotienten jeweils mit 1000 multipliziert. Die Quotienten (C2C/HA, MPO/HA, CRP/HA) wurden zur Differenzierung verschiedener Ausprägungsgrade der OA herangezogen.

## 4 Ergebnisse

Soweit nicht explizit dargestellt, werden die den Berechnungen zugrunde liegenden Zahlenwerte im Anhang aufgeführt.

### 4.1 Patienten und Kontrolltiere

Es wurden insgesamt 113 Gelenke von 105 Hunden unterschiedlicher Rassen, Geschlechter und Altersstufen in die Studie aufgenommen. 97 Gelenke von 92 an OA erkrankten Tieren wurden punktiert. Von 13 Hunden dienten insgesamt 16 Gelenke als Kontrollen: 7 (43,7%) Schulter-, 4 (25%) Ellenbogen- und 5 (31,3%) Kniegelenke. 12 Gelenke wurden von Hunden einbezogen, bei denen der anfängliche Verdacht einer Gelenkpathologie (wie OD/OCD, Mono- oder Polyarthritis, Borreliose) nicht bestätigt werden konnte. Die Hunde wiesen keine Anzeichen für systemische Erkrankungen auf. Vier weitere Gelenke ohne Hinweise auf OA stammen von Hunden, die aufgrund anderer Erkrankungen eingeschläfert wurden. Bei der Bestimmung der Biomarker wurden von diesen Tieren nur die Synoviaprobe verwendet, um eine Beeinflussung der Marker im Serum durch die vorliegenden Erkrankungen zu vermeiden.

Die Synoviaprobe von Hunden bei denen verschiedene Gelenke punktiert wurden sind jeweils gesondert gewertet. Da das Serum den Gesamtstoffwechsel reflektiert wurde das Serum dieser Hunde nur einfach einbezogen, um eine Gewichtung zu vermeiden.

Fünfzehn Gelenke wurden 8 Wochen nach der ersten Gelenkpunktion erneut punktiert (Punktion II). Bei 5 dieser Gelenke erfolgte eine dritte Punktion bei der Kontrolluntersuchung 16 Wochen (Punktion III) nach der chirurgischen Versorgung. Bei 12 Gelenken erfolgte nach der ersten Arthrozentese (Punktion I) eine weitere nach 16 Wochen.

#### 4.1.1 Rassen

Die 105 Hunde gehörten 31 verschiedenen Rassen an, 16 der Hunde waren Mischlinge. Die Häufigkeiten der Rassenverteilung bei der Patienten- und der Kontrollgruppe sind getrennt nach den Größen der Tiere aus der nachfolgenden Tabelle zu entnehmen (Tabelle 4-1). Für die Patientengruppe ergab sich damit eine Verteilung der Hundegrößen von 75 (81,5%) Hunden großwüchsiger, 16 (17,4%) mittelgroßer und 1 (1,1%) kleinwüchsiger Rassen.

**Tabelle 4-1:** Rasseverteilung der Hunde unter Berücksichtigung der Größen.

PATIENTENGRUPPE			
Großwüchsig			
Rasse	Anzahl	Rasse	Anzahl
Labrador	13	Akita Inu	1
Boxer	10	Bernhardiner	1
Rottweiler	9	Bobtail	1
Mischling groß	8	Bordeaux Dogge	1
Berner Sennhund	6	Cane Corso	1
Deutscher Schäferhund	4	Dalmatiner	1
Mastiff	4	Landseer	1
Deutsche Dogge	3	Mastino Napoletano	1
Golden Retriever	2	Neufundländer	1
Hovawart	2	Owtscharka	1
Riesenschnauzer	2	Schweizer Sennhund	1
AC Schäferhund	1		

Mittelgroßwüchsig			
Rasse	Anzahl	Rasse	Anzahl
Mischling mittel	5	Am. Staffordshire Terrier	1
Englische Bulldogge	3	Australian Shepherd	1
Beagle	2	Border Collie	1
Bracke	2	Chow Chow	1

Kleinwüchsig	
Rasse	Anzahl
Teckel	1

KONTROLLGRUPPE			
Großwüchsig			
Rasse	Anzahl	Rasse	Anzahl
Mischling groß	3	Dobermann	1
Boxer	2	Labrador	1
Deutscher Schäferhund	2	Mastiff	1
Rottweiler	2	Berner Sennhund	1

Von einer OCD des Schultergelenks waren folgende großwüchsige Hunderassen betroffen: Boxer (n=2), Labrador (n=2), Deutsche Dogge (n=1) und Bobtail (n=1). Eine Bizepstendinitis lag bei einem Hovawart vor.

Großwüchsige Hunde mit einem FPC waren Berner Sennhund (n=3), Labrador (n=2), Rottweiler (n=1), Golden Retriever (n=1), Deutscher Schäferhund (n=1) und Mischling groß

(n=1). Mittelgroßwüchsige Rassen waren je einmal mit Bracke und Australian Shepherd vertreten. Eine ED wurde bei den großwüchsigen Rassen Rottweiler (n=2), Riesenschnauzer (n=1) und Deutscher Schäferhund (n=1) diagnostiziert. Von einer OCD des Ellenbogengelenks waren mit Labrador (n=1) und Riesenschnauzer (n=1) ebenfalls großwüchsige Rassen betroffen. Ein Deutscher Schäferhund war an einem IPA erkrankt.

Bei den großwüchsigen Rassen mit einer Ruptur des Lcc waren vor allem Labrador (n=7), Mischling groß (n=7), Boxer (n=6), Rottweiler (n=6), Mastiff (n=4), Berner Sennhund (n=3) und Deutsche Dogge (n=2) vertreten. Je einmal kamen Cane Corso, Hovawart, Golden Retriever, Bernhardiner, Schweizer Sennhund, Deutscher Schäferhund, Bordeaux Dogge, Mastino, AC Schäferhund, Neufundländer, Owtscharka und Dalmatiner vor. Mittelgroßwüchsige Rassen mit einer Ruptur des Lcc waren Mischling mittel (n=4), Beagle (n=2), englische Bulldogge (n=2), Bracke (n=1) und Chow Chow (n=1). Als kleinwüchsige Rasse kam einmal Teckel vor. Großwüchsige Rassen mit einer Patellaluxation waren Boxer (n=2) und je einmal Akita Inu, und Landseer. Als mittelgroßwüchsige Rassen waren je einmal American Staffordshire Terrier, Border Collie, englische Bulldogge und Mischling mittel vertreten. Eine Gonitis lag bei einem Labrador vor.

#### 4.1.2 Alter

Bei der ersten Gelenkpunktion waren die Hunde der Patientengruppe zwischen 3 und 158 Monaten (13,2 Jahre) ( $x_{0,5}$  42,5;  $\bar{x}$  55,6) und die der Kontrollgruppe zwischen 4 und 148 Monaten (12,3 Jahre) ( $x_{0,5}$  43;  $\bar{x}$  69,9) alt. Es bestand kein signifikanter Altersunterschied zwischen den beiden Gruppen ( $p=0,543$ ). Die Altersverteilung bei den einzelnen primären Gelenkerkrankungen ist in Tabelle 4-2 dargestellt.

**Tabelle 4-2:** Altersverteilung bei verschiedenen primären Gelenkerkrankungen.

Primärerkrankung	Anzahl	Min-Max (Monate)	Median	Mittelwert
OCD Schulter	6	9-43	10,5	15,83
Bizepstendinitis	1	55	-	-
FPC	11	8-146	24	51,36
ED	4	9-116	84,5	73,5
OCD Ellenbogen	2	6-33	19,5	19,5
IPA	1	5	-	-
Ruptur Lcc	58	4-158	58	63,9
Patellaluxation	8	3-69	22,5	28,75
Gonitis	1	128	-	-

### 4.1.3 Geschlecht

Von den 92 erkrankten Hunden waren 48 Tiere männlich (52,2%), davon 11 kastriert, und 44 Tiere weiblich (47,8%), davon 11 kastriert. Bei den Kontrolltieren waren 8 Hunde männlich (61,5%), davon 2 kastriert, und 5 Hunde weiblich (38,5%) und davon 2 kastriert.

### 4.1.4 Körpergewicht

Das Körpergewicht der Tiere der Patientengruppe lag zwischen 10 und 75 kg ( $x_{0,5}$  35,3;  $\bar{x}$  36,3). Die Tiere der Kontrollgruppe wogen zwischen 21 und 65 kg ( $x_{0,5}$  36;  $\bar{x}$  37,85). Es lagen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen vor ( $p=0,613$ ).

## 4.2 Anamnese und klinische Allgemeinuntersuchung

Ein Trauma wurde bei 2 der 92 Hunde vom Besitzer beobachtet. Beide Tiere hatten eine Ruptur des Lcc.

Die einzelnen Angaben zur Lahmheitsdauer waren sehr ungenau und wurden nicht berücksichtigt.

Zwanzig Hunde wurden mit steroidalen oder nicht-steroidalen Entzündungshemmern vorbehandelt. Medikamentengaben, die länger als 14 Tage vor Vorstellung zurücklagen wurden nicht einbezogen. Es lagen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Hunden mit und ohne medikamenteller Vorbehandlung bei den Parametern MPO, CRP, HA und C2C sowie den Ergebnissen der orthopädischen, röntgenologischen und intraoperativen Untersuchungen und der Synoviaanalytik vor. Die Angaben zu den Medikamenten und deren Applikationsdauer sind Tabelle 4-3 zu entnehmen.

**Tabelle 4-3:** Art und Dauer medikamenteller Vorbehandlungen bei 20 Hunden.

Wirkstoff	Anzahl Hunde	Dauer (Tagen)	Median	Mittelwert
Carprofen	12	1-200	12	26,2
Meloxicam	3	3-5	5	4,33
Phenylbutazon und Prednisolon	3	14-21	18	17,7
Methylprednisolon	1	4 und 2 d prä op.	-	-
Mavacoxib	1	7	-	-

Bei 8 Hunden wurde auskultatorisch ein Herzgeräusch festgestellt. Vier Hunde hatte ein Herzgeräusch Grad II/VI, 3 Hunde eines Grad III/VI und 1 Hund hatte eines Grad V/VI. Drei Hunde waren aufgrund ihrer Herzerkrankungen bereits in Behandlung. Die anderen wurden

hinsichtlich ihrer Narkosefähigkeit weiter untersucht und gegebenenfalls medikamentell für den Eingriff vorbereitet.

Neun Hunde hatten ein erhöhte rektale Körpertemperatur von 39,1°C (n=3), 39,2°C (n=5) und 39,3°C (n=1). Die klinische Allgemeinuntersuchung dieser Tiere war ansonsten ohne besonderen Befund, so dass die erhöhte Körpertemperatur durch ein gesteigertes Allgemeinverhalten (Aufregung) erklärbar war.

Bei 16 Hunden lag neben dem orthopädischen Problem noch mindestens eine weitere Erkrankung vor. Eine Übersicht gibt Tabelle 4-4.

Bei den untersuchten Parametern MPO, CRP, HA und C2C sowie den Ergebnissen der orthopädischen, röntgenologischen und intraoperativen Untersuchungen und der Synoviaanalytik bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den OA-Patienten mit zusätzlichen Erkrankungen und denen ohne.

**Tabelle 4-4:** Zusätzliche Erkrankungen bei 16 Hunden und Medikamentenapplikation.

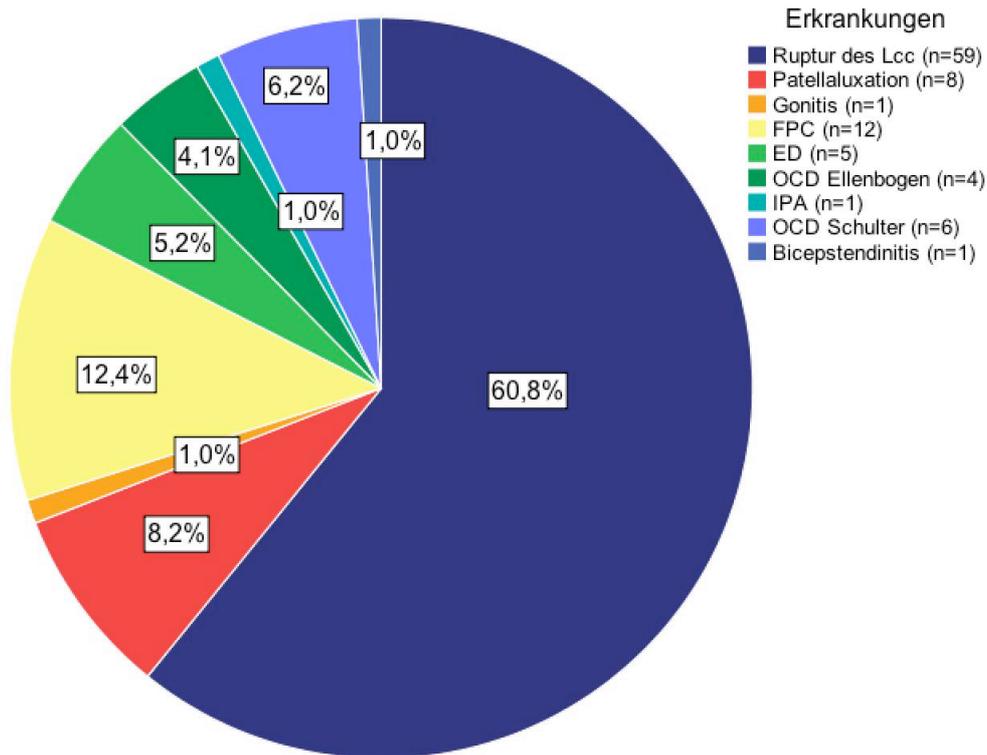
Erkrankung	Medikamente
Brachycephalen Syndrom	keine
Epuliden	keine
follikuläre Konjunktivitis	keine
Kardiomyopathie	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Atenolol</li> <li>• Benazepril</li> <li>• Pimobendan, Spironolacton</li> </ul>
idiopathische Epilepsie	Phenobarbital und Kaliumbromid
Otitis externa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Clotrimazol, Dexamethason und Marbofloxacin</li> <li>• Miconazol, Polymyxin B und Prednisolon</li> <li>• Marbofloxacin</li> </ul>
Pyodermie	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cefalexin</li> </ul>
multiple Umfangsvermehrungen: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Lipom</li> <li>• Atherom</li> <li>• Zyste</li> <li>• Peripherer Nervenscheidentumor</li> </ul>	keine

Neben diesen Befunden wurden bei der klinischen Allgemeinuntersuchung keine weiteren Auffälligkeiten festgestellt.

### 4.3 Orthopädische Untersuchung

#### 4.3.1 Erkrankte Gelenke und primäre Gelenkerkrankungen

Von 97 erkrankten Gelenken waren zu 70,1% Knie- (n=68), zu 22,7% Ellenbogen- (n=22) und zu 7,2% Schultergelenke (n=7) betroffen. Die Häufigkeit der verschiedenen primären Gelenkerkrankungen ist Abbildung 4-1 zu entnehmen.



**Abbildung 4-1:** Häufigkeitsverteilung der primären Gelenkerkrankungen bei 97 erkrankten Gelenken von 89 Hunden.

Aufgrund der überwiegend geringen Fallzahlen kann nur eine deskriptive Auswertung der Verhältnisse der untersuchten Biomarker (MPO, CRP, HA, C2C) und der synovialen Parameter (Viskosität, Gesamtzellzahl) zwischen den einzelnen primären Gelenkerkrankungen erfolgen. Die Zahlenwerte sind dem Anhang zu entnehmen.

Im Median waren sowohl MPO- als auch C2C-Konzentrationen in Synovia von Gelenken mit Ruptur des Lcc, Patellaluxation und FPC höher als bei anderen Erkrankungen. Patienten mit rupturiertem Lcc wiesen deutlich niedrigere HA-Konzentrationen in der Synovia auf, als Patienten mit anderen primären Gelenkerkrankungen. Bei Betrachtung der übrigen Parameter (Serum, Synovia) konnten keine Rückschlüsse auf etwaige Tendenzen gezogen werden.

### 4.3.2 Lahmheit, Schmerzhaftigkeit, Gelenkfüllung und Krepitation

Die Häufigkeiten in den verschiedenen Graden bei der Beurteilung der Lahmheit, der Schmerzhaftigkeit, der Gelenkfüllung und der Krepitation des Gelenks sind Tabelle 4-5 zu entnehmen. Da eine vermehrte Gelenkfüllung des Schultergelenks nicht palpabel ist, wurden hier nur 90 Gelenke dahingehend analysiert. Bei den Gelenken der Kontrolltiere wurden keine pathologischen Befunde erhoben.

**Tabelle 4-5:** Häufigkeitsverteilung der Befunde der orthopädischen Untersuchung von 97 Gelenken.

Grad	Lahmheit		Schmerz		Gelenkfüllung		Krepitation	
	Anzahl Gelenke	(%)						
0	2	2,1	8	8,2	10	11,1	88	90,7
1	39	40,2	57	58,8	37	41,1	7	7,2
2	34	35,1	27	27,8	38	42,2	2	2,1
3	16	16,4	5	5,2	5	5,6	0	0
4	6	6,2	-	-	-	-	-	-
Gesamt	97	100	97	100	90	100	97	100

Bei den Kontrolluntersuchungen 8 und 16 Wochen post operationem wurde jeweils eine orthopädische Untersuchung der Patienten durchgeführt. Die Schweregrade der Lahmheit verminderten sich über diesen Zeitraum signifikant ( $p < 0,001$ ). Insbesondere zwischen den Befunden der Lahmheitsuntersuchungen vor der Operation und den Befunden bei der zweiten ( $p < 0,001$ ) und dritten Kontrolluntersuchung ( $p = 0,037$ ) wurde eine Verbesserung der Lahmheit festgestellt. Die Schmerzhaftigkeit der Gelenke nahm über 16 Wochen ebenfalls signifikant ab ( $p < 0,001$ ). Eine signifikante Schmerzreduktion war zwischen der Untersuchung vor der Operation und den Befunden bei der zweiten ( $p < 0,001$ ) und dritten ( $p < 0,001$ ) Kontrolluntersuchung erkennbar. Die Gelenkfüllung war gegenüber den Befunden bei der ersten Untersuchung nach 16 Wochen signifikant vermindert ( $p = 0,008$ ). Die Krepitation wies über den Untersuchungszeitraum keine signifikante Änderung auf ( $p = 0,166$ ).

## 4.4 Röntgenologische Untersuchung

Die Ergebnisse zu den Häufigkeiten der Grade der röntgenologischen Untersuchung sind in Tabelle 4-6 zusammengefasst. Die Kontrollgelenke wiesen Grad 0 auf.

**Tabelle 4-6:** Häufigkeitsverteilungen der röntgenologischen Befunde bei 97 Gelenken.

Grad	Alle Gelenke		Schultergelenk		Ellenbogengelenk		Kniegelenk	
	Anzahl	(%)	Anzahl	(%)	Anzahl	(%)	Anzahl	(%)
0	18	18,6	1	14,3	1	4,5	16	23,5
1	45	46,4	1	14,3	11	50	33	48,6
2	28	28,8	5	71,4	7	31,9	16	23,5
3	6	6,2	0	0	3	13,6	3	4,4
Gesamt	97	100	7	100	22	100	68	100

## 4.5 Hämatologische Untersuchung

Von den an OA erkrankten Hunden wurden 72 rote Blutbilder und 71 chemische Blutuntersuchungen erstellt. Die Untersuchungsergebnisse, insbesondere Abweichungen von den Referenzbereichen, lassen nicht auf systemische Erkrankungen schließen, die einen Einfluss auf osteoarthritische Prozesse haben. Als Indikator für entzündliche Geschehen werden die Leukozytenzahlen nachfolgend näher besprochen.

In 72 roten Blutbildern wurden Leukozytenzahlen von 4,88-18,69 G/l ( $x_{0,5}$  11,34;  $\bar{x}$  15,03) ermittelt. Die Werte von 19 Patienten lagen damit außerhalb des angegebenen Referenzbereichs. Zwei Hunde hatten eine geringgradige Leukozytopenie (4,88 und 5,8 G/l) und bei 17 Tieren wurde eine Leukozytose (12,3-18,69 G/l;  $x_{0,5}$  13,75;  $\bar{x}$  14,32) festgestellt. Einer davon war an einer Herzinsuffizienz erkrankt (WBC 18,69 G/l), 2 weitere litten an einer geringgradigen Otitis externa (WBC 12,3 und 13,14 G/l). Bei den anderen Patienten mit Leukozytose oder -penie konnte neben der OA keine weitere Erkrankung festgestellt werden. Zwischen den Tieren mit Leukozytenzahlen außerhalb des Referenzbereichs und denen mit normalen Leukozytenzahlen konnten weder in der Synovia noch im Serum signifikante Unterschiede bei den untersuchten Parametern MPO, CRP, HA und C2C festgestellt werden. Es bestanden keine signifikanten Korrelationen zwischen den Leukozytenzahlen und den Werten der einzelnen untersuchten Markern in Synovia oder Serum.

## 4.6 Intraoperative Befunde

Eine Übersicht über Häufigkeiten der Graduierung intraoperativer Befunde gibt Tabelle 4-7. Die Gelenkkapsel und Synovialmembran konnte bei 97 Gelenken (100%), der Knorpel bei 59 Gelenken (60,8%) und die knöchernen Strukturen bei 78 Gelenken (80,4%) beurteilt werden.

**Tabelle 4-7:** Häufigkeitsverteilungen der intraoperativen Befunde bei 97 Gelenken.

Grad	Kapsel, Synovialmembran		Knorpel		Knochen	
	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)
0	25	25,8	22	37,3	30	38,5
1	36	37,1	21	35,6	21	26,9
2	23	23,7	10	16,9	16	20,5
3	13	13,4	6	10,2	11	14,1
Gesamt	97	100	59	100	78	100

## 4.7 Synoviaanalytik

Die Synovia der Kontrollgelenke (n=16) war in 13 Fällen (81,3%) von durchsichtiger und bei 3 Gelenken (18,7%) von hellgelber Farbe.

Die Synovia der OA-Gelenke (n=97) war bei 16 Gelenken (16,5%) durchsichtig, bei 45 (46,4%) hellgelb und bei 36 (37,1%) strohfarben. Eine geringe Trübung war bei 2 OA-Gelenken (2,1%) festzustellen.

Das aspirierte Synoviavolumen der Kontrollgelenke betrug 0,2-1,0 ml ( $x_{0,5}$  0,35;  $\bar{x}$  0,48). Bei den an OA erkrankten Gelenken wurden 0,2-6,0 ml ( $x_{0,5}$  1,0;  $\bar{x}$  1,34) punktiert. Es bestand damit ein signifikanter Unterschied zwischen dem aspirierten Synoviavolumen beider Gruppen ( $p < 0,001$ ).

### 4.7.1 Viskosität der Synovia

Die Viskosität der Synovia 16 gesunder Gelenke war normal (Grad 0). Die Häufigkeiten der Viskosität der Synovia erkrankter Gelenke sind Tabelle 4-8 zu entnehmen.

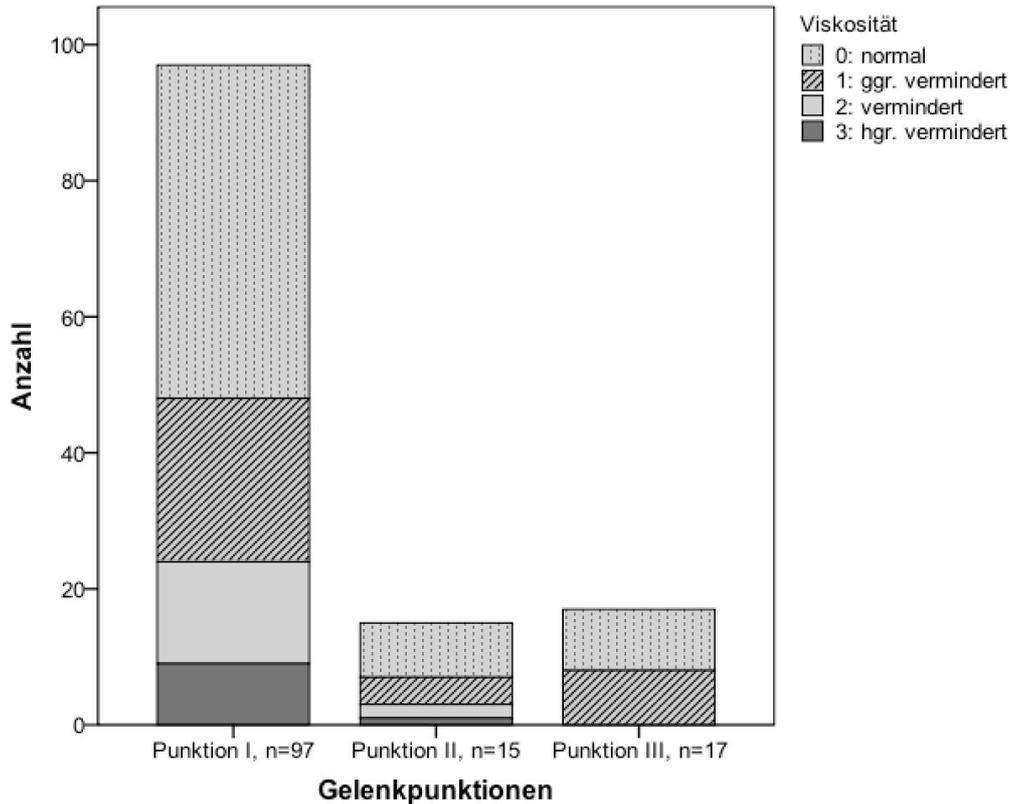
**Tabelle 4-8:** Häufigkeitsverteilung der Viskositätsgrade in der Synovia zum Zeitpunkt der Operation und bei den Kontrolluntersuchungen.

Grad	Punktion I		Punktion II		Punktion III	
	Gelenke	(%)	Gelenke	(%)	Gelenke	(%)
0	49	50,5	8	53,3	9	52,9
1	24	24,7	4	26,7	8	47,1
2	15	15,5	2	13,3	-	-
3	9	9,3	1	6,7	-	-
Gesamt	97	100	15	100	17	100

Die Viskosität der Synovia erkrankter Gelenke war verglichen mit der der Kontrollgelenke signifikant vermindert ( $p < 0,001$ ). Auch zwischen der Viskosität der Synovia der

Kontrollgelenke und der erkrankter Tiere bei der zweiten ( $p=0,02$ ) bzw. der dritten ( $p=0,02$ ) Punktion waren signifikante Unterschiede erkennbar. Die Viskosität der Synovia osteoarthritischer Gelenke war vermindert.

Zwischen den Gelenkpunktionen in Woche 0, 8 und 16 bestanden jedoch keine signifikanten Unterschiede der Viskositäten ( $p=0,595$ ), obwohl anhand Abbildung 4-2 eher eine Zunahme der Viskosität über den Untersuchungszeitraum vermutet werden könnte.



**Abbildung 4-2:** Die Viskosität der Synovia im Verlauf über 16 Wochen.

Zwischen erkrankten Schulter-, Ellenbogen- und Kniegelenken ( $p=0,12$ ) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der synovialen Viskosität.

Zwischen den einzelnen Lahmheitsgraden der Patienten differierten die Viskositäten signifikant ( $p=0,004$ ). Bei Tieren ohne Lahmheit (Grad 0) war die Viskosität verglichen zu denen mit einer mittel- (Grad 3) ( $p=0,038$ ) und einer hochgradigen (Grad 4) ( $p=0,004$ ) Lahmheit signifikant höher. Kein signifikanter Unterschied konnte dagegen für die Viskosität zwischen den einzelnen Graden (Grad 1-4) lahmer Hunde aufgedeckt werden ( $p=0,297$ ).

Im Hinblick auf Schmerzhaftigkeit ließen sich signifikante Unterschiede der Viskosität feststellen ( $p=0,003$ ). Sie war bei Hunden mit geringgradiger Schmerzhaftigkeit (Grad 1) verglichen zu denen ohne Schmerzhaftigkeit (Grad 0) reduziert ( $p=0,004$ ). Keine

signifikanten Unterschiede konnten in der Viskosität zwischen den stärkeren Schmerzgraden (Grad 1-3) erkrankter Hunde gefunden werden ( $p=0,397$ ).

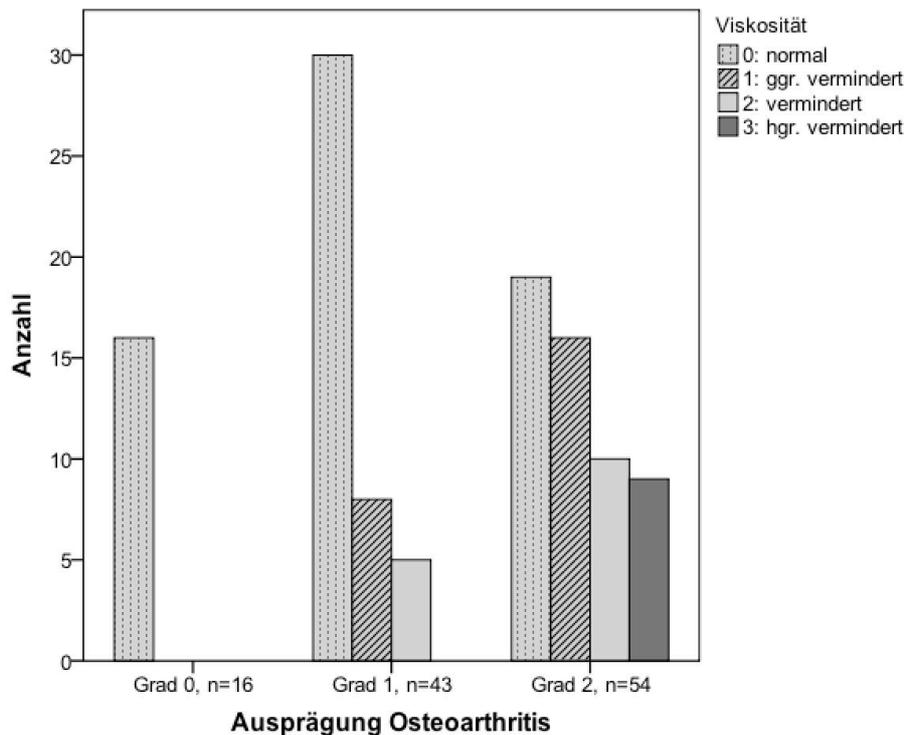
Auch die Ausprägung von Gelenkfällung ergab signifikante Unterschiede in der Viskosität ( $p=0,033$ ). Zwischen Tieren ohne (Grad 0) und denen mit mittelgradig vermehrter Gelenkfällung (Grad 2) bestand ein signifikanter Viskositätsverlust ( $p=0,019$ ). Zwischen der Ausprägung der Gelenkfällung erkrankter Hunde (Grad 1-3) ließ sich kein signifikanter Unterschied der Viskosität beobachten ( $p=0,427$ ).

Keine signifikanten Unterschiede wurden zwischen der Viskosität bei verschiedenen Graden der Krepitation ermittelt (Gesamtpopulation  $p=0,199$ ; OA-Patienten  $p=0,378$ ).

Auch das Ausmaß röntgenologischer Befunde war nicht signifikant mit einer Viskositätsänderung verbunden ( $p=0,154$ ).

Zwischen den Graden intraoperativer Befunde erkrankter Gelenke - Gelenkkapsel und Synovialmembran ( $p=0,854$ ), Gelenkknorpel ( $p=0,884$ ) und Knochen ( $p=0,635$ ) - wurden keine signifikanten Unterschiede der Viskosität der Gelenkflüssigkeit ermittelt.

Mit zunehmender Ausprägung der OA wurde eine signifikante Abnahme der Synoviaviskosität beobachtet ( $p<0,001$ ), im einzelnen zwischen Gelenken mit gering- (Grad 1) und mit hochgradiger OA (Grad 2) ( $p<0,001$ ), sowie zwischen denen ohne (Grad 0) und mit hochgradiger OA (Grad 2) ( $p=0,001$ ) (Abbildung 4-3).



**Abbildung 4-3:** Synoviale Viskosität bei Gelenken mit unterschiedlicher Ausprägung der OA.

### 4.7.2 Gesamtzellzahl in der Synovia

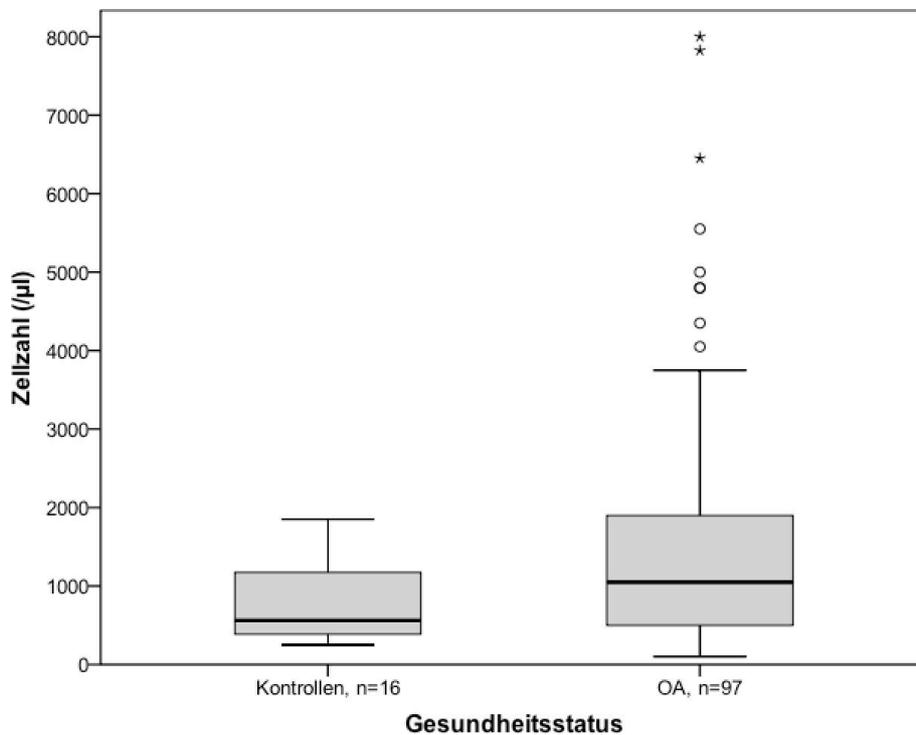
Die Synovia-Gesamtzellzahlen erkrankter Gelenke, wie auch die bei Folgeuntersuchungen nach 8 bzw. 16 Wochen gemessenen Zellzahlen sind der Tabelle 4-9 zu entnehmen. Die Zellzahlen der 16 gesunden Kontrollgelenke betragen 250-1850/ $\mu$ l ( $x_{0,5}$  562,5;  $\bar{x}$  78,3).

**Tabelle 4-9:** Gesamtzellzahl der Synovia beim Ersteingriff sowie bei Kontrolluntersuchungen nach 8 und 16 Wochen.

	Punktion I	Punktion II	Punktion III
Anzahl Gelenke	97	15	17
Min-Max (/ $\mu$ l)	100-8000	100-4600	100-3800
Median	1050	1150	650
Mittelwert	1582,4	1799,3	1099,7

Die Gesamtzellzahl OA-freier Gelenke war signifikant niedriger als die der erkrankten Gelenke ( $p=0,036$ ) (Abbildung 4-4). Keine signifikanten Unterschiede ließen sich unter diesem Aspekt zwischen den Kontrollgelenken und Synoviaprobe erkrankter Gelenke bei erneuter Punktion nach 8 ( $p=0,078$ ) und 16 ( $p=0,227$ ) Wochen feststellen.

Die Gesamtzellzahlen in der Synovia der mehrfach punktierten OA Gelenke wiesen zwischen der ersten, zweiten und dritten Gelenkpunktion keine signifikanten Unterschiede auf ( $p=0,420$ ).



**Abbildung 4-4:** Gesamtzellzahl in Synovia OA-freier (Kontrollen) und OA-erkrankter (OA) Gelenke.

Es wurden keine signifikanten Unterschiede der Zellzahlen zwischen den Schulter-, Ellenbogen- und Kniegelenken ( $p=0,447$ ) festgestellt.

Zwischen den einzelnen Graden der Lahmheit ( $p=0,121$ ), Schmerzhaftigkeit ( $p=0,219$ ), Gelenkfüllung ( $p=0,966$ ) und Krepitation ( $p=0,932$ ) konnten keine signifikanten Unterschiede der Gesamtzellzahlen ermittelt werden.

Es bestanden auch keine signifikanten Unterschiede der Gesamtzellzahl zwischen dem jeweiligen Ausmaß der Röntgenbefunde ( $p=0,062$ ).

Zwischen den einzelnen Graden der Befunde an Gelenkkapsel und Synovialmembran ( $p=0,550$ ), Gelenkknorpel ( $p=0,503$ ) und/oder Knochen ( $p=0,616$ ) wurden im Hinblick auf die Gesamtzellzahl keine signifikanten Unterschiede ermittelt.

Die Ergebnisse der Synoviazellzahlbestimmungen bei den verschiedenen Ausprägungen der OA sind in Tabelle 4-10 dargestellt.

**Tabelle 4-10:** Übersicht der Gesamtzellzahlen bei verschiedenen Ausprägungen der OA.

OA-Grad	Anzahl	Min-Max (/µl)	Median	Mittelwert
0	16	250-1850	562,5	781,25
1	43	100-3750	1025	1177,23
2	54	150-8000	1100	1905,02

Es konnten keine signifikanten Unterschiede der Zellzahlen zwischen den verschiedenen Schweregraden der OA festgestellt werden ( $p=0,06$ ), jedoch war tendenziell ein Anstieg der Zellgehalte mit zunehmenden Schweregrad der OA erkennbar.

## 4.8 Ausprägung der Osteoarthritis

Die Gruppierung der Gelenke ( $n=113$ ) in 3 Osteoarthritis-Grade beruht auf einem Punktesystem, das auf der Gesamtheit der orthopädischen, röntgenologischen und intraoperativen Befunde sowie der Viskosität der Synovia basiert.

Bei 16 Gelenken (14,2%) waren die Untersuchungsergebnisse ohne besonderen Befund (Gesamtgrad 0). Sie wurden in OA-Grad 0 (keine OA) gruppiert. Die Summation der Punkte der Einzelbefunde ergab bei 43 Gelenken (38,1%) Werte von 2 bis 8 Punkten ( $x_{0,5}$  6,0;  $\bar{x}$  6,4). Dies entsprach OA-Grad 1 (geringgradige/frühe OA). Bei 54 Gelenken (47,8%) ergab die Punktesumme 9 bis 18 ( $x_{0,5}$  11,0;  $\bar{x}$  11,7) und die Gelenke wurden in OA-Grad 2 (hochgradige/fortgeschrittene OA) eingestuft.

## 4.9 Myeloperoxidase-Aktivität

### 4.9.1 MPO-Aktivität bei Patienten, Kontrollen und Folgeuntersuchungen

In der Synovia der Kontrollgelenke (n=16) wurden MPO-Aktivitäten von 0,0 bis 4,3 mU/μl ( $x_{0,5}$  0,73;  $\bar{x}$  0,99) und im Kontrollserum (n=7) zwischen 1,0 und 18,1 mU/μl ( $x_{0,5}$  14,1;  $\bar{x}$  12,37) gemessen.

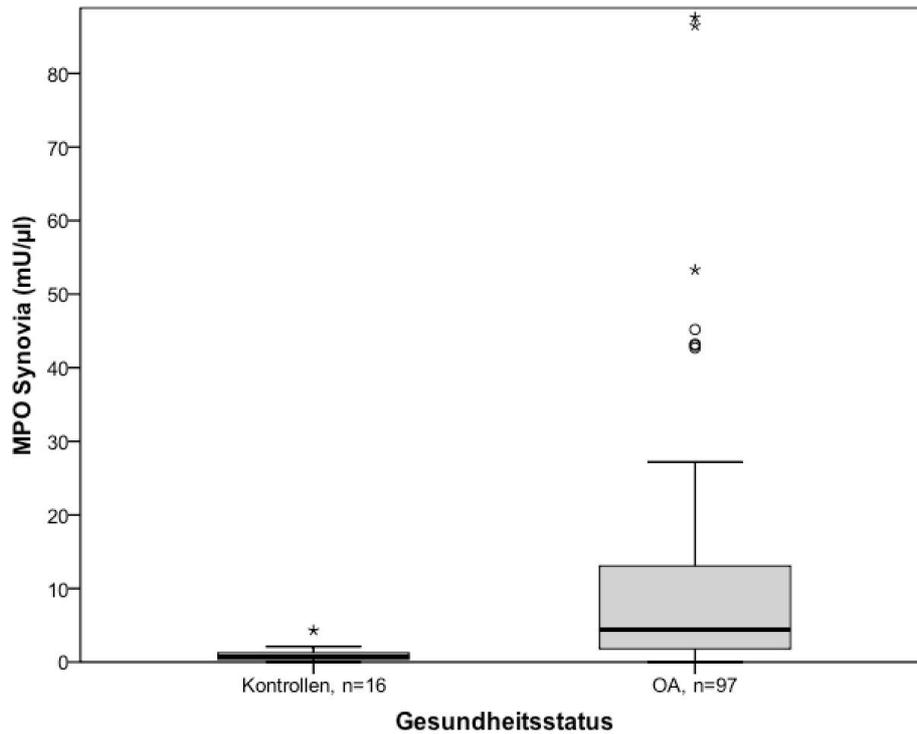
Aus Tabelle 4-11 sind die Ergebnisse der MPO-Aktivität in Synovia der erkrankten Gelenke und den dazugehörigen Serumproben der Erst- und Folgepunktionen zu entnehmen.

**Tabelle 4-11:** MPO-Aktivitäten in Synovia und Serum bei Erst- und Folgepunktionen.

	Punktion I		Punktion II		Punktion III	
	Synovia	Serum	Synovia	Serum	Synovia	Serum
Anzahl	97	93	15	31	17	19
Min-Max (mU/μl)	0,0-87,6	1,2-72,7	0,0-49,5	2,8-50,1	0,0-22,1	9,4-101,9
Median	4,4	16,0	10,1	22,8	2,0	20,8
Mittelwert	10,6	18,6	16,1	25,6	3,9	25,7

Die MPO-Aktivität in Synovia wies zwischen Kontroll- und erkrankten Gelenken einen signifikanten Unterschied auf ( $p < 0,001$ ) (Abbildung 4-5). Kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,268$ ) ließ sich dagegen in den Seren beider Tiergruppen nachweisen.

Die MPO-Aktivität der Synovia war bei Folgepunktionen erkrankter Gelenke (Punktion II und Punktion III) im Vergleich zur MPO-Aktivität in der Kontrollgruppe (Zeitpunkt erste Gelenkpunktion) sowohl nach 8 ( $p < 0,001$ ), als auch nach 16 ( $p = 0,02$ ) Wochen signifikant höher. Dies traf auch für die MPO-Aktivität im Serum der erkrankten Tiere bei der zweiten Gelenkpunktion nach 8 Wochen zu ( $p = 0,003$ ), während bei der dritten Gelenkpunktion nach 16 Wochen kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,069$ ) mehr bestand.



**Abbildung 4-5:** MPO-Aktivität in Synovia OA-freier (Kontrollen) und OA-erkrankter (OA) Gelenke.

Sowohl in Synovia ( $p=0,004$ ) als auch im Serum ( $p=0,008$ ) wurden signifikante Unterschiede der MPO-Aktivität zwischen den Folgepunktionen ermittelt. Die MPO-Aktivität in Synovia stieg nach 8 Wochen an und sank nach 16 Wochen signifikant unter das Ausgangsniveau von Woche 0 ab ( $p=0,045$ ) (Abbildung 4-6). Im Serum wurde ein signifikanter Anstieg der MPO-Aktivität nach 8 Wochen ( $p=0,009$ ) verzeichnet, die Werte nach 16 Wochen fielen jedoch nicht so deutlich ab wie in der Synovia.

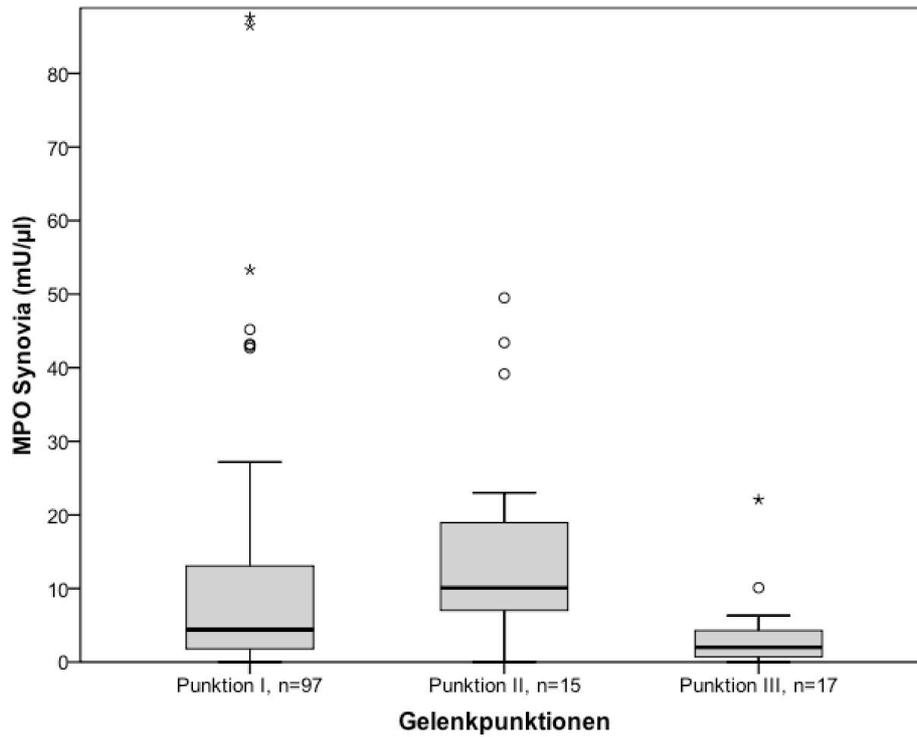


Abbildung 4-6: MPO-Aktivität in Synovia im Verlauf der Folgeuntersuchungen.

#### 4.9.2 Korrelation der MPO-Aktivität in Synovia und Serum

Es bestand eine schwach ausgeprägte signifikant positive Korrelation ( $r_s=0,302$ ;  $p=0,002$ ) zwischen den MPO-Aktivitäten aller Serum- und Synoviaprobe (Abbildung 4-7).

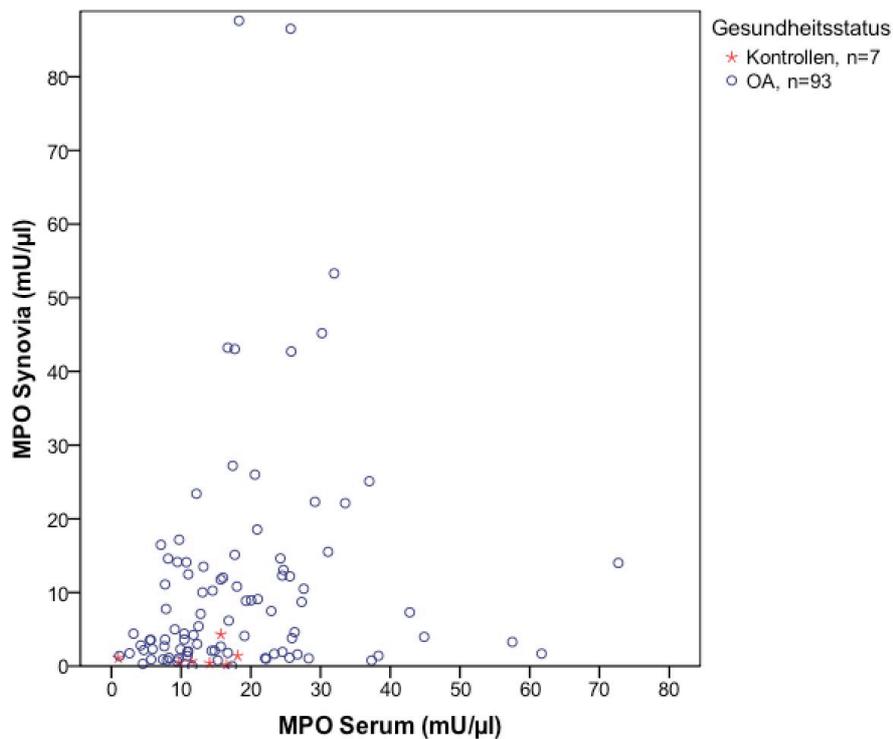


Abbildung 4-7: Vergleich der MPO-Aktivitäten von Synovia- und Serumproben.

#### **4.9.3 MPO-Aktivität erkrankter Gelenke**

Es ließen sich keine signifikante Unterschiede in den MPO-Aktivitäten von Synovia oder Serum zwischen Schulter-, Ellenbogen- und Kniegelenken (Synovia:  $p=0,413$ ; Serum:  $p=0,207$ ) feststellen.

#### **4.9.4 MPO-Aktivität und Befunde der orthopädischen Untersuchung**

Im Hinblick auf die klinischen Parameter Lahmheit ( $p<0,001$ ) und Schmerzhaftigkeit ( $p<0,001$ ) ergaben sich signifikante Unterschiede in der synovialen MPO-Aktivität zwischen den Ausprägungsgraden. Verglichen zu lahmheits- und/oder schmerzfreien Tieren war die MPO-Aktivität der Synovia bei höhergradiger Ausprägung signifikant erhöht (Lahmheit: Grad 0-1:  $p=0,002$ , Grad 0-2:  $p=0,01$ , Grad 0-3:  $p=0,005$ , Grad 0-4:  $p=0,002$ ; Schmerzhaftigkeit: Grad 0-1:  $p=0,003$ , Grad 0-2:  $p<0,001$ , Grad 0-3:  $p=0,05$ ). Im Serum wurden bei beiden Parametern keine signifikanten Unterschiede ermittelt (Lahmheit:  $p=0,640$ ; Schmerzhaftigkeit:  $p=0,379$ ), obwohl auch hier die MPO-Aktivität mit zunehmendem Ausmaß stieg.

Zwischen den einzelnen Graden der Gelenkfüllung und/oder Krepitation konnte in Synovia (Gelenkfüllung:  $p=0,138$ ; Krepitation:  $p=0,880$ ) oder Serum (Gelenkfüllung:  $p=0,324$ ; Krepitation:  $p=0,747$ ) kein signifikanter Unterschied der MPO-Aktivität ermittelt werden.

#### **4.9.5 MPO-Aktivität und Röntgenbefunde**

Zwischen MPO-Aktivitäten in Synovia ( $p=0,520$ ) oder Serum ( $p=0,913$ ) bei den verschiedenen Röntgengraden der Gelenke bestand kein signifikanter Unterschied.

#### **4.9.6 MPO-Aktivität und intraoperative Befunde**

Es ließen sich keine signifikanten Unterschiede in MPO-Aktivitäten von Synovia oder Serum zwischen den Graden der Schädigung von Gelenkkapsel und Synovialmembran (Synovia:  $p=0,850$ ; Serum:  $p=0,296$ ), Gelenkknorpel (Synovia:  $p=0,317$ ; Serum:  $p=0,748$ ) oder knöcherner Strukturen (Synovia:  $p=0,614$ ; Serum:  $p=0,871$ ) aufdecken.

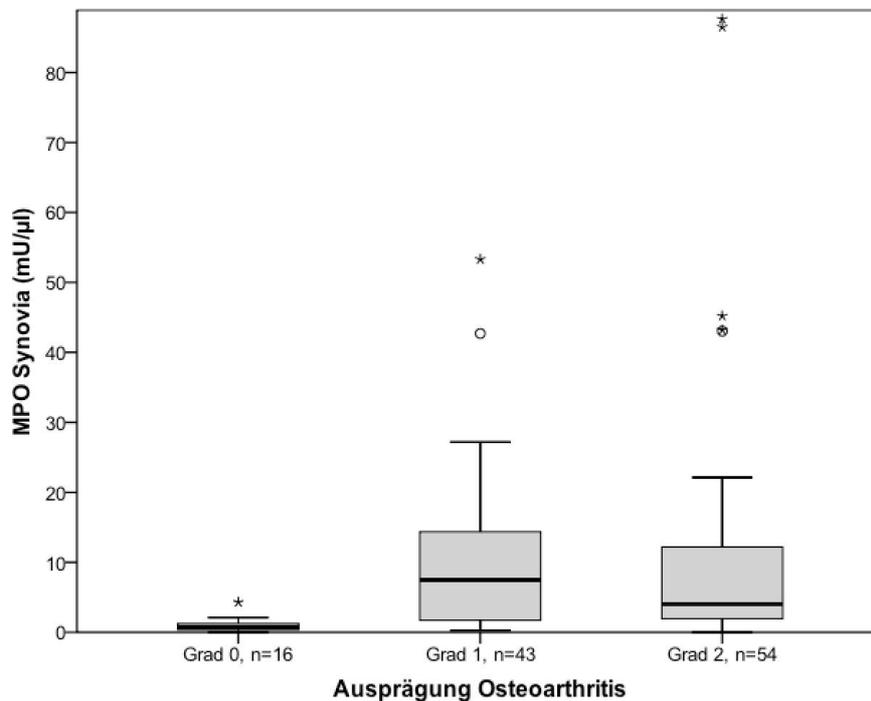
#### **4.9.7 MPO-Aktivität und Ausprägung der Osteoarthritis**

Die Messergebnisse der MPO-Aktivitäten in den verschiedenen OA-Graden sind für Synovia und Serum in Tabelle 4-12 zusammengefasst.

**Tabelle 4-12:** MPO-Aktivität bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

OA-Grad	Anzahl	Min-Max (mU/μl)	Median	Mittelwert
0				
Synovia	16	0,0-4,3	0,73	1,0
Serum	7	1,0-18,1	14,1	12,4
1				
Synovia	43	0,3-53,3	7,5	10,5
Serum	41	2,6-72,7	15,7	19,0
2				
Synovia	54	0,0-87,6	4,0	10,8
Serum	52	1,2-61,7	16,8	18,3

Die MPO-Aktivität in der Synovia der OA-Tiere war signifikant höher als die bei OA-freien ( $p < 0,001$ ). Die Detailanalyse durch paarweisen Vergleich der Grade ergab jeweils einen Unterschied zwischen Synovialproben gesunder und erkrankter Gelenke (Grad 0-1 und Grad 0-2:  $p < 0,001$ ), ohne dass ein signifikanter Unterschied in der Synovia gering- und hochgradig veränderter Gelenke (Grad 1-2) (Abbildung 4-8) festzustellen war. Bei den MPO-Aktivitäten im Serum konnte zwischen den OA-Graden kein Unterschied ermittelt werden ( $p = 0,426$ ) (Abbildung 4-9), obwohl auch hier die MPO-Werte der OA-Patienten gegenüber den Tieren ohne OA geringgradig erhöht waren.



**Abbildung 4-8:** MPO-Aktivität in Synovia bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

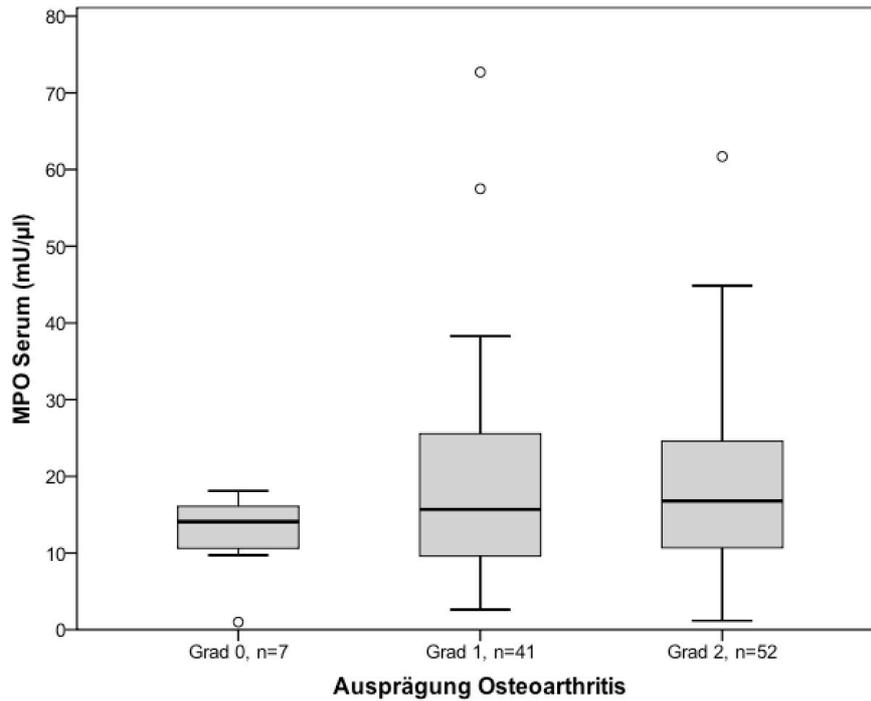


Abbildung 4-9: MPO-Aktivität in Serum bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

## 4.10 CRP-Konzentration

### 4.10.1 CRP-Konzentration bei Patienten, Kontrollen und Folgeuntersuchungen

In der Synovia der Kontrollgelenke (n=8) wurden CRP-Konzentrationen von 0,0 bis 0,4 µg/ml ( $x_{0,5}$  0,0;  $\bar{x}$  0,1) gemessen. Im Kontrollserum (n=6) betragen sie 0,5 bis 5,8 µg/ml ( $x_{0,5}$  1,6;  $\bar{x}$  2,2).

In Tabelle 4-13 sind die CRP-Konzentrationen in Synovia und Serum der an OA erkrankten Tiere bei Erst- und Folgepunktionen (nach 8 und 16 Wochen) angegeben.

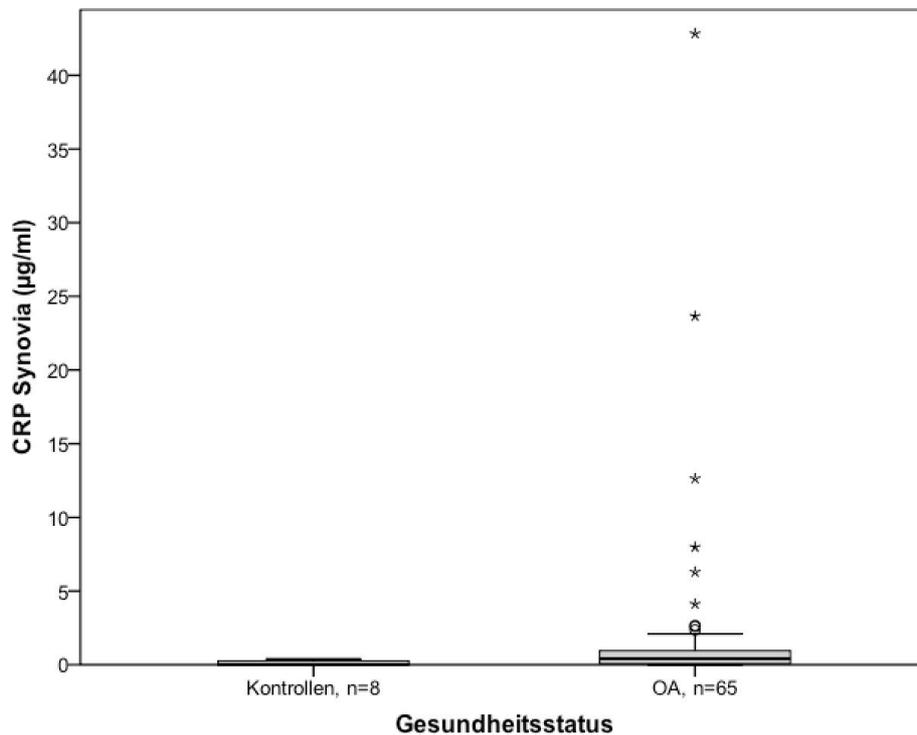
Tabelle 4-13: CRP-Konzentration in Synovia und Serum bei Erst- und Folgepunktionen.

	Punktion I		Punktion II		Punktion III	
	Synovia	Serum	Synovia	Serum	Synovia	Serum
Anzahl	65	59	15	19	17	19
Min-Max (µg/ml)	0,0-42,8	0,0-75,0	0,0-7,0	0,0-27,0	0,0-3,4	0,0-13,2
Median	0,4	1,4	0,2	1,3	0,3	1,0
Mittelwert	2,0	4,3	1,1	3,7	0,6	2,5

In der Synovia bestanden signifikante Unterschiede ( $p=0,012$ ) der CRP-Konzentration zwischen Kontrollgelenken und OA-Gelenken (Abbildung 4-10), während sie im Serum nicht ersichtlich waren ( $p=0,734$ ).

Im Vergleich zu den Kontrollwerten (Zeitpunkt erste Gelenkpunktion) differierten die CRP-Konzentrationen in Synovia und Serum OA-kranker Tiere bei der Punktion nach 8 ( $p=0,070$  und  $p=0,799$ ) und nach 16 Wochen ( $p=0,098$  und  $p=0,373$ ) nicht signifikant.

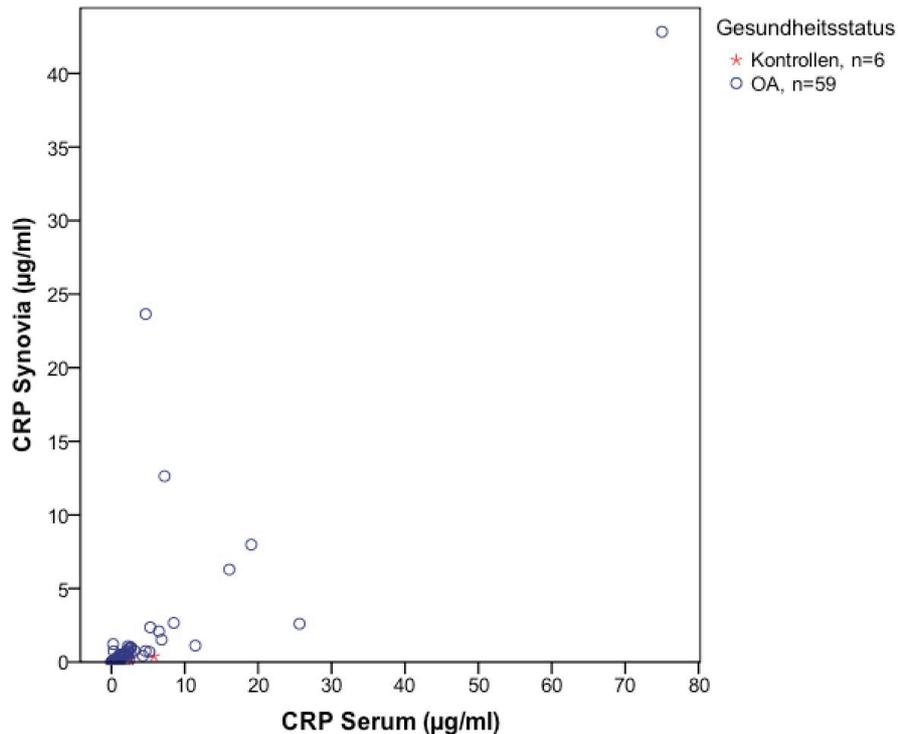
Weder in den Synovia- ( $p=0,648$ ) noch Serumproben ( $p=0,727$ ) waren signifikante Unterschiede der CRP-Konzentrationen zwischen den Proben zum Zeitpunkt der ersten Gelenkpunktion, nach 8 und 16 Wochen ermittelbar.



**Abbildung 4-10:** CRP-Konzentration in Synovia OA-freier (Kontrollen) und OA-erkrankter (OA) Gelenke.

#### 4.10.2 Korrelation der CRP-Konzentration in Synovia und Serum

Zwischen den CRP-Konzentrationen aller Synovia- und Serumproben bestand eine signifikante positive Korrelation ( $r_s=0,804$ ;  $p<0,001$ ) mittlerer Ausprägung (Abbildung 4-11).



**Abbildung 4-11:** Vergleich der CRP-Konzentrationen in Synovia- und Serumproben.

#### 4.10.3 CRP-Konzentration erkrankter Gelenke

Die CRP-Konzentration in Synovialproben von Schulter-, Ellenbogen- und Kniegelenken wies keine signifikanten Unterschiede ( $p=0,159$ ) auf. Dies traf auch auf die entsprechenden Serumproben zu ( $p=0,599$ ).

#### 4.10.4 CRP-Konzentration und Befunde der orthopädischen Untersuchung

Mit steigendem Lahmheitsgrad stieg auch die CRP-Konzentration der Synovia geringgradig an. Es bestand eine allgemeine Signifikanz ( $p=0,038$ ), die mittels paarweiser Vergleiche jedoch nicht näher charakterisiert werden konnte. In den Serumproben ließen sich keine signifikanten Unterschiede finden ( $p=0,550$ ).

Bei den Parametern Schmerzhaftigkeit (Synovia:  $p=0,107$  und Serum:  $p=0,423$ ), Gelenkfüllung (Synovia:  $p=0,139$  und Serum:  $p=0,755$ ) und/oder Krepitation (Synovia:  $p=0,657$  und Serum:  $p=0,370$ ) konnten keine signifikanten Unterschiede der CRP-Konzentration zwischen den Ausprägungsgraden ermittelt werden.

#### 4.10.5 CRP-Konzentration und Röntgenbefunde

Die CRP-Konzentration in Synovia- und/oder Serumproben aller Patienten ergab keine signifikanten Unterschiede (Synovia:  $p=0,678$  und Serum:  $p=0,981$ ) bei verschiedenem Ausmaß röntgenologischer Befunde.

#### 4.10.6 CRP-Konzentration und intraoperative Befunde

Auch in Hinblick auf die Ausprägung einzelner intraoperativer Befunde an Gelenkkapsel und Synovialmembran (Synovia:  $p=0,439$  und Serum:  $p=0,567$ ), Gelenkknorpel (Synovia:  $p=0,968$  und Serum:  $p=0,812$ ) und knöcherner Strukturen (Synovia:  $p=0,768$  und Serum:  $p=0,40$ ) konnten keine signifikanten Unterschiede der CRP-Konzentration ermittelt werden.

#### 4.10.7 CRP-Konzentration und Ausprägung der Osteoarthritis

In Tabelle 4-14 sind die CRP-Konzentrationen in Synovia- und Serumproben verschiedener OA-Grade aufgeführt.

**Tabelle 4-14:** CRP-Konzentration bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

OA-Grad	Anzahl	Min-Max ( $\mu\text{g/ml}$ )	Median	Mittelwert
0				
Synovia	8	0-0,39	0	0,11
Serum	6	0,54-5,81	1,61	2,15
1				
Synovia	24	0-23,65	0,48	2,63
Serum	22	0,05-19,06	1,28	3,87
2				
Synovia	41	0-42,83	0,37	1,57
Serum	37	0-75,01	1,61	4,52

Die CRP-Konzentration in Synoviaprobe von OA-Patienten waren signifikant höher als die von Hunden ohne OA ( $p=0,043$ ). Im Paarvergleich der Grade ließ sich ein signifikanter Unterschied zwischen Tieren ohne OA (Grad 0) und Tieren mit hochgradiger OA (Grad 2) ( $p=0,045$ ) feststellen (Abbildung 4-12).

Die CRP-Konzentration in Serumproben ließ keine signifikanten Unterschiede zwischen den OA-Schweregraden ( $p=0,943$ ) erkennen (Abbildung 4-13).

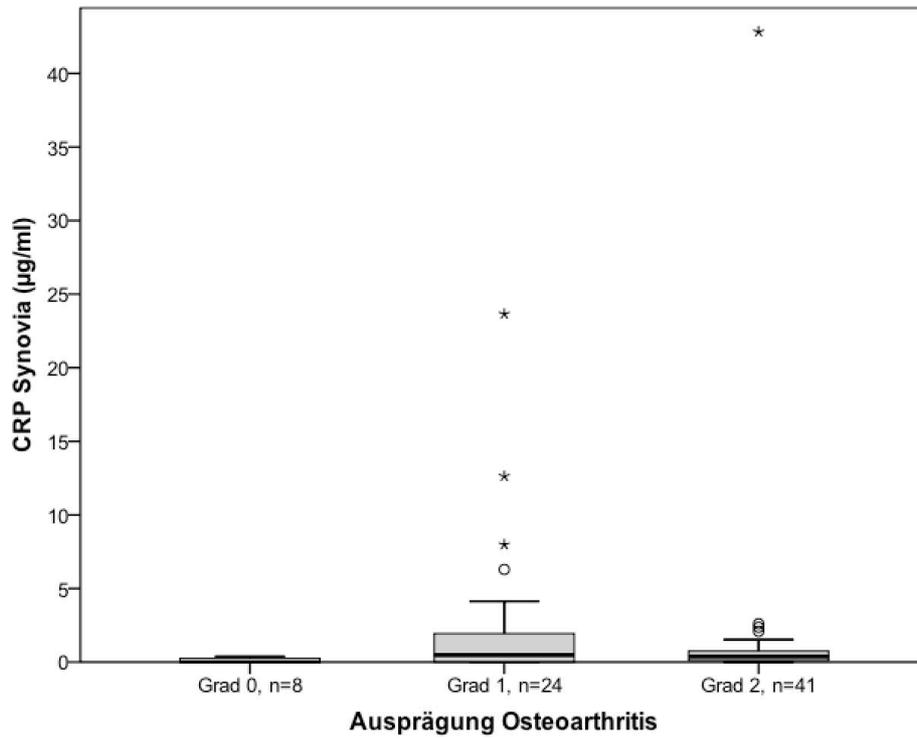


Abbildung 4-12: CRP-Konzentration in Synovia bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

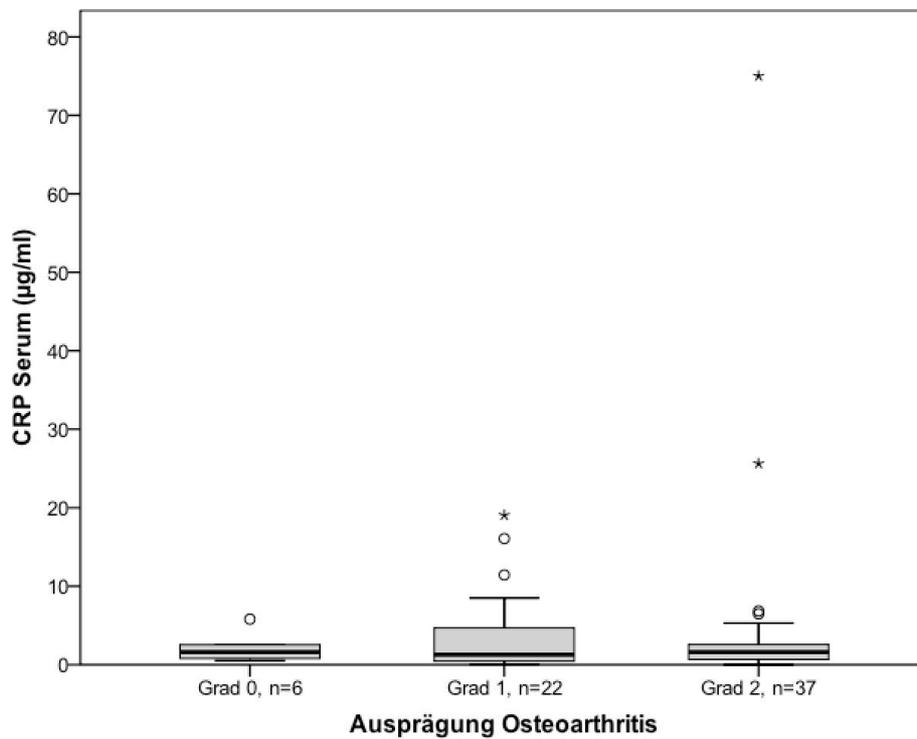


Abbildung 4-13: CRP-Konzentrationen in Serum bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

## 4.11 Hyaluronsäure-Konzentration

### 4.11.1 Validierung des Hyaluronsäure-ELISA an eigenen Synoviaprobe

Bei einer Verdünnung der Proben von 1:5000 lag die OD im optimalen Bereich der Standardkurve. Diese Verdünnung wurde daher auf die folgenden Messungen angewandt. Die Fehleranfälligkeit durch das Erstellen der hohen Verdünnung wurde anhand von drei Proben überprüft. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4-15 dargestellt.

**Tabelle 4-15:** Varianz zwischen erster und zweiter Verdünnung bei drei Synoviaprobe.

Probe	OD Verdünnung 1 ( $\bar{x}$ )	OD Verdünnung 2 ( $\bar{x}$ )	SD	CV %
1	0,4615	0,458	0,0025	0,54
2	0,617	0,633	0,0113	1,81
3	0,5945	0,63	0,0251	4,1

Für die Inter-Assay Präzision in Bezug auf die Synoviaprobe wurde bei einer SD von 0,0703 ein CV von 12,28% ermittelt. Mit der herstellereigenen Kontrolle ergab der CV 12,04% bei einer SD von 0,0936. Die Intra-Assay Präzision hatte einen CV von 2,53% bei einer SD von 0,0192.

Der Vergleich der Konzentrationen von ausgewählten eigenen Proben und extern durchgeführten Kontrollen ist in Tabelle 4-16 dargestellt.

**Tabelle 4-16:** Vergleich eigene Messung und externe Kontrollmessung ausgewählter Synoviaprobe.

Probe	Eigene Messung		Externe Kontrolle		Abweichung von eigener Messung
	OD ( $\bar{x}$ )	HA-Konzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	OD ( $\bar{x}$ )	HA-Konzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	HA-Konzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )
1	0,366	2819,5	0,893	2019,8	-799,7
2	0,501	1226,2	1,096	1281,1	+54,9
3	0,478	1137,3	1,151	1131,9	-5,4
4	0,39	1636,5	0,908	1951,9	+315,4
5	0,617	1019,2	1,209	991,2	-28,0
6	0,595	772,9	1,311	777,7	+4,8
7	0,469	984,9	1,216	975,3	-9,6
8	0,51	978,1	1,204	1002,8	+24,7
9	0,446	1624,8	0,977	1670,9	+46,1
10	0,433	1474,1	1,036	1464,8	-9,3
11	0,604	736,8	1,348	709,1	-27,7

#### 4.11.2 HA-Konzentration bei Patienten, Kontrollen und Folgeuntersuchungen

Die Synovia der Kontrollgelenke wies HA-Konzentrationen von 1090-2820 µg/ml (n=10;  $x_{0,5}$  1833,74;  $\bar{x}$  1863) auf. Im Serum wurden Konzentrationen von 0,067-0,241 µg/ml (n=6;  $x_{0,5}$  0,121;  $\bar{x}$  0,127) gemessen.

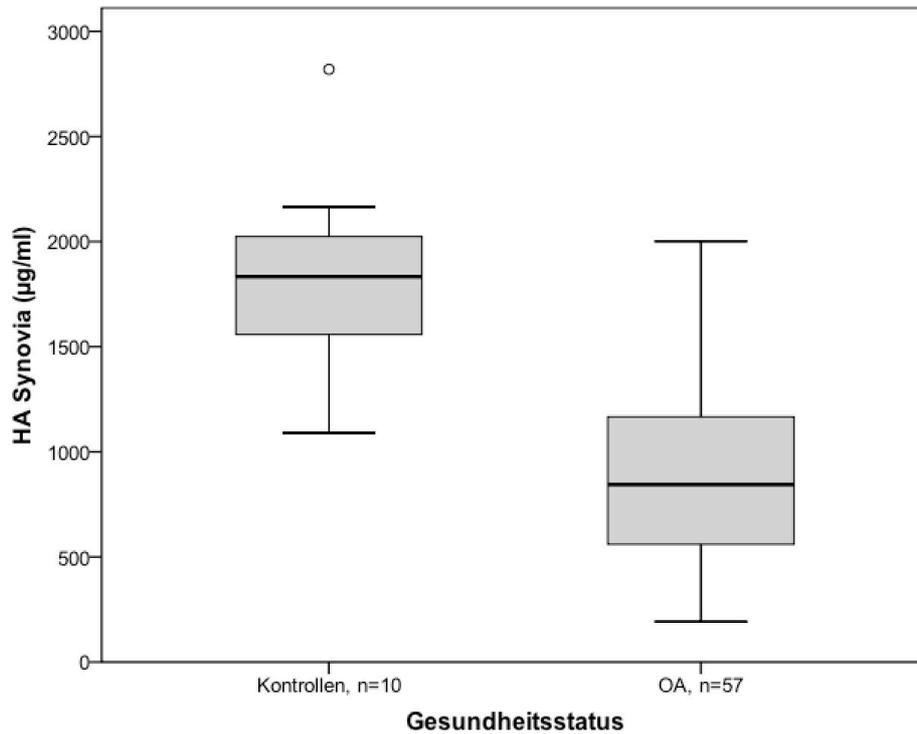
Die HA-Konzentration in Synovia und Serum OA-erkrankter Tiere sind für die zu verschiedenen Zeiten gewonnenen Punktate in Tabelle 4-17 dargestellt.

**Tabelle 4-17:** HA-Konzentration in Synovia und Serum bei Erst- und Folgepunktionen.

	Punktion I		Punktion II		Punktion III	
	Synovia	Serum	Synovia	Serum	Synovia	Serum
Anzahl	57	52	13	17	17	19
Min-Max (µg/ml)	193-2001	0,017-0,601	253-2086	0,0-1,411	686-2677	0,02-0,607
Median	844,44	0,082	789	0,122	1273	0,1204
Mittelwert	913,46	0,116	921,62	0,245	1448,35	0,157

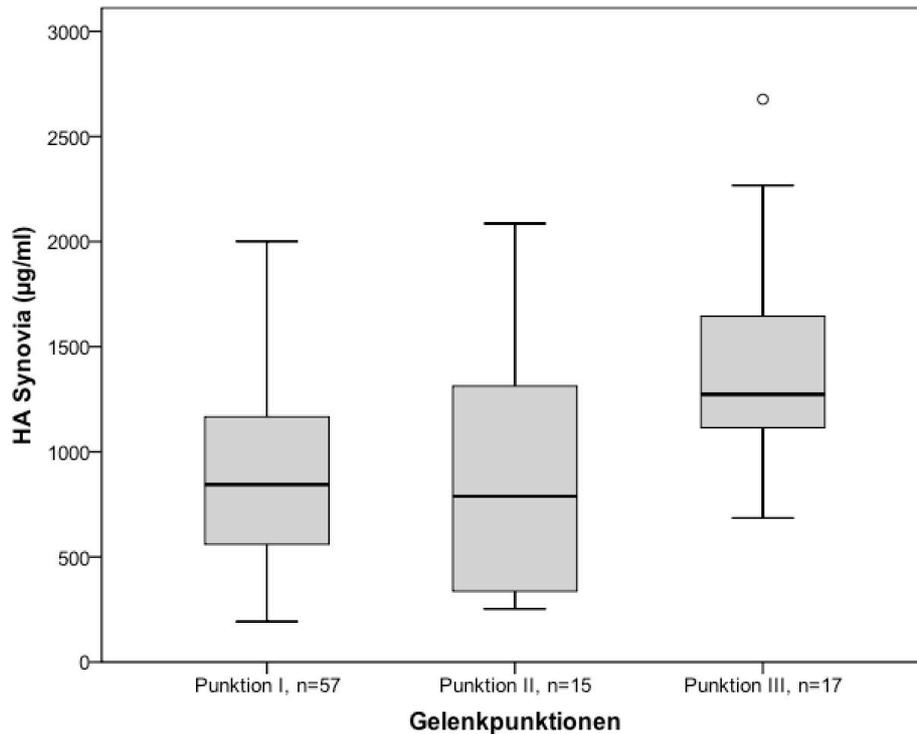
Die HA-Konzentration in Synoviaprobe der Erstpunktion war bei OA-erkrankten Tieren signifikant niedriger als bei der Kontrollgruppe ( $p < 0,001$ ) (Abbildung 4-14). Keine signifikanten Unterschiede waren in Serumproben festzustellen ( $p = 0,134$ ), obwohl tendenziell auch hier niedrigere Werte in der Patientengruppe vorlagen.

In Synoviaprobe von OA-Gelenken waren sowohl bei Punktion II ( $p = 0,003$ ) und Punktion III ( $p = 0,035$ ) signifikante Unterschiede der HA-Konzentration zu den Kontrollen (Zeitpunkt erste Gelenkpunktion) festzustellen. Bei allen Untersuchungen war die HA-Konzentration in der Synovia der OA-Patienten niedriger. In Serumproben wurde kein signifikanter Unterschied ermittelt (Punktion II:  $p = 0,544$ ; Punktion III:  $p = 0,751$ ).



**Abbildung 4-14:** HA-Konzentration in Synovia OA-freier (Kontrollen) und OA-erkrankter (OA) Gelenke.

Die HA-Konzentrationen in den Synoviaprobe der Erst- und Folgepunktionen wiesen signifikante Unterschiede auf ( $p=0,002$ ) (Abbildung 4-15). Verglichen mit Punkt I war die HA-Konzentration nach 16 Wochen signifikant höher ( $p=0,001$ ). Auch gegenüber Punkt II lag eine signifikant höhere Konzentration vor ( $p=0,024$ ). In den Serumproben waren signifikante Unterschiede der HA-Konzentrationen zwischen den Entnahmezeitpunkten festzustellen ( $p=0,037$ ), beim paarweisen Vergleich konnten die Unterschiede jedoch nicht genauer charakterisiert werden. Tendenziell konnte ein geringgradiger Anstieg der Konzentration über 16 Wochen beobachtet werden.



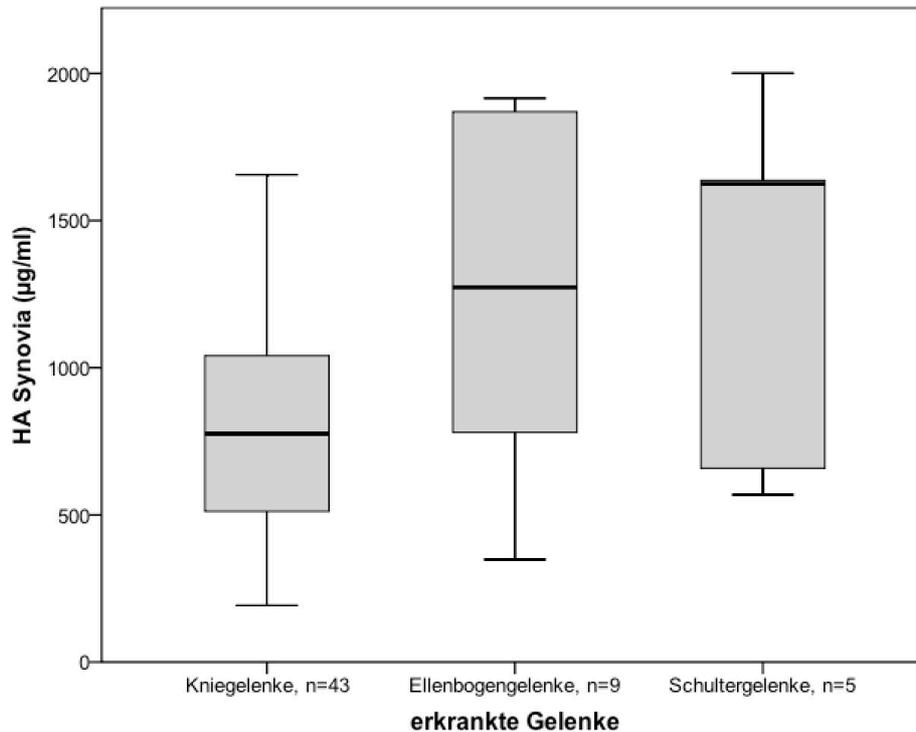
**Abbildung 4-15:** HA-Konzentration in Synovia im Verlauf der Folgeuntersuchungen.

#### 4.11.3 Korrelation der HA-Konzentration in Synovia und Serum

Es bestand keine statistisch signifikante Korrelation zwischen der HA-Konzentration der Synovia- und Serumproben ( $r_s = -0,19$ ;  $p = 0,885$ ).

#### 4.11.4 HA-Konzentration erkrankter Gelenke

Zwischen den verschiedenen Gelenken konnten signifikante Unterschiede der HA-Konzentration in Synoviaprobeen ermittelt werden ( $p = 0,043$ ). Im paarweisen Vergleich konnte dies nicht näher charakterisiert werden. Tendenziell wiesen Ellenbogen- und Schultergelenke höhere HA-Konzentrationen als Kniegelenke auf (Abbildung 4-16). Zwischen den HA-Werten im Serum konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden ( $p = 0,091$ ).



**Abbildung 4-16:** HA-Konzentration in Synovia verschiedener erkrankter Gelenke.

#### 4.11.5 HA-Konzentration und Befunde der orthopädischen Untersuchung

Mit zunehmender Lahmheit verringerte sich der Gehalt an HA in der Synovia signifikant ( $p < 0,001$ ). Zwischen Tieren ohne Lahmheit (Grad 0) und Tieren mit deutlich geringgradiger (Grad 2) ( $p = 0,003$ ), mittelgradiger (Grad 3) ( $p < 0,001$ ) oder hochgradiger (Grad 4) ( $p = 0,001$ ) Lahmheit konnten signifikante Unterschiede ermittelt werden. In Serumproben wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt ( $p = 0,282$ ).

Ein signifikanter Abfall der HA-Konzentration in Synoviaproben konnte auch mit zunehmender Schmerzhaftigkeit ( $p < 0,001$ ) und Gelenkfüllung ( $p = 0,001$ ) beobachtet werden, zwischen den Graden 0 und 1 (Schmerzhaftigkeit:  $p = 0,004$ ; Gelenkfüllung:  $p = 0,038$ ) und den Graden 0 und 2 (Schmerzhaftigkeit:  $p < 0,001$ ; Gelenkfüllung:  $p < 0,001$ ) ergaben sich jeweils signifikante Unterschiede. Im Serum zeigten sich für beide Parameter keine signifikanten Differenzen (Schmerzhaftigkeit:  $p = 0,186$ ; Gelenkfüllung:  $p = 0,681$ ).

Hinsichtlich der Krepitation konnten weder in Synovia- ( $p = 0,277$ ) noch in Serumproben ( $p = 0,989$ ) signifikante Unterschiede zwischen den HA-Konzentrationen der einzelnen Ausprägungsgrade festgestellt werden.

#### 4.11.6 HA-Konzentration und Röntgenbefunde

Zwischen den einzelnen Röntgengraden bestanden keine signifikanten Unterschiede der HA-Konzentrationen in Synovia- ( $p=0,376$ ) oder Serumproben ( $p=0,277$ ).

#### 4.11.7 HA-Konzentration und intraoperative Befunde

Mit zunehmender Schädigung von Gelenkkapsel und Synovialmembran wurde eine signifikante Abnahme der HA-Konzentration in Synovia beobachtet ( $p=0,017$ ). Im paarweisen Vergleich bestand ein signifikanter Unterschied zwischen Grad 0 und Grad 2 ( $p=0,025$ ). Im Serum ergaben sich keine signifikanten Unterschiede ( $p=0,235$ ). Zwischen den Ausprägungsgraden der Befunde an Gelenkknorpel (Synovia:  $p=0,639$ ; Serum:  $p=0,358$ ) oder knöchernen Strukturen (Synovia:  $p=0,979$ ; Serum:  $p=0,319$ ) ergaben sich keine signifikant unterschiedlichen HA-Konzentrationen.

#### 4.11.8 HA-Konzentration und Ausprägung der Osteoarthritis

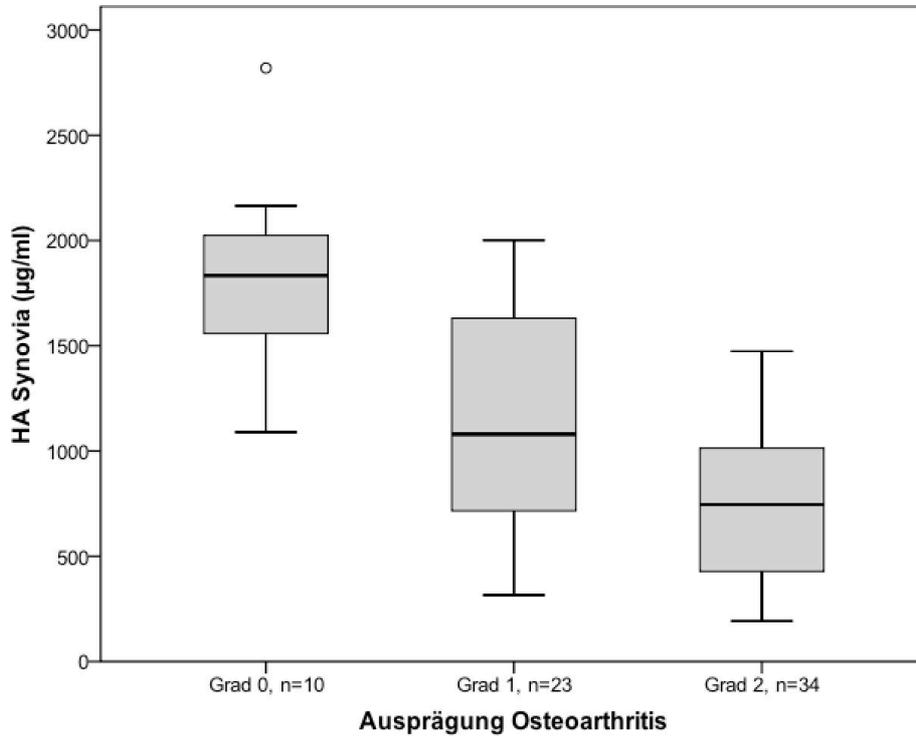
In Tabelle 4-18 sind die HA-Konzentrationen in Synovia- und Serumproben im Hinblick auf die verschiedenen Ausprägungen der OA dargestellt.

**Tabelle 4-18:** HA-Konzentration bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

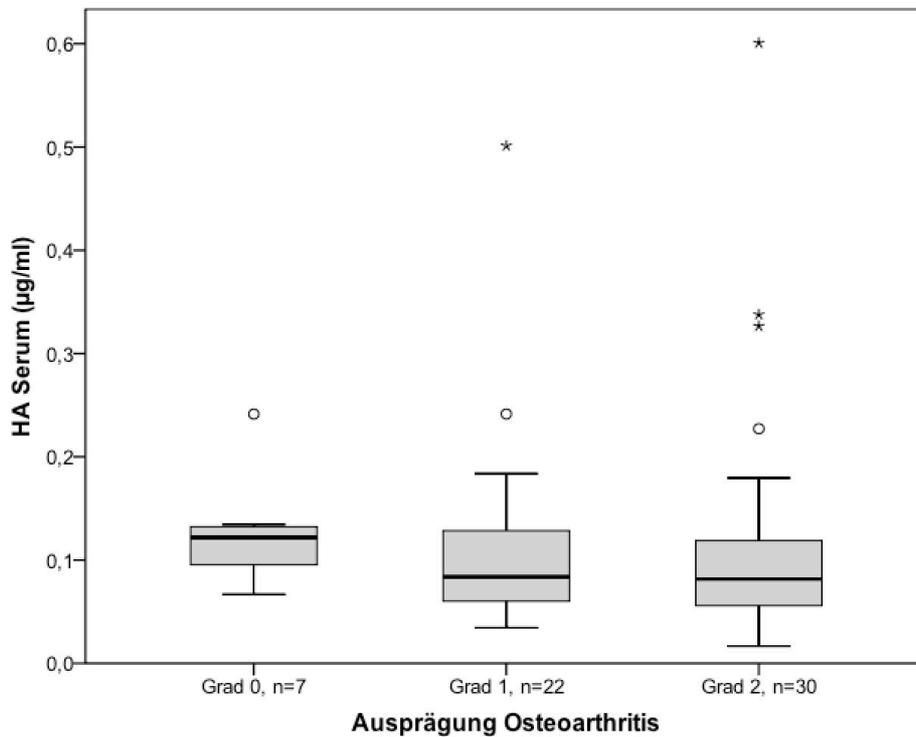
OA-Grad	Anzahl	Min-Max ( $\mu\text{g/ml}$ )	Median	Mittelwert
0				
Synovia	10	1090-2820	1833,73	1863,02
Serum	7	0,067-0,241	0,122	0,126
1				
Synovia	23	316-2001	1079,74	1155,05
Serum	22	0,035-0,501	0,084	0,114
2				
Synovia	34	193-1474	745,38	750,04
Serum	30	0,017-0,601	0,082	0,118

Die HA-Konzentration in Synoviaprobe n nahm mit zunehmender Ausprägung der OA signifikant ab ( $p<0,001$ ). Paarweise Vergleiche der einzelnen Grade ergaben signifikante Unterschiede der HA-Konzentration zwischen Gelenken ohne OA (Grad 0) und mit geringgradiger OA (Grad 1) ( $p=0,019$ ), zwischen Gelenken ohne OA und mit hochgradiger OA (Grad 2) ( $p<0,001$ ) sowie zwischen Gelenken mit geringgradiger (Grad 1) und hochgradiger OA (Grad 2) ( $p=0,03$ ) (Abbildung 4-17).

Im Serum konnten keine signifikanten Konzentrationsunterschiede der HA im Vergleich der Gruppen festgestellt werden ( $p=0,311$ ), obwohl auch hier die HA-Werte bei Tieren mit OA gegenüber Tieren ohne OA absanken (Abbildung 4-18).



**Abbildung 4-17:** HA-Konzentration in Synovia bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.



**Abbildung 4-18:** HA-Konzentration in Serum bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

## 4.12 C2C-Konzentration

### 4.12.1 C2C-Konzentration bei Patienten, Kontrollen und Folgeuntersuchungen

In Synovialproben der Kontrollgelenke wurden C2C-Konzentrationen von 101-188 ng/ml ( $n=8$ ;  $x_{0,5}$  162;  $\bar{x}$  153,38) gemessen. Im Serum betragen die Werte 288-479 ng/ml ( $n=6$ ;  $x_{0,5}$  389;  $\bar{x}$  391).

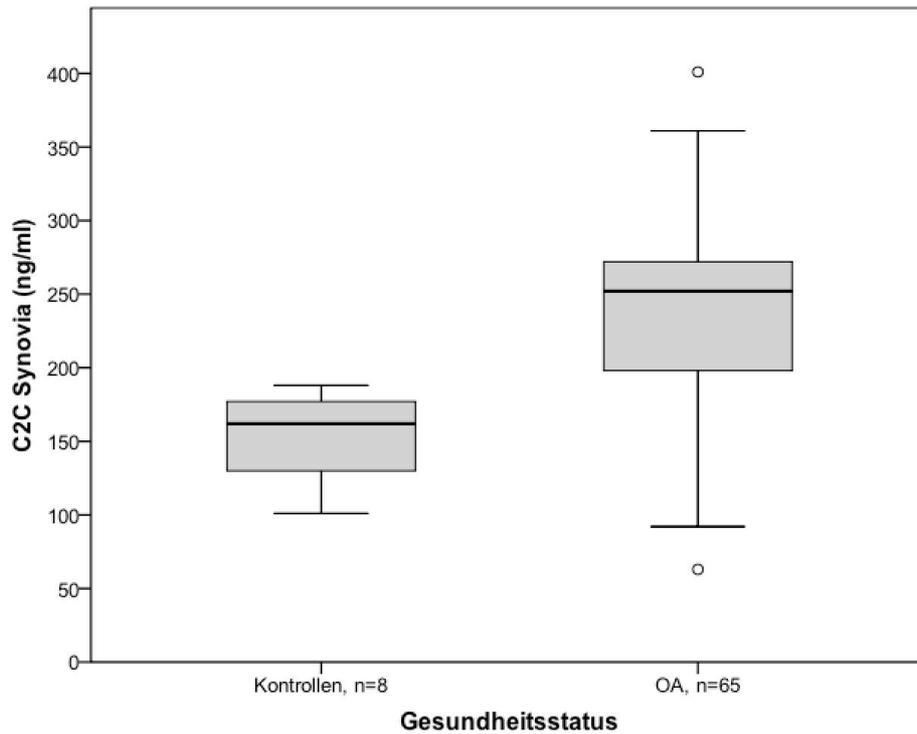
Tabelle 4-19 zeigt die C2C-Konzentrationen in Synovia und Serum OA-erkrankter Tiere bei den Erst- und Folgepunktionen.

**Tabelle 4-19:** C2C-Konzentration in Synovia und Serum bei Erst- und Folgepunktionen.

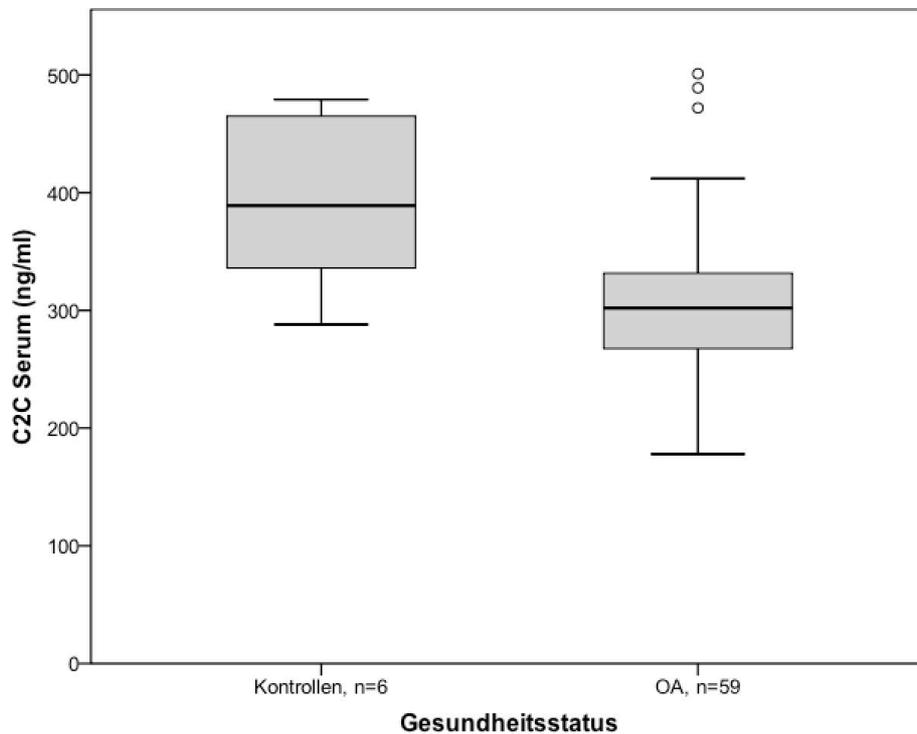
	Punktion I		Punktion II		Punktion III	
	Synovia	Serum	Synovia	Serum	Synovia	Serum
Anzahl	65	59	15	19	17	19
Min-Max (ng/ml)	63-401	178-501	149-467	270-431	118-356	264-434
Median	252	302	253	324	242	303
Mittelwert	239,06	307,07	258,6	337,53	224,88	318,32

Bei der Erstpunktion bestanden in Synovia ( $p=0,001$ ) und Serum ( $p=0,016$ ) signifikante Unterschiede der C2C-Konzentrationen zwischen Kontrolltieren und Patienten (Abbildung 4-19 und 4-20). Gegenüber den gesunden Kontrollen war die C2C-Konzentration in Synovia erhöht und im Serum erniedrigt.

Verglichen mit der Kontrollgruppe (Zeitpunkt erste Gelenkpunktion) bestanden bei der zweiten Untersuchung der Patientengruppe signifikante Unterschiede in den C2C-Konzentrationen in Synovia- ( $p=0,001$ ), aber nicht in Serumproben ( $p=0,092$ ). In der Synovia der OA-Patienten waren die C2C-Werte höher. Bei Punktion III wurden signifikante Unterschiede der C2C-Konzentrationen in Synovia- ( $p=0,012$ ) und Serumproben ( $p=0,026$ ) zwischen den Kontrollen (Zeitpunkt erste Gelenkpunktion) und den Erkrankten ermittelt. In der Synovia waren die Konzentrationen bei OA-kranken Tieren höher und im Serum niedriger als bei OA-freien Kontrollen.



**Abbildung 4-19:** C2C-Konzentration in Synovia OA-freier (Kontrollen) und OA-erkrankter (OA) Gelenke.



**Abbildung 4-20:** C2C-Konzentration in Serum OA-freier (Kontrollen) und OA-erkrankter (OA) Gelenke.

Zwischen den Erst- und Folgepunktionen der erkrankten Gelenke konnten weder in Synovia- ( $p=0,592$ ) noch in Serumproben ( $p=0,059$ ) signifikante Unterschiede der C2C-Konzentrationen festgestellt werden.

#### 4.12.2 Korrelation der C2C-Konzentration in Synovia und Serum

Es bestand keine statistisch signifikante Korrelation zwischen den C2C-Konzentrationen der Synovia- und Serumproben ( $r_s=0,04$ ;  $p=0,753$ ).

#### 4.12.3 C2C-Konzentration erkrankter Gelenke

Zwischen den verschiedenen Gelenken konnten signifikante Unterschiede in den C2C-Konzentrationen der Synovia ( $p=0,005$ ) ermittelt werden. Paarweise verglichen lag ein Unterschied zwischen Knie- und Ellenbogengelenken vor: Die C2C-Konzentration in Kniegelenksproben war signifikant höher als in Ellenbogengelenken ( $p=0,028$ ) (Abbildung 4-21). Im Serum konnten keine signifikanten Unterschiede der C2C-Werte festgestellt werden ( $p=0,076$ ).

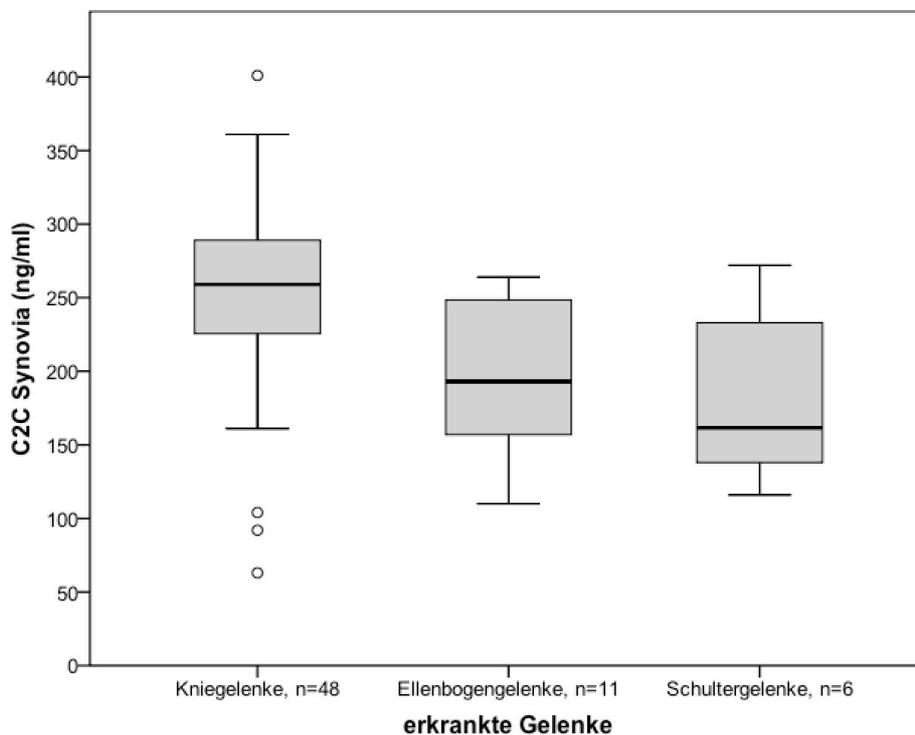


Abbildung 4-21: C2C-Konzentration in Synovia verschiedener erkrankter Gelenke.

#### **4.12.4 C2C-Konzentration und Befunde der orthopädischen Untersuchung**

Es konnten signifikante Unterschiede der C2C-Konzentrationen in Synovia zwischen den Lahmheitsgraden ermittelt werden ( $p=0,003$ ). Bei Patienten mit bis zu mittelgradiger Lahmheit stieg die Konzentration an. Zwischen lahmheitsfreien Tieren und Hunden mit deutlich geringgradiger (Grad 2) ( $p=0,003$ ) oder mittelgradiger (Grad 3) ( $p=0,007$ ) Lahmheit wurde ein signifikanter Anstieg von C2C ermittelt. Auch im Serum konnten signifikante Unterschiede zwischen den C2C-Konzentrationen bei verschiedenen Schweregraden der Lahmheit berechnet werden ( $p=0,043$ ), allerdings waren mit Hilfe paarweiser Vergleiche keine signifikanten Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen ermittelbar. Im Serum sank bis zu Lahmheitsgrad 3 die C2C-Konzentration eher ab.

Bei den Parametern Schmerzhaftigkeit ( $p=0,002$ ) und Gelenkfüllung ( $p=0,012$ ) wurden in der Synovia signifikante Unterschiede der C2C-Konzentration zwischen den Ausprägungsgraden festgestellt. Im Detail stiegen bei beiden Parametern die C2C-Werte insbesondere zwischen den Schweregraden 0 und 1 signifikant an (Schmerzhaftigkeit:  $p=0,001$ ; Gelenkfüllung:  $p=0,006$ ). Im Serum lagen keine signifikanten Unterschiede vor (Schmerzhaftigkeit:  $p=0,365$ ; Gelenkfüllung:  $p=0,110$ ). Es wurde jedoch eher ein Absinken der C2C-Konzentrationen beobachtet.

Weder in Synovia- ( $p=0,181$ ) noch im Serumproben ( $p=0,726$ ) konnten signifikante Unterschiede der C2C-Werte zwischen den Graden der Krepitation ermittelt werden.

#### **4.12.5 C2C-Konzentration und Röntgenbefunde**

Zwischen den Röntgengraden konnten keine signifikanten Unterschiede in den C2C-Konzentrationen in Synovia ( $p=0,052$ ) oder Serum ( $p=0,555$ ) beobachtet werden.

#### **4.12.6 C2C-Konzentration und intraoperative Befunde**

Zwischen den Ausprägungen der intraoperativen Befunde der Gelenkkapsel und Synovialmembran (Synovia:  $p=0,272$ ; Serum:  $p=0,071$ ), des Gelenkknorpels (Synovia:  $p=0,37$ ; Serum:  $p=0,055$ ) und der knöchernen Strukturen (Synovia:  $p=0,83$ ; Serum:  $p=0,835$ ) bestanden keine Unterschiede der C2C-Konzentrationen.

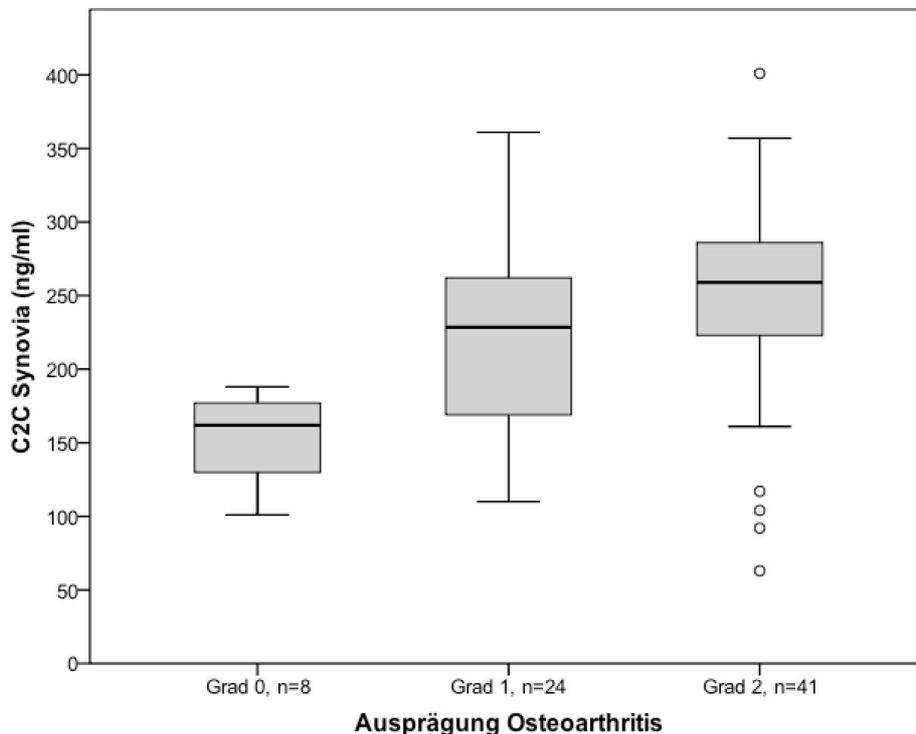
#### **4.12.7 C2C-Konzentration und Ausprägung der Osteoarthritis**

Die Ergebnisse der C2C-Messungen bei den verschiedenen OA-Graden sind in Tabelle 4-20 dargestellt.

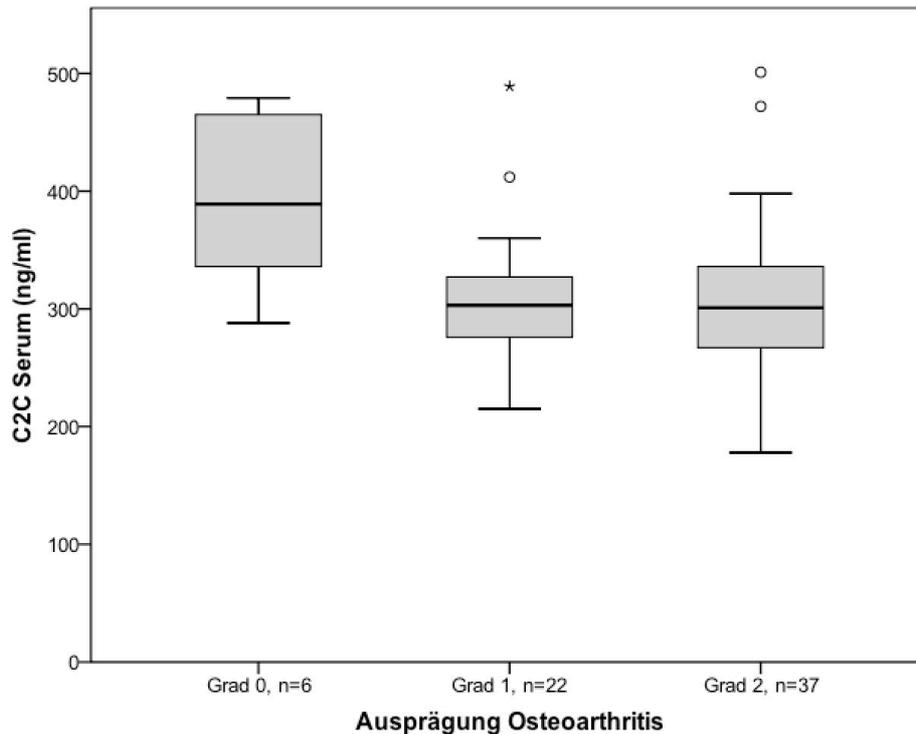
**Tabelle 4-20:** C2C-Konzentration bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

OA-Grad	Anzahl	Min-Max (ng/ml)	Median	Mittelwert
<b>0</b>				
Synovia	8	101-188	162	153,38
Serum	6	288-479	389	391
<b>1</b>				
Synovia	24	110-361	228,5	218,63
Serum	22	215-489	303	310,95
<b>2</b>				
Synovia	41	63-401	259	251,02
Serum	37	178-501	301	304,51

Es konnte ein signifikanter Anstieg der C2C-Konzentration in Synovialproben bei zunehmender Ausprägung der OA festgestellt werden ( $p=0,001$ ). Die C2C-Werte der Synovia von Patienten mit hochgradiger OA (Grad 2) waren im paarweisen Vergleich signifikant höher ( $p=0,001$ ), als bei Tieren ohne OA (Grad 0) (Abbildung 4-22). In Serumproben wurden ebenfalls signifikante Unterschiede der C2C-Konzentration zwischen den OA-Graden festgestellt ( $p=0,049$ ): Tiere mit OA wiesen niedrigere Konzentrationen auf. Im Paarvergleich der Grade waren signifikant höhere C2C-Konzentrationen bei Hunden ohne OA (Grad 0) gegenüber Tieren mit hochgradiger OA (Grad 2) ( $p=0,042$ ) auszumachen (Abbildung 4-23).



**Abbildung 4-22:** C2C-Konzentration in Synovia bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.



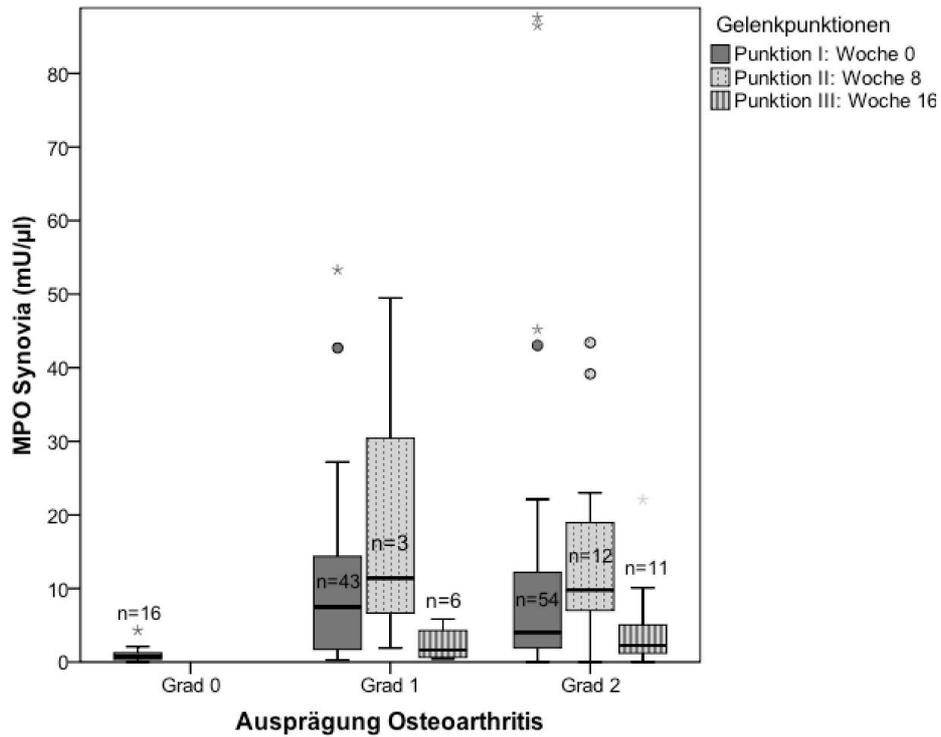
**Abbildung 4-23:** C2C-Konzentration in Serum bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

### 4.13 Osteoarthritis-Grade und Verlauf der Marker über 16 Wochen

Weder bei Patienten mit OA-Grad 1 ( $p=0,368$ ) noch mit OA-Grad 2 ( $p=0,828$ ) ergaben sich signifikante Unterschiede in der Gesamtzellzahl der Synovia zwischen den Erst- und Folgepunktionen.

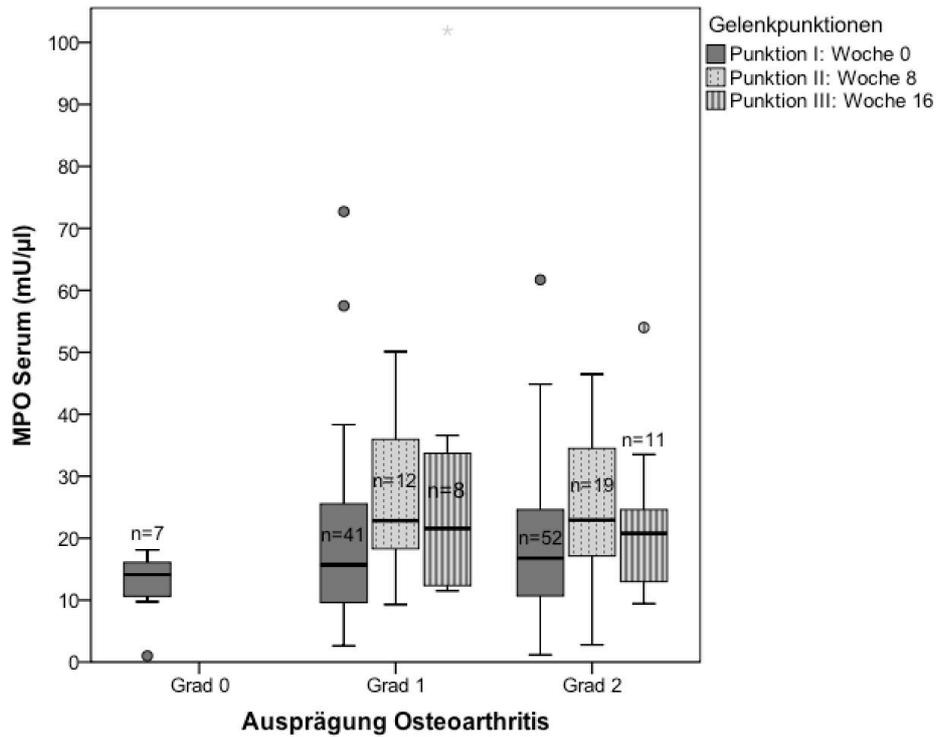
Die MPO-Aktivität in Synoviaprobe bei Tieren mit OA-Grad 1 und 2 wies bei der Zweitpunktion (Woche 8) eine höhere Aktivität als bei der Erstpunktion auf. Ein Aktivitätsabfall war bei beiden Graden nach 16 Wochen festzustellen.

Bei OA-Grad 1 war jedoch kein signifikanter Unterschied ( $p=0,104$ ) über die 3 Gelenkpunktionen festzustellen. Bei OA-Grad 2 änderten sich die MPO-Aktivitäten signifikant ( $p=0,021$ ). Zwischen der Zweit- und Drittpunktion nahm die MPO-Aktivität in der Synovia signifikant ab ( $p=0,018$ ) (Abbildung 4-24).



**Abbildung 4-24:** MPO-Aktivität in Synovia im Verlauf über 16 Wochen bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

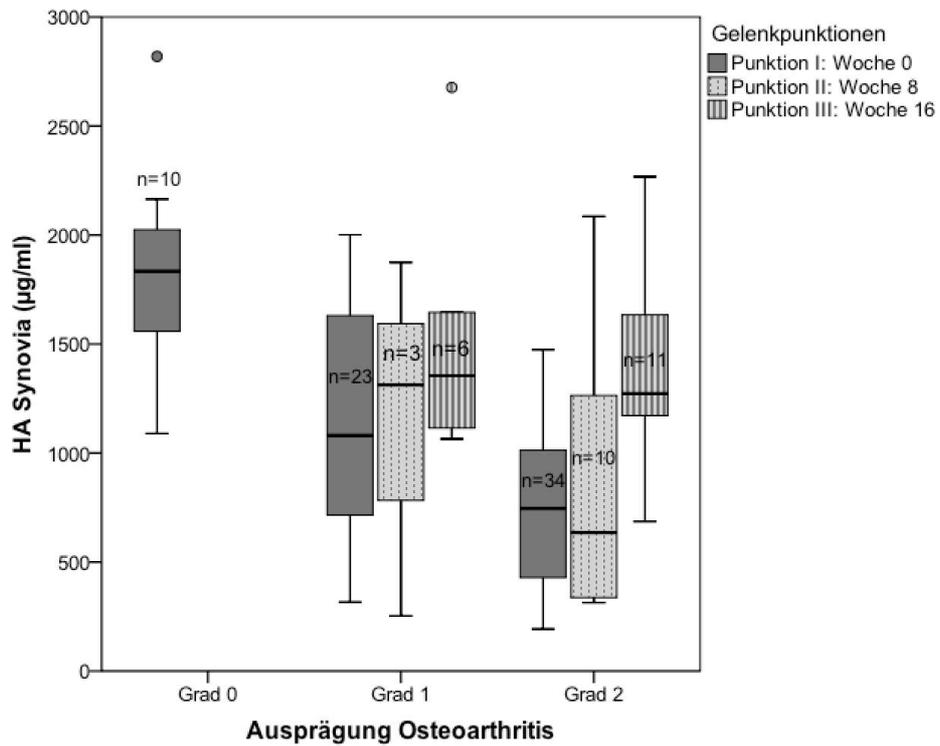
Im Serum wurden signifikante Unterschiede der MPO-Aktivität bei OA-Grad 1 festgestellt ( $p=0,049$ ), aber nicht bei OA-Grad 2 ( $p=0,137$ ). Bei beiden OA-Graden stieg die MPO-Aktivität nach 8 Wochen an und sank geringfügig nach 16 Wochen wieder ab (Abbildung 4-25).



**Abbildung 4-25:** MPO-Aktivität im Serum im Verlauf über 16 Wochen bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

Die CRP-Konzentrationen in Synovia- ( $p=0,492$ ) und Serumproben ( $p=0,364$ ) von Patienten mit OA-Grad 1 differierten zwischen Erst- und Folgepunktionen nicht signifikant. Auch für Patienten mit OA-Grad 2 konnten weder in Synovia- ( $p=0,520$ ) noch in Serumproben ( $p=0,717$ ) signifikante Unterschiede ermittelt werden.

Bei OA-Grad 1 waren weder in Synovia ( $p=0,511$ ) noch Serum ( $p=0,798$ ) signifikante Unterschiede der HA-Konzentrationen festzustellen, obwohl die Konzentration in Synoviaprobe sowohl bei OA-Grad 1 als auch bei OA-Grad 2 nach 16 Wochen anstieg (Abbildung 4-26). Signifikant war der Unterschied der synovialen HA-Konzentration zwischen den Punktionen von Woche 0 und Woche 16 ( $p=0,001$ ) sowie von Woche 8 und Woche 16 ( $p=0,034$ ) bei Gelenken mit OA-Grad 2. Auch im Serum von Tieren mit OA-Grad 2 wurden allgemeine signifikante Unterschiede zwischen den Entnahmen beobachtet ( $p=0,039$ ), diese konnten beim paarweisen Vergleich nicht näher charakterisiert werden. Nach Woche 8 und Woche 16 zeichnete sich ein geringgradiger Anstieg der Konzentrationen ab.



**Abbildung 4-26:** HA-Konzentration in Synovia im Verlauf über 16 Wochen bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

Die C2C-Konzentration in Synovia- ( $p=0,78$ ) und Serumproben ( $p=0,629$ ) von Patienten mit OA-Grad 1 unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Erst- und Folgepunktionen. Dies traf auch für Synovia ( $p=0,292$ ) und Serum ( $p=0,081$ ) von Hunden mit OA-Grad 2 zu.

## 4.14 Osteoarthritis-Grade und Quotienten der Marker

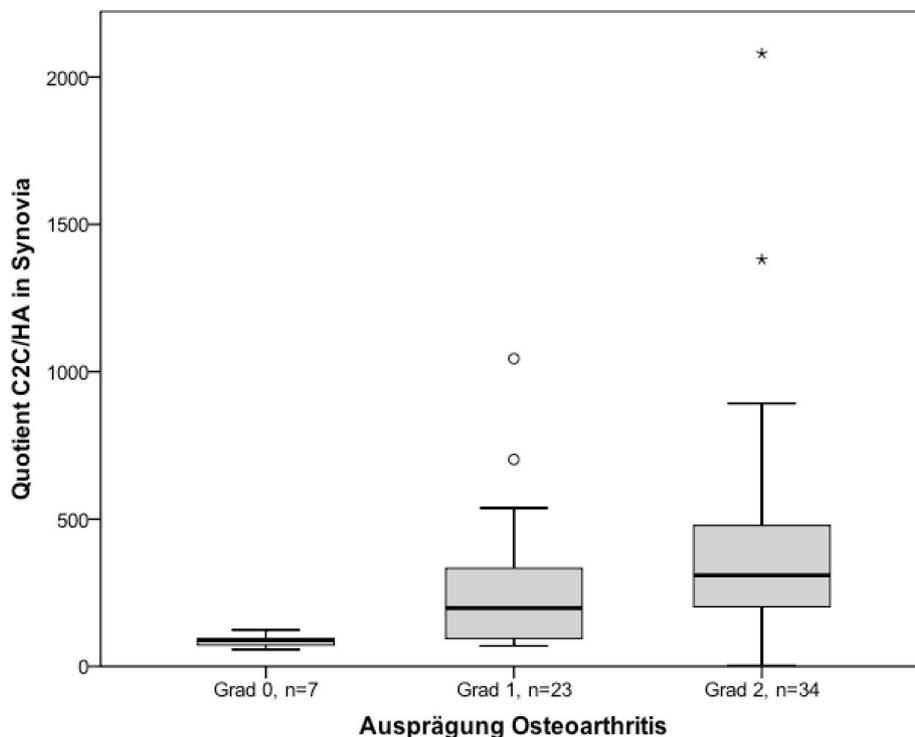
### 4.14.1 C2C/HA-Quotient

Zwischen den HA- und den C2C-Konzentrationen in der Synovia bestand eine signifikant negative Korrelation ( $r_s = -0,563$ ;  $p < 0,001$ ) mittlerer Ausprägung. Die C2C/HA-Quotienten, die in der Synovia bei den einzelnen OA-Graden ermittelt wurden, sind in Tabelle 4-21 dargestellt.

**Tabelle 4-21:** C2C/HA-Quotient aus Synovia bei verschiedener Ausprägung der OA.

OA-Grad	Anzahl	Min-Max	Median	Mittelwert
0	7	56,78-123,48	87,92	85,96
1	23	69,62-1044,45	197,83	272,56
2	34	3,13-2079,88	309,21	441,99

Daraus zu ersehen ist, dass je größer der Quotient, desto hochgradiger ist die OA ( $p < 0,001$ ). Es konnten jeweils signifikante Unterschiede zwischen C2C/HA-Quotienten in Synovia von Patienten mit OA-Grad 0 und OA-Grad 1 ( $p = 0,04$ ) und von denen mit OA-Grad 0 und OA-Grad 2 ( $p < 0,001$ ) festgestellt werden (Abbildung 4-27).



**Abbildung 4-27:** Quotient aus C2C/HA in Synovia bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

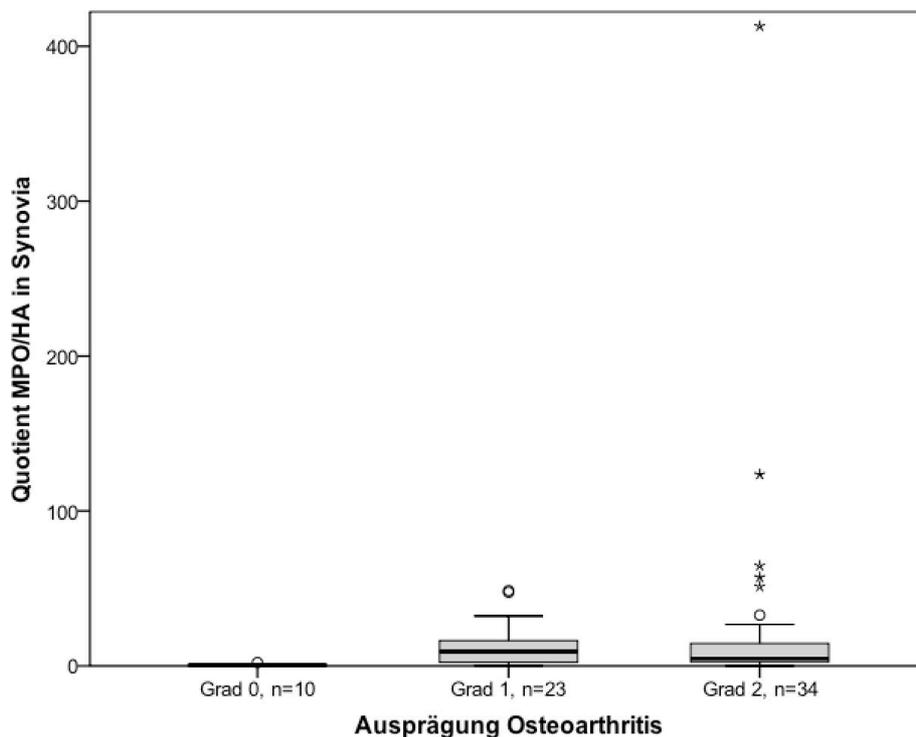
#### 4.14.2 MPO/HA-Quotient

Zwischen der HA-Konzentration und MPO-Aktivität in Synovialproben bestand eine signifikant negative Korrelation ( $r_s = -0,356$ ;  $p = 0,003$ ), die schwach ausgeprägt war. Die C2C/HA-Quotienten die bei den einzelnen OA-Graden ermittelt wurden sind in Tabelle 4-22 dargestellt.

**Tabelle 4-22:** MPO/HA-Quotient in Synovia bei verschiedener Ausprägung der OA.

OA-Grad	Anzahl	Min-Max	Median	Mittelwert
0	10	0,0-2,144	0,486	0,663
1	23	0,136-48,596	9,234	13,541
2	34	0,0-412,951	4,643	27,058

Es lagen signifikante Unterschiede zwischen den Quotienten bei verschiedenen Ausprägungen der OA vor ( $p < 0,001$ ). Signifikante Unterschiede ließen sich zwischen den Quotienten von Gelenken ohne OA (Grad 0) und mit geringgradiger OA (Grad 1) ( $p = 0,001$ ) bzw. denen mit hochgradiger OA (Grad 2) ( $p = 0,001$ ) errechnen (Abbildung 4-28).



**Abbildung 4-28:** Quotient aus MPO/HA in Synovia bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

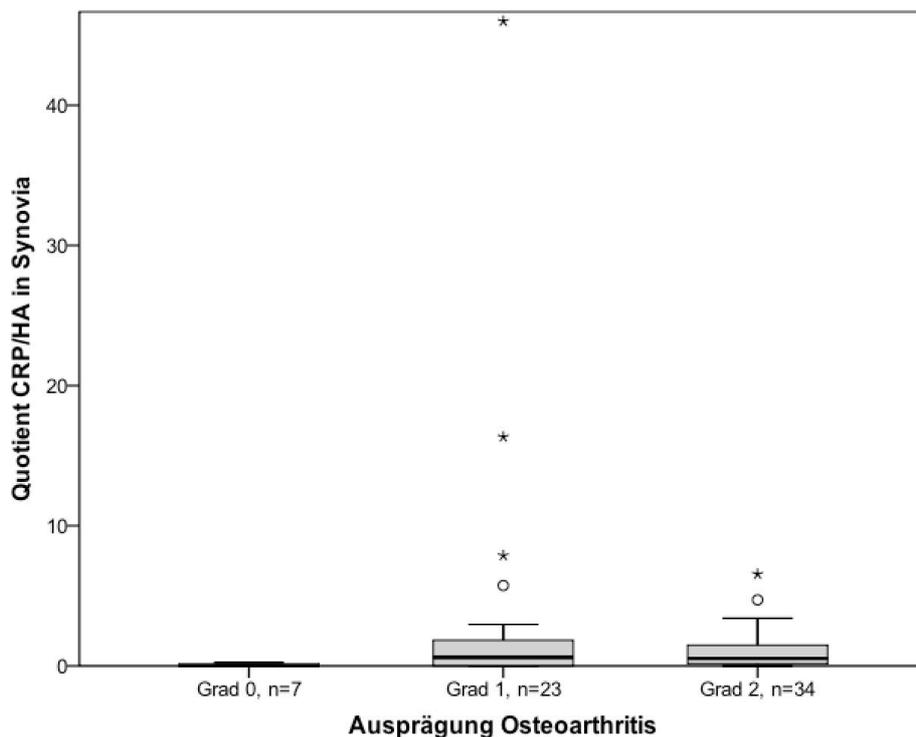
### 4.14.3 CRP/HA-Quotient

Zwischen der HA- und CRP-Konzentration in Synoviaprobe wurde eine signifikant negative Korrelation ( $r_s = -0,476$ ;  $p < 0,001$ ) schwacher Ausprägung ermittelt. Die CRP/HA-Quotienten, die in Synoviaprobe bei den einzelnen OA-Graden berechnet wurden, sind in Tabelle 4-23 dargestellt.

**Tabelle 4-23:** CRP/HA-Quotient in Synovia bei verschiedener Ausprägung der OA.

OA-Grad	Anzahl	Min-Max	Median	Mittelwert
0	7	0,0-0,211	0,0	0,069
1	23	0,0-46,0	0,607	3,775
2	34	0,0-6,551	0,521	1,138

Bei den verschiedenen Ausprägungsgraden der OA wurde signifikante Unterschiede zwischen den Quotienten festgestellt ( $p = 0,03$ ). Beim paarweisen Vergleich konnten diese zwischen den Gelenken ohne OA (Grad 0) und mit hochgradiger OA (Grad 2) ( $p = 0,024$ ) ermittelt werden (Abbildung 4-29).



**Abbildung 4-29:** Quotient aus CRP/HA in Synovia bei unterschiedlicher Ausprägung der OA.

## 5 Diskussion

### 5.1 Patienten und Kontrolltiere

Bei den OA-erkrankten Tieren zeichnete sich mit 31 verschiedenen Rassen und 16 Mischlingshunden eine große Rassevielfalt ab. Besonders häufig erkrankt waren Hunde großwüchsiger Rassen (81,5%), während mittelgroße und kleinwüchsige Rassen mit 17,4% bzw. 1,1% deutlich seltener betroffen waren. Dies reflektiert das typische Inzidenzmuster der OA in der Hundepopulation, da von skelettalen Entwicklungsstörungen oder der Ruptur des Lcc überwiegend Hunde mittel- bis großwüchsiger Rassen betroffen sind (VAUGHAN und JONES, 1968; WOLFE, 1976; BRUNNBERG *et al.*, 1978; BENNETT *et al.*, 1981; BRUNNBERG, 1987; BENNETT *et al.*, 1988; RUDD *et al.*, 1990; MEYER-LINDENBERG *et al.*, 1991; WHITEHAIR *et al.*, 1993; SJÖSTRÖM *et al.*, 1995; TACKE *et al.*, 1999; MEYER-LINDENBERG *et al.*, 2002; COOPMAN *et al.*, 2008; HAZEWINKEL, 2008; JANUTTA und DISTL, 2008). Da nur Hunde mit einem Körpergewicht von >10 kg einbezogen wurden, sind kleinwüchsige Rassen in dieser Studie unterrepräsentiert.

In Übereinstimmung mit BRUNNBERG *et al.* (1978), RUDD *et al.* (1990) und TACKE *et al.* (1999) waren an einer OCD des Schultergelenks vor allem Hunde mittelgroßer bis großer Rassen im ersten Lebensjahr erkrankt. Entsprechend der angegebenen Geschlechterprädisposition waren alle Tiere männlich. Die geringe Fallzahl (n=6) zeigt jedoch nur einen Trend auf, und ist nicht statistisch repräsentativ.

Die Rasseverteilung von Hunden mit einem FPC entspricht den Angaben aus der Literatur (MEYER-LINDENBERG *et al.*, 2002; COOPMAN *et al.*, 2008; JANUTTA und DISTL, 2008). Meist erfolgt die Vorstellung bis zu einem Alter von 1,5 Jahren. In dieser Untersuchung traf das auf 36,4% der Patienten zu. Alle anderen wurden in einem späteren Alter von 2 bis 12,2 Jahren vorstellig. Aufgrund des heutigen Wissensstandes zur Ätiopathogenese der Erkrankung (GRONDALEN und GRONDALEN, 1981; WIND, 1986; GUTHRIE und PIDDUCK, 1990; ZENTEK *et al.*, 1995; EVERTS *et al.*, 2000; GEMMILL *et al.*, 2005; GEMMILL und CLEMENTS, 2007; HAZEWINKEL, 2008) kann angenommen werden, dass es sich bei diesen Patienten um eine chronische Verschleppung eines frühzeitigen Primärsinhalts, der Fraktur des Processus coronoideus medialis, handelt. Eine Geschlechterprädisposition liegt nicht vor.

Auch für die Erkrankungen ED und OCD im Ellenbogengelenk entspricht das Rassevorkommen dieser Untersuchung den Angaben aus der Literatur (WOOD *et al.*, 1975; WOLFE, 1976; BENNETT *et al.*, 1981; GRONDALEN und GRONDALEN, 1981; GUTHRIE *et al.*,

1992). Bei beiden Erkrankungen wurden die Tiere überwiegend in einem höheren Lebensalter vorgestellt, auch hier kann jedoch von einer früheren Primärschädigung des Gelenks ausgegangen werden. Aufgrund der geringen Fallzahl von Hunden mit Entwicklungsstörungen im Ellenbogengelenk ist eine weitergehende Diskussion in Bezug auf die Literatur nicht sinnvoll.

Rupturen des Lcc sind bei einer Vielzahl von Hunderassen in einem Alter von 7 bis 10 Jahren beschrieben, wobei schwere Hunde häufig in einem jüngeren Alter betroffen waren (BENNETT *et al.*, 1988; WHITEHAIR *et al.*, 1993; DUVAL *et al.*, 1999). Die vorliegende Untersuchung ergab mit 25 verschiedenen Rassen ebenfalls eine große Varietät, wobei die in der Literatur genannten Risikorassen wie Rottweiler, Retriever und Mastiff häufiger vertreten, und insgesamt überwiegend großwüchsige Hunderassen betroffen waren. Die Altersverteilung entspricht den Angaben der Literatur (BENNETT *et al.*, 1988; WHITEHAIR *et al.*, 1993; DUVAL *et al.*, 1999).

Hunde mit einem Körpergewicht von < 10 kg wurden in die Studie nicht einbezogen, so dass Hunde kleinwüchsiger Rassen, die typischerweise von einer Luxatio patellae congenitalis medialis betroffen sind (FRITZ, 1989), nicht berücksichtigt wurden. Allgemein wurde jedoch eine Zunahme der Erkrankungsprävalenz bei großwüchsigen Hunderassen beobachtet (GIBBONS *et al.*, 2006; BOUND *et al.*, 2009), so dass auch Tiere mittelgroß- und großwüchsiger Rassen in die Untersuchung aufgenommen wurden. Die geringe Fallzahl (n=8) lässt jedoch keine Aussage über die Inzidenz bestimmter Rassen zu.

Weitere primäre Gelenkerkrankungen wie Bizepstendinitis, IPA oder Gonitis wurden nur als Einzelfälle in die Untersuchung aufgenommen. Sie entsprechen hinsichtlich Rasse und Alter den Literaturangaben (LJUNGGREN *et al.*, 1966; GUTHRIE, 1989; MEYER-LINDENBERG *et al.*, 1991; SJÖSTRÖM *et al.*, 1995; STOBIE *et al.*, 1995; BRUCE *et al.*, 2000; WERNHAM *et al.*, 2008), können aber vor diesem Hintergrund als Einzelfälle nicht näher diskutiert werden.

Das Patientengut entspricht damit im Wesentlichen dem anderer Untersuchungen. Verzerrungen durch die Inhomogenität der Gruppen, aber auch durch die mögliche regionale oder temporäre Popularität bestimmter Hunderassen und die Tatsache, dass die Probanden aus dem Patientengut einer Überweisungsklinik mit orthopädischen Schwerpunkt rekrutiert wurden, sind nicht auszuschließen.

Ziel der Studie war die Untersuchung von Biomarkern bei Hunden mit OA. Daher wurde eine Vielzahl verschiedener primärer Gelenkerkrankungen, die sekundär zu einer OA führen, einbezogen. Aufgrund der Inhomogenität der Gruppen bezüglich der einzelnen Erkrankungsbilder, insbesondere der Gruppengröße, Rasse, dem Alter, Geschlecht und Gewicht, ist daher ein Vergleich nur unter Vorbehalt möglich.

Als Kontrollen wurden Gelenke verwendet, die aufgrund der klinisch-orthopädischen, röntgenologischen und/oder makroskopischen Befunde keine Anzeichen osteoarthritischer Prozesse vorwiesen. Es wurden 12 Gelenke von Patienten mit einbezogen, bei denen der initiale Verdacht einer Gelenkpathologie (wie OC/OCD, Mono- oder Polyarthritits, Borreliose) oder systemischer Erkrankungen bestand, dieser aber nicht bestätigt werden konnte. Vier weitere Patienten wurden aufgrund anderer Erkrankungen eingeschläfert. Diese Tiere wiesen systemische Grunderkrankungen auf, so dass die Seren dieser Tiere in die Studie einbezogen werden konnten.

Zwischen der Patientengruppe und den Kontrolltieren ergaben sich hinsichtlich Rasse, Alter, Geschlecht und Körpergewicht keine Differenzen, so dass beide Gruppen als vergleichbar anzusehen waren.

## **5.2 Anamnese und klinische Allgemeinuntersuchung**

Zwanzig Hunde (21,7%) waren mit steroidal oder nicht-steroidal Entzündungshemmern vorbehandelt. Bei den Parametern MPO, CRP, HA und C2C lagen in Synovia oder Serum keine signifikanten Unterschiede zwischen Hunden mit und ohne medikamenteller Vorbehandlung vor. Die MPO-Aktivität vorbehandelter Tiere war in Synovia und Serum im Median geringgradig niedriger als bei nicht-vorbehandelten. Die CRP-Konzentration in der Synovia vorbehandelter Tiere war im Median ebenfalls geringgradig erniedrigt, im Serum dagegen höher als bei nicht-vorbehandelten. Auch für die HA-Konzentrationen ergaben sich geringgradige Abweichungen der Mediane zwischen den Gruppen: In Synovia waren die Konzentrationen bei vorbehandelten Tieren geringgradig niedriger und im Serum geringgradig höher. Bei den C2C-Konzentrationen beider Gruppen fallen in Synovia und Serum keine Unterschiede im Median auf.

Anders zu den eigenen Ergebnissen wurden in einer Untersuchung von BAUER (2006) bei einer ähnlichen Population, in der 44% der Tiere mit NSAID vorbehandelt waren, keine Unterschiede der MPO-Aktivitäten in Synovia und Serum zwischen unbehandelten und vorbehandelten Tieren festgestellt. Die CRP-Konzentration im Serum war im Median bei vorbehandelten Hunden niedriger. Angaben zu statistisch signifikanten Unterschieden liegen nicht vor. Weitere Studien lassen jedoch darauf schließen, dass die CRP-Konzentration durch eine antiphlogistische Therapie nicht beeinträchtigt wird. Nach CALDIN *et al.* (2009) und MARTINEZ-SUBIELA *et al.* (2004) besteht kein direkter Einfluss endo- oder exogener Glukokortikoide auf CRP-Konzentrationen im Serum von Hunden. BORER *et al.* (2003) untersuchten Hunde mit induzierter Synovialitis, die mit den NSAID Carprofen, Meloxicam

oder Etodolac behandelt wurden. Im Vergleich zu den Kontrolltieren, die keine Medikamente erhielten, wurden keine Unterschiede der CRP-Konzentrationen im Serum festgestellt.

Die CRP-Synthese in der Leber wird vorwiegend durch IL-6 induziert (KUSHNER *et al.*, 1995). Eine Blockade der IL-6 Produktion durch NSAID ist nicht bekannt, so dass nicht von einem direkten Einfluss nicht-steroidaler Antiphlogistika auf die CRP-Konzentration ausgegangen werden kann. Indirekte Wirkungen der verabreichten Medikamente auf die untersuchten Parameter können nicht ausgeschlossen werden. Sowohl steroidale als auch nicht-steroidale Therapeutika hemmen ablaufende Entzündungsprozesse und verlangsamen osteoarthritische Prozesse. Ein Fortschreiten der Erkrankung kann jedoch nicht verhindert werden (JOHNSTON, 1997).

Weitere Studien zu den Auswirkungen steroidaler oder nicht-steroidaler Entzündungshemmer auf die Konzentrationen der hier untersuchten Parameter in Synovia und Serum bei Hunden mit OA liegen nicht vor. Insgesamt gesehen kann angenommen werden, dass die geringen Schwankungen der Mediane zwischen den Gruppen auf die Inhomogenität der untersuchten Patientengruppen und die geringere Fallzahl vorbehandelter Tiere im Vergleich zu unbehandelten zurückzuführen sind. Eine starke Beeinflussung der Marker durch die medikamentelle Therapie liegt nicht vor. In zukünftigen Untersuchungen sollten jedoch die Auswirkungen der therapeutischen Intervention auf die Konzentrationen der Marker, insbesondere C2C und HA, genauer beleuchtet werden.

Sechszehn Hunde hatten außer OA noch mindestens eine weitere nicht-systemische Erkrankung. Eine Beeinflussung der untersuchten Parameter erscheint dadurch unwahrscheinlich. Entsprechend konnten keine Unterschiede der Parameter zwischen Patienten mit sekundären Erkrankungen und ohne nachgewiesen werden.

### **5.3 Orthopädische Untersuchung**

Je nach Alter, Rasse, Körpergewicht, Ernährung oder Belastung erkrankter Tiere ergeben sich Prädilektionen für präarthrotische Form- und Funktionsstörungen in verschiedenen Gelenken, die zur Entwicklung einer OA führen. In der vorliegenden Untersuchung waren mit 70,1% vor allem Kniegelenke betroffen. In geringeren Anteilen waren die Hunde an Ellenbogen- (22,7%) und Schultergelenken (7,2%) erkrankt. Von dieser Verteilung sollten keine Rückschlüsse auf das generelle Vorkommen von OA in den unterschiedlichen Gelenken gezogen werden. Zum einen handelt es sich hierbei um eine selektierte Population bei der einige häufig von OA betroffene Gelenke (Hüft-, Sprunggelenke) nicht berücksichtigt wurden. Zum anderen ist das Patientengut hinsichtlich Rasse und Alter sehr inhomogen, so

dass keine Aussage über die Häufigkeitsverteilung der OA in den verschiedenen Gelenken getroffen werden kann.

Im vorliegenden Patientengut machten Rupturen des Lcc mit 60,8% den Hauptanteil der primären Gelenkerkrankungen und damit auch den größten Anteil der Kniegelenkerkrankungen aus. Die Zahlen decken sich mit Angaben von VASSEUR (1984), BRUNNBERG (1990) und ALLGOEWER *et al.* (2000), sind jedoch höher als Daten anderer Autoren (BENNETT *et al.*, 1988; WHITEHAIR *et al.*, 1993; DUVAL *et al.*, 1999). Die Schwankungen lassen sich durch den hohen Anteil von Überweisungspatienten mit einer Ruptur des Lcc erklären. Im Vergleich zu anderen Untersuchungen (FRITZ, 1989; BOUND *et al.*, 2009) liegt eine geringe Fallzahl von Hunden mit Patellaluxation vor, da in dieser Studie Hunde mit einem Körpergewicht <10 kg ausgeschlossen wurden.

Übereinstimmend mit der Literatur (MONTGOMERY *et al.*, 1994; HORST, 2000) war die OCD des Schultergelenks (6,2%) häufiger als die OCD des Ellenbogengelenks (4,1%). Der FPC war häufigste primäre Erkrankung des Ellenbogengelenks (12,4%). Dies entspricht den Angaben von GRONDALEN (1979c), MASON *et al.* (1980), OLSSON (1983) und BOUDRIEAU *et al.* (1983). Unter ED wurden Gelenke zusammengefasst, bei denen mehrere Erkrankungsbilder wie FPC und OCD und/oder Gelenkinkongruenz gemeinsam vorlagen. Dies war mit 5,2% häufiger als eine einzelne OCD. Die Koinzidenz von FPC und OCD in einem Gelenk wurde mehrfach beschrieben (WOLFE, 1976; GRONDALEN, 1979c; BERZON und QUICK, 1980; MASON *et al.*, 1980; BENNETT *et al.*, 1981; BOUDRIEAU *et al.*, 1983; REMY *et al.*, 2004), die Zahlen zur Häufigkeit schwanken mit 4-42% jedoch stark.

Da Bizepstendinitis, IPA und Gonitis in die Untersuchung als Einzelfälle mit aufgenommen wurden, können sie im Kontext nicht näher diskutiert werden.

Zur Graduierung der orthopädischen Befunde in Hinblick auf Lahmheit, Schmerzhaftigkeit, Füllung und Krepitation des Gelenks wurden jeweils subjektive, kategorisierte numerische Beurteilungsskalen verwendet. Die Einteilung wurde in Anlehnung an bereits bestehende Skalen modifiziert (PETERSON und KEEFE, 2004; BAUER, 2006; HANSON *et al.*, 2006; HAZEWINKEL *et al.*, 2008). Um die Parameter genauer erfassen zu können, wäre ggf. geeigneter, eine visuelle Analogskala zu verwenden. In dieser Studie wurde darauf verzichtet, um eine weitere Verzerrung des ohnehin inhomogenen Patientenguts zu vermeiden.

Die Mehrheit der Patienten lahmt gering- bis deutlich geringgradig, bei gering- bis mittelgradiger Schmerzhaftigkeit und gering- bis mittelgradiger Gelenkfüllung. Eine Krepitation bestand nur bei wenigen Fällen. Patienten mit geringgradiger Lahmheit (Grad 1,

40,2%) waren überwiegend geringgradig schmerzhaft (61,5%) und wiesen eine gering- (43,6%) bis mittelgradige (30,8%) Gelenkfüllung auf. Auch Hunde mit deutlich geringgradiger Lahmheit (Grad 2, 35,1%) waren überwiegend geringgradig schmerzhaft (82,4%) und die Gelenke waren gering- (44,1%) bis mittelgradig (38,2%) gefüllt. Mittelgradig lahme Hunde (16,4%) waren meist mittelgradig schmerzhaft (56,3%) bei mittelgradiger Gelenkfüllung (62,5%). Eine hochgradige Lahmheit (6,2%) ging meist mit mittelgradiger Schmerzhaftigkeit (66,7%) und Gelenkfüllung (50%) einher. Tendenziell war eine höhergradige Lahmheit mit ebensolchen Schmerzhaftigkeit und Gelenkfüllung assoziiert.

Entzündliche Reaktionen verändern die Permeabilität synovialer Blutgefäße und erhöhen den osmotischen Druck der Synovia, so dass das Volumen der Gelenkflüssigkeit zunimmt (JOHNSTON, 1997; MACWILLIAMS und FRIEDRICH, 2003). Der erhöhte Druck in der Gelenkkapsel wird durch die Hypertrophie der Gelenkkapsel verstärkt. Es folgen eine Reduktion des Bewegungsradius mit verstärktem Schmerzreiz (JOHNSTON, 1997; MORGAN, 1997). Daneben trägt die Freisetzung von Schmerzmediatoren und vermehrte Stimulation der Nozizeptoren in Gelenkkapsel, Sehnen, Bändern und subchondralem Knochen wesentlich zu der Entstehung von Gelenkschmerzen bei (JOHNSTON, 1997). Der Abbau von HA bei Patienten mit OA (BALAZS *et al.*, 1967; DAHL *et al.*, 1985; SMITH *et al.*, 2001; VENABLE *et al.*, 2008) führt zu einer veränderten Wirkung auf intraartikuläre Schmerzrezeptoren und damit zu einer Abnahme der analgetischen Effekte (GOTOH *et al.*, 1993; POZO *et al.*, 1997; GOMIS *et al.*, 2007).

Lahmheit, Schmerz und Gelenkfüllung sind demnach synoptische Ergebnisse der orthopädischen Untersuchung von OA-Patienten. Dabei mögen rassebedingte und auch individuelle Besonderheiten der Nozizeption bedeutsam sein.

Bei den Kontrolluntersuchungen nach 8 Wochen hatten sich Lahmheit und Schmerzhaftigkeit signifikant gebessert und nach 16 Wochen war auch die Gelenkfüllung signifikant vermindert. Entsprechend führt wohl die chirurgische Intervention zur klinischen Verbesserung, weil vermutlich die inflammatorischen Prozesse reduziert werden und damit die Progression der OA verlangsamt wird. Dies deckt sich mit den Literaturangaben hinsichtlich der Resultate und Prognosen verschiedener primärer Gelenkerkrankungen der Schulter (MILTON, 1983; RUDD *et al.*, 1990; WHITEHAIR und RUDD, 1990; MARTINEZ, 1997; TACKE *et al.*, 1999), des Ellenbogens (GRONDALEN, 1979a; MASON *et al.*, 1980; BENNETT *et al.*, 1981; BOUDRIEAU *et al.*, 1983; FOX *et al.*, 1983; MILTON, 1983; MEYER-LINDENBERG *et al.*, 1991; MARTINEZ, 1997; MEYER-LINDENBERG *et al.*, 1999) und des Knies (ARBESSER, 1974; MILTON, 1983; ELKINS *et al.*, 1991; BRUNNBERG *et al.*, 1992; ROY *et al.*, 1992; VASSEUR und BERRY, 1992; CHAUVET *et al.*, 1996; MARTINEZ, 1997; INNES *et al.*, 2004) nach chirurgischer Therapie. Eine frühzeitige chirurgische Intervention lässt meist bessere Resultate erwarten. Die Prognose verschlechtert sich bei bereits bestehenden osteoarthritischen Veränderungen. Auch in

Abhängigkeit vom Therapieverfahren bestehen nach den Literaturangaben vorsichtige bis gute Prognosen. Allerdings ist eine Progression der OA nicht zu verhindern.

## 5.4 Röntgenologische Untersuchung

Die Mehrheit der Gelenke wies röntgenologisch gering- (46,6%) bis mittelgradige (28,8%) osteoarthritische Veränderungen auf. Nur wenige Gelenke waren hochgradig (6,2%) degenerativ verändert, während 18,6% der Gelenke röntgenologisch keine OA aufwiesen. Erkrankungen des Schultergelenks waren meist von mittelgradigen röntgenologischen Befunden begleitet (71,4%), wohingegen Ellenbogen- und Kniegelenke eher geringgradige Veränderungen (50% bzw. 48,6%) aufwiesen. Die Erkrankungsdauer bei den Patienten war nicht bekannt, so dass keine Korrelation zu röntgenologischen Befunden hergestellt werden konnte. Die Progression der degenerativen Veränderungen im Krankheitsverlauf, die dann auch röntgenologisch nachweisbar werden, ist allgemein bekannt (ARBESSER, 1974; DENNY und GIBBS, 1980; MILTON, 1983; GUTHRIE, 1989; BRUNNBERG *et al.*, 1992; ROY *et al.*, 1992; READ, 1993; WIDMER *et al.*, 1994; KRAMER *et al.*, 1997; BARDET, 1998; TROSTEL *et al.*, 2002; TORRINGTON, 2004; FEHR, 2007; HAZEWINKEL, 2008; WERNHAM *et al.*, 2008).

## 5.5 Hämatologische Untersuchung

Bei den Patienten der vorliegenden Studie waren klinisch-hämatologisch keine Hinweise auf systemische inflammatorische Erkrankungen festzustellen. Bei 19 Patienten wurden Leukozytenzahlen außerhalb des angegebenen Referenzbereichs (6-12 G/l) gemessen. Im Median ergaben sich geringgradige Abweichungen von den Referenzwerten bei Patienten mit Leukozytopenie (M 5,34) oder Leukozytose (M 13,75).

Eine Leukozytose kann durch Aufregung, Stress oder körperliche Belastung hervorgerufen werden, ohne dass dies auf eine Erkrankung hinweist. Es lassen sich dabei Gesamtleukozytenzahlen bis zu 15 G/l messen. Des Weiteren kann eine Leukozytose durch zahlreiche Erkrankungen wie Infektion, Intoxikation, ZNS-Erkrankung, endokrine Erkrankungen, sowie medikamentell durch Glukokortikoide verursacht werden (KRAFT *et al.*, 2005). Zudem ist zu beachten, dass der angegebene Referenzbereich der Gesamtleukozytenzahl dem 95%-Perzentil-Intervall einer als gesund angenommenen Population entspricht und individuelle Abweichungen möglich sind (KRAFT, 2005a).

Da bei den Patienten mit vom Referenzbereich abweichenden Leukozytenzahlen keine weiteren Hinweise auf eine der zuvor als ursächlich genannten Erkrankungen vorlagen, ist Stress als Hauptursache der milden Leukozytose anzusehen. Einem Hund mit der höchst

gemessenen Leukozytenzahl (18,69 G/l) waren zweimalig Glukokortikoide appliziert worden, was die Leukozytose bei diesem Patient erklären kann. Die geringgradigen Leukozytopenien wurden als individuelle Schwankungen vom Normbereich interpretiert.

## 5.6 Intraoperative Befunde

Bei der visuellen intraoperativen Befundung von Gelenkkapsel, Synovialmembran, Knorpel und Knochen konnten überwiegend keine bis geringgradige pathologische Veränderungen festgestellt werden. Zu beachten ist, dass im Vergleich zu den röntgenologischen Befunden mehr Patienten mittel- bis hochgradige Veränderungen aufwiesen. Nur 6,2% der Gelenke wiesen röntgenologisch hochgradige Läsionen auf, bei der intraoperativen Inspektion der knöchernen Strukturen waren es 14,1%. Dies steht im Einklang mit mehreren Studien, die eine Diskrepanz zwischen röntgenologischen und klinischen, intraoperativen oder histologischen Befunden beschreiben (GORDON *et al.*, 2003; KIJOWSKI *et al.*, 2006; AKERBLOM und SJÖSTRÖM, 2007; WONDRATSCHEK, 2008; GOLDHAMMER *et al.*, 2010). Die Veränderungen an Kapsel, Synovialmembran und Knorpel können durch eine röntgenologische Untersuchung nicht detektiert werden. Die Ergebnisse untermauern, dass Röntgenaufnahmen für die Früherkennung einer OA nicht ausreichend sensitiv sind und die Aktivität der Erkrankung so nicht zeitnah überwacht werden kann (SUGIYAMA *et al.*, 2003; BAUER *et al.*, 2006).

## 5.7 Synoviaanalytik

Synovia ist transparent und farblos bis hellgelb oder strohfarben (FERNANDES, 2008). Bei degenerativen Gelenkerkrankungen kann das Farbspektrum von farblos bis blutig variieren. Eine Trübung weist auf einen erhöhten Zellgehalt hin (MACWILLIAMS und FRIEDRICH, 2003; FERNANDES, 2008). Die Farbe lässt demnach nur selten Rückschlüsse auf pathologische intraartikuläre Prozesse zu.

Sowohl die Synovia der Kontrollgelenke als auch die der OA-Gelenke war durchsichtig bis hellgelb. Strohfarben war sie nur bei OA-Gelenken. In zwei Fällen (OA-Gelenke) war sie geringgradig getrübt. Die Ergebnisse decken sich nur bedingt mit den Angaben aus der Literatur, bei denen Gelenke mit OA überwiegend eine ausgeprägtere Verfärbung aufwiesen. Allein aufgrund der Farbe sollten keine Rückschlüsse auf degenerative Gelenkerkrankungen gezogen werden. Zusätzlich sollten diagnostisch Viskosität, Gesamtzellzahl und ggf. Differentialzellzahl sowie Protein bestimmt, und biochemische Marker genutzt werden.

Verglichen mit Kontrollgelenken wurde in OA-Gelenken ein signifikant größeres Volumen der Synovia festgestellt. In Übereinstimmung der Literatur variierte das aspirierte Volumen bei den Kontrollgelenken zwischen 0,2 und 1,0 ml (SAWYER, 1963; FERNANDEZ *et al.*, 1983). Durch eine erhöhte Permeabilität synovialer Blutgefäße bei entzündlichen Prozessen im Gelenk wird vermehrt Synovia produziert (MACWILLIAMS und FRIEDRICH, 2003). Die Änderung des osmotischen Drucks in der Gelenkflüssigkeit durch Übertritt höhermolekularer Stoffe aus dem Blut bedingt eine zusätzliche Volumenzunahme (JOHNSTON, 1997). Das aspirierte Synovialvolumen von 0,2-6,0 ml bei erkrankten Gelenken belegt dieses.

Unveränderte Synovia weist eine hohe Viskosität auf. Durch Depolymerisation der Hyaluron-Protein-Komplexe, Verdünnung bei erhöhtem Einstrom von Plasma und/oder eine verminderte Produktion von HA bei Schädigung der Synovialmembran nimmt die Viskosität der Synovia ab (MACWILLIAMS und FRIEDRICH, 2003). Bei degenerativen Gelenkerkrankungen kann eine geringgradige Abnahme der Viskosität vorliegen (PEDERSEN, 1978; FERNANDES, 2008). Dies steht bedingt im Einklang mit den eigenen Ergebnissen. In der Mehrheit der Fälle wurde zwar eine normale (50,5%) bis geringgradig verminderte (24,7%) Viskosität festgestellt, bei insgesamt 24 Gelenken aber auch eine mittel- (15,5%) bis hochgradig (9,3%) verminderte Viskosität. Verglichen mit Kontrollgelenken war die Viskosität der Synovia erkrankter Gelenke sowohl präoperativ als auch bei den Kontrolluntersuchungen signifikant vermindert. In vergleichbaren Arbeiten von LAMMER (2001) und SPELLMEYER (2003) war in noch höherer Fallzahl von Gelenken ein mittel- bis hochgradiger synovialer Viskositätsverlust feststellbar.

Die Ergebnisse lassen vermuten, dass bei einer höhergradigen OA mit einem stärkeren Viskositätsverlust zu rechnen ist. Patienten mit einer deutlichen Lahmheit, verstärkt schmerzhaftem und vermehrt gefülltem Gelenk wiesen einen signifikanten Viskositätsverlust der Synovia auf. In der Gesamtheit der Befunde wird deutlich, dass die synoviale Viskosität mit zunehmender Ausprägung der OA abnimmt.

Bei den Kontrolluntersuchungen 8 und 16 Wochen post operationem konnte tendenziell eine Viskositätszunahme beobachtet werden, ohne dass dies statistisch signifikant war. Als ursächlich hierfür werden eine Reduktion entzündlicher Prozesse und eine verbesserte Gelenkstabilität durch die therapeutischen Maßnahmen angenommen.

Bedingt durch intra- und interindividuelle Unterschiede variieren die Angaben zu Gesamtzellzahlen in der Synovia gesunder Gelenke in der Literatur stark. Es wurden 0-4400 Zellen/ $\mu$ l in verschiedenen Gelenken genannt (SAWYER, 1963; MCCARTY *et al.*, 1966; FERNANDEZ *et al.*, 1983; ATILOLA *et al.*, 1984; ATILOLA *et al.*, 1986). Meist weist die Synovia gesunder Gelenke eine Zellzahl von <3000 Zellen/ $\mu$ l auf. Bei OA sind normale bis erhöhte

Gesamtzellgehalte festzustellen, die meist <5000 Zellen/ $\mu$ l betragen (SAWYER, 1963; MACWILLIAMS und FRIEDRICH, 2003; FERNANDES, 2008).

Die eigenen Ergebnisse decken sich damit. Bei 92 (95%) OA-Gelenken wurden Zellzahlen <5000/ $\mu$ l ermittelt. Bei 85 dieser Gelenke unterschritten die Zellgehalte 3000/ $\mu$ l und nur 5 Gelenke wiesen >5000 Zellen/ $\mu$ l in der Synovia auf. Die Mehrheit der Patienten wies damit synoviale Gesamtzellgehalte auf, die nach Angaben der Literatur im Normbereich liegen. Allerdings konnten in der Synovia gesunder Kontrollgelenke signifikant niedrigere Zellgehalte festgestellt werden. Der Maximalwert betrug 1850 Zellen/ $\mu$ l, der Median lag bei 562,5/ $\mu$ l. Bei Patienten mit OA liegen demnach relativ erhöhte Gesamtzellzahlen vor. Diese Ergebnisse decken sich mit Angaben von LAMMER (2001). Er konnte ebenfalls höhere Zellzahlen bei Gelenken mit degenerativen Erkrankungen verglichen zu gesunden Gelenken messen, die meisten Gesamtzellgehalte betragen aber <3000/ $\mu$ l.

Statistisch war keine Änderung der Gesamtzellzahl im Verlauf von 16 Wochen post operationem aufzudecken. Tendenziell war eine geringe Zunahme der Zellgehalte nach 8 Wochen und eine Abnahme nach 16 Wochen zu bemerken. Insgesamt näherten sich die Gesamtzellzahlen nach 8 und 16 Wochen jedoch den Zellzahlen in Synovia von Kontrollgelenken an, so dass statistisch kein Unterschied bestand. Denkbar ist, dass die Operation nach der initialen Heilungsphase zu einer Reduktion der inflammatorischen Prozesse im Gelenk, und damit einer geringeren Gesamtzellzahl führt. Diese Erklärung wurde jedoch nicht histologisch gestützt.

Zwischen den verschiedenen Gelenken sowie den Graden der Befunde der orthopädischen, röntgenologischen und intraoperativen Untersuchungen ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede der Gesamtzellzahl. Auch konnte anhand der synovialen Zellgehalte nicht zwischen Gelenken ohne, mit gering- und mit hochgradiger OA unterschieden werden.

Obwohl die gesunden Gelenke geringere Zellzahlen als Gelenke mit OA aufwiesen, eignet sich die Gesamtzellzahl nicht, um zwischen verschieden ausgeprägter OA differenzieren zu können. Die Gesamtzellzahl kann zwar Hinweise auf degenerative Prozesse im Gelenk geben, hat aber eine nur geringe Bedeutung in der Diagnostik der OA und eignet sich nicht für eine frühzeitige Diagnosestellung.

## 5.8 Ausprägung der Osteoarthritis

Patienten mit verschiedenen primären Gelenkerkrankungen, die eine sekundäre OA zur Folge haben, wurden in die Studie aufgenommen. Dies bedeutet bei einer klinischen Studie, dass verschiedene Stadien der OA vorlagen und sich der Erkrankungsbeginn retrospektiv

nicht festlegen lässt. Da es sich bei der OA um eine progressive degenerative Erkrankung handelt, wurde angenommen, dass geringgradige osteoarthritische Veränderungen eher einem Frühstadium und hochgradige Veränderungen einem Spätstadium der OA entsprechen. Es sollte geprüft werden, ob anhand verschiedener Konzentrationen bzw. Aktivitäten der Biomarker zwischen gesunden Gelenken, und solchen mit geringgradigen/frühen oder hochgradigen/fortgeschrittenen osteoarthritischen Veränderungen unterschieden werden kann. Deswegen wurden die Gelenke auf Basis der orthopädischen, röntgenologischen und intraoperativen Befunde sowie der Viskosität der Synovia in 3 OA-Grade gruppiert.

Bisher vorliegende Studien zum Einsatz von MPO, CRP, HA und C2C als Biomarker der OA des Hundes unterscheiden anhand klinischer, röntgenologischer oder arthroskopischer Untersuchungen lediglich zwischen Präsenz und Absenz der Erkrankung (ARICAN *et al.*, 1994; HURTER *et al.*, 2005; FUJIKI *et al.*, 2007; VENABLE *et al.*, 2008). Die Untersuchung früher Erkrankungsstadien erfolgte nach experimentell induzierter OA im Tierversuch (CHU *et al.*, 2002; MATYAS *et al.*, 2004; BUDSBERG *et al.*, 2006; GORANOV, 2007; VENABLE *et al.*, 2008). In einigen Studien wurden die Markerkonzentrationen zur Ausprägung verschiedener klinischer, röntgenologischer oder intraoperativer Parameter der OA in Beziehung gesetzt (LAMMER, 2001; SPELLMEYER, 2003; HAYASHI *et al.*, 2009; PRINK *et al.*, 2010). Im Ergebnis konnten z.T. nur mäßige Zusammenhänge aufgedeckt werden, so dass die Marker keine guten Informationen lieferten und es demnach bei Betrachtung einzelner klinisch-orthopädischer Parameter zu Fehleinschätzungen der tatsächlich ablaufenden degenerativen Prozesse kommen kann (GORDON *et al.*, 2003; AKERBLUM und SJÖSTRÖM, 2007; GOLDHAMMER *et al.*, 2010). Zur bestmöglichen Reflexion der Gesamtheit der osteoarthritischen Veränderungen wurden in der eigenen Studie verschiedene Untersuchungsergebnisse kombiniert, um so zwischen gering- und hochgradiger OA differenzieren zu können.

Aber auch dieser erweiterte Blickwinkel auf die OA bleibt zumindest für die klinischen Parameter eher subjektiv. Histopathologische Untersuchungen der Gelenkstrukturen wurden nicht durchgeführt, da in Studien von WONDRAATSCHEK (2008) und GOLDHAMMER *et al.* (2010) die Diskrepanz zwischen histologischen, klinischen und röntgenologischen Befunden bereits belegt wurde.

## 5.9 Myeloperoxidase-Aktivität

Der o-Dianisidine Assay wurde bereits zur Aktivitätsbestimmung caniner und equiner MPO eingesetzt. Von LAMMER (2001) wurde ein unspezifischer Assay verwendet, der eine

Unterscheidung zwischen MPO und der Aktivität weiterer Peroxidasen nicht zulässt. SPELLMEYER (2003) nutzte den Hemmstoff Natriumazid. Hierdurch wurde zwar die MPO-Aktivität gehemmt, aber auch weitere Peroxidasen wie Katalasen wurden in ihrer katalytischen Aktivität beeinflusst. Analog zu den Angaben von BAUER (2006) und FIETZ *et al.* (2008) wurde daher in dieser Untersuchung ein spezifischer MPO-Inhibitor (ABAH) verwendet. Somit kann die Restperoxidase-Aktivität gemessen und von der Gesamtaktivität subtrahiert werden, um die reine MPO-Aktivität zu bestimmen.

Die photometrische Aktivitätsbestimmung der MPO setzt einen linearen Verlauf der Absorption voraus. Dies wurde anhand kontinuierlicher photometrischer Messungen im 5 Minutenabstand bis zum Endpunkt bei 25 Minuten überprüft. Weiterhin wurde zu Beginn jeder Messreihe eine Doppelmessung mit reiner MPO als Standard vorgenommen.

Hämolytische oder mit Blut kontaminierte Proben wurden von der Untersuchung ausgeschlossen, um die Messung falsch-hoher Aktivitäten durch Freisetzung von MPO aus Blutzellen wie neutrophilen Granulozyten oder Monozyten zu verhindern.

Bei bisherigen Untersuchungen war die MPO-Aktivität bei Hunden mit OA in Synovia signifikant höher als in Synovia von Kontrolltieren (LAMMER, 2001; SPELLMEYER, 2003; BAUER, 2006). SPELLMEYER (2003) bestimmte auch die Aktivität in Serum, konnte aber keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen aufdecken. Übereinstimmend mit diesen Ergebnissen war auch bei den eigenen Untersuchungen ein signifikanter Unterschied der MPO-Aktivität in Synovia zwischen OA-erkrankten und OA-freien Tieren festzustellen. Keinen Unterschied ergaben die Aktivitäten in den Seren beider Gruppen.

Anders als bei den Untersuchungen von LAMMER (2001) und SPELLMEYER (2003) konnte mit der MPO-Aktivität in Synovia nicht eindeutig zwischen osteoarthritischen und gesunden Gelenken unterschieden werden. In einer Vielzahl von Fällen (49,5%) lagen Überschneidungen zwischen den MPO-Aktivitäten beider Gruppen vor. Analog zu den Angaben von BAUER (2006) kann anhand niedriger MPO-Aktivitäten eine OA nicht ausgeschlossen werden. Die Unterschiede zwischen den Untersuchungen lassen sich wohl dadurch erklären, dass bei LAMMER (2001) und SPELLMEYER (2003) die Aktivität weiterer Peroxidasen mitbestimmt wurde und dadurch größere Differenzen zwischen den Gruppen vorlagen.

Es konnten über einen längeren Zeitraum (16 Wochen) erhöhte MPO-Aktivitäten in der Synovia osteoarthritischer Gelenke nachgewiesen werden, die sich statistisch von den Werten der Kontrollen unterschieden. Im Median wurden Maximalwerte nach 8 Wochen erreicht. Auch im Serum wurden nach 8 Wochen im Median die höchsten Werte gemessen. Für diesen Zeitpunkt ergab sich daraus ein signifikanter Unterschied zu den gesunden

Kontrollen. In der Synovia sanken die Aktivitäten nach 16 Wochen deutlich, im Serum nur mäßig.

Der Anstieg der MPO-Aktivitäten in Synovia und Serum bis 8 Wochen post operationem lässt sich durch die Heilungsphase erklären. Dabei emigrieren vermehrt Leukozyten, Makrophagen und Lymphozyten in das Wundgebiet, so dass die MPO-Aktivität erhöht sein kann. Nach bis zu 8 Wochen post operationem konnte zudem ein Anstieg der Gesamtzellzahl in der Synovia gezeigt werden. Die Abnahme der MPO-Aktivität nach 16 Wochen kann durch den abgeschlossenen Wundheilungsprozess und die Reduktion entzündlicher osteoarthritischer Prozesse durch eine verbesserte Gelenkstabilität und Funktionalität erklärt werden. Analog nahm nach 16 Wochen die Gesamtzellzahl in der Synovia ab, und die klinisch-orthopädischen Befunde besserten sich. Verlaufsuntersuchungen unter Einbeziehung histologischer Untersuchungen könnten diese Beobachtungen in Zukunft absichern. Zu jedem Zeitpunkt wurden signifikant höhere MPO-Aktivitäten in der Synovia erkrankter Gelenke gegenüber den Kontrollgelenken gemessen. Da jedoch die Kontrollgelenke nur einmal punktiert wurden, kann ein Einfluss auf die MPO-Aktivität durch wiederholte Punktionen der erkrankten Gelenke nicht genauer abgegrenzt werden. Bei weiteren Untersuchungen zum Verlauf der MPO-Aktivitäten ist daher ein Plazebo-kontrolliertes Studiendesign mit gleicher Anzahl und gleichem Zeitpunkt der Gelenkpunktionen von Patienten- und Kontrollgruppe empfehlenswert.

Zwischen den MPO-Aktivitäten in Synovia und Serum wurde in den eigenen Untersuchungen eine signifikant positive Korrelation festgestellt, die allerdings schwach ausgeprägt war. BAUER (2006) und SPELLMEYER (2003) konnten dagegen keinen Zusammenhang zwischen den MPO-Aktivitäten in Synovia und Serum zeigen. Sie begründeten dies mit dem Unvermögen von MPO als Molekül mit einer Größe von 150 kDa, die synoviale Membran zu passagieren. DEBERG *et al.* (2008) wiesen jedoch eine Reduktion der MPO-Aktivität in Serum nach künstlichem Gelenkersatz beim Menschen nach. Es kann vermutet werden, dass inflammatorische Stimuli wie Chemokine oder Zytokine, die bei OA in die systemische Zirkulation gelangen (BOS *et al.*, 2009), neutrophile Granulozyten in der Peripherie beeinflussen, und damit erhöhte Konzentrationen und Aktivitäten von MPO verursachen. Die genaueren Mechanismen sind noch nicht geklärt. Es konnte kein Zusammenhang zwischen Leukozytenzahlen und MPO-Aktivität im Serum nachgewiesen werden, so dass die gemessene MPO-Aktivität unabhängig von der Anzahl der Leukozyten im Blut vorlag.

Zwischen verschiedenen Gelenken wurden keine Unterschiede der MPO-Aktivitäten festgestellt, so dass die MPO als gelenksunabhängiger Parameter zur Untersuchung osteoarthritischer Prozesse gelten kann.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von SPELLMEYER (2003) wurde bei den klinischen Parametern Lahmheit und Schmerzhaftigkeit ein Zusammenhang mit den synovialen MPO-Aktivitäten ermittelt. Patienten mit mittel- oder hochgradiger Lahmheit und Schmerzhaftigkeit wiesen im Median höhere MPO-Aktivitäten als Patienten ohne oder mit geringgradigen Befunden auf, auch wenn diese Unterschiede statistisch nicht gesichert werden konnten. Ein signifikanter Unterschied lag zwischen Tieren ohne klinischen Befund und Tieren mit gering- bis hochgradiger Lahmheit bzw. Schmerzhaftigkeit vor.

Eine erhöhte Aktivität von MPO führt zur Zerstörung von Knorpelstrukturen und dem Abbau von HA (KOWANKO *et al.*, 1989; GREEN *et al.*, 1990; DAVIES *et al.*, 1993; HAWKINS und DAVIES, 1998; DAUMER *et al.*, 2000; REES *et al.*, 2003; REES *et al.*, 2005). Dadurch werden die Migration von Entzündungszellen (FORRESTER und WILKINSON, 1981; PARTSCH *et al.*, 1989) und die Produktion von MMP gefördert (LARSEN *et al.*, 1992; WANG *et al.*, 2006; WADDELL *et al.*, 2007), wodurch die degenerativen Prozesse im Gelenk weiter fortschreiten. Verminderte HA Konzentrationen führen zu einer Abnahme der analgetischen Effekte (GOTOH *et al.*, 1993; POZO *et al.*, 1997; GOMIS *et al.*, 2007) und einer Überbelastung des Gelenks durch eine verminderte Absorption und Umverteilung einwirkender Kräfte (KUROKI *et al.*, 2002). Eine erhöhte Schmerzhaftigkeit und Lahmheit ist die Folge.

Durch die Wirkung von MPO auf HA ist eine vermehrte Gelenkfüllung mit steigender MPO-Aktivität zu erwarten. Statistisch war dies jedoch nicht zu sichern. Die MPO-Aktivität war bei Gelenken ohne vermehrte Füllung im Median am niedrigsten, so dass zumindest ein Trend in die erwartete Richtung beobachtet werden konnte. Auch BAUER (2006) konnte keine eindeutigen Differenzen der MPO-Aktivität bei unterschiedlicher Gelenkfüllung feststellen.

Die eigenen Untersuchungen bestätigen die Ergebnisse von LAMMER (2001), SPELLMEYER (2003) und BAUER (2006) bei denen keine Zusammenhänge der MPO-Aktivitäten in Synovia oder Serum bei unterschiedlichen röntgenologischen oder intraoperativen Befunden ermittelt werden konnten.

Zwischen Gelenken ohne OA und Gelenken mit geringgradiger/früher bzw. hochgradiger/fortgeschrittener OA zeigten sich signifikant verschiedene MPO-Aktivitäten in Synovia. Eine Unterscheidung zwischen geringgradiger und hochgradiger OA war jedoch nicht möglich. Allerdings war die MPO-Aktivität im Median bei Gelenken mit hochgradiger OA niedriger als bei solchen mit geringgradiger OA. Dies deckt sich mit Beobachtungen von WONDRATSCHEK *et al.* (2009) bei denen histologisch ausgeprägte Veränderungen mit niedrigeren MPO-Aktivitäten einhergingen als histologisch weniger stark veränderte Gelenkproben. Die MPO-Aktivität im Serum konnte zu keiner Unterscheidung OA-freier, gering- oder hochgradig betroffener Gelenke beitragen.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass mit dem o-Dianisidine Assay verlässliche Aussagen über die MPO-Aktivitäten in Synovia und Serum osteoarthritischer Gelenke getroffen werden konnten. Trotz einer geringen positiven Korrelation der Aktivität in Synovia und Serum erscheint lediglich die Aktivitätsmessung in Synovia als geeignet, um zwischen osteoarthritischen und nicht-osteoarthritischen Gelenken unterscheiden zu können. Auch geringgradig oder frühzeitig betroffene Gelenke können von gesunden Gelenken differenziert werden. Eine niedrige MPO-Aktivität schließt jedoch die Abwesenheit von OA nicht aus, so dass die MPO-Aktivität als Indikator einer OA dienen kann, aber keinesfalls isoliert von weiteren klinischen Befunden zur Diagnosestellung genutzt werden sollte.

## 5.10 CRP-Konzentration

Die CRP-Konzentrationen wurden mit einem kommerziellen ELISA-Testkit bestimmt. Es muss jedoch betont werden, dass es sich bei den Untersuchungen um Vorversuche handelt, die aufgrund des geringen verbleibenden Probenvolumens nicht weiter verfolgt werden konnten. Die Rückschlüsse auf Basis der CRP-Konzentrationen sind daher unter Vorbehalt zu betrachten, können aber als Ausgangspunkte für erforderliche weitere Forschungsarbeiten dienen.

Der verwendete ELISA wurde von KJELGAARD-HANSEN *et al.* (2003b) für canines Serum validiert. Trotz hoher inter-assay Variationen konnte zwischen gesunden Hunden, Hunden mit infektiösen Krankheiten und solchen mit verschiedenen anderen Krankheiten (Neoplasien, endokrine oder metabolische Erkrankungen) unterschieden werden. In den eigenen Untersuchungen konnte keine Validierung für Serum oder Synovia vorgenommen werden. Die Mehrheit der Synoviaprobe (79,4%) und ein Großteil der Serumproben (43,3%) von OA-Patienten wiesen CRP-Konzentrationen  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$  auf. Die OD von 93% der Synoviaprobe und 75,7% der Serumproben lag auf der Standardkurve in einem Bereich zwischen dem Nullwert und dem ersten Standard. In diesem Bereich der Standardkurve ist jedoch mit Ungenauigkeiten zu rechnen, da die Kurve zwischen einem Fixpunkt (Nullwert) und nur einem Standard berechnet wird. Das Optimum liegt im mittleren Bereich der Kurve zwischen mehreren vorgegebenen Standards. Um dies zu erreichen, sollten zukünftig in Verdünnungsreihen die optimale Verdünnung ermittelt werden. Aufgrund der sehr niedrigen Konzentrationen sollte ggf. eine geringere Verdünnung als vom Hersteller empfohlen angewendet werden.

Bei Verwendung des gleichen ELISA-Kits werden von verschiedenen Autoren folgende CRP-Konzentrationen im Serum gesunder Hunde angegeben: 1,1-6,3  $\mu\text{g/ml}$  (n=8,  $x_{0,5}$  2,0)

(KJELGAARD-HANSEN *et al.*, 2003b), 0,84-4,99 µg/ml (n=20,  $x_{0,5}$  1,43) (RUSH *et al.*, 2006), 1,9-4,3 µg/ml (n=15,  $x_{0,5}$  2,4) (GEBHARDT *et al.*, 2009), und 0-8,9 µg/ml (n=25,  $x_{0,5}$  2,2) (GRIEBSCH *et al.*, 2009). Für Hunde mit OA ermittelten HURTER *et al.* (2005) im Serum Konzentrationen von 6,4-16,1 µg/ml ( $x_{0,5} \pm SD$  9,3  $\pm$  1,2) und BAUER (2006) 0,0-150,7 µg/ml ( $x_{0,5}$  11,25). HURTER *et al.* (2005) konnten zwar zwischen Kontrollen und OA-Patienten unterscheiden, empfahlen CRP aber nicht als geeigneten Marker zur Diagnose von OA. FUJIKI *et al.* (2007) fanden keine statistischen Unterschiede zwischen den Serumkonzentrationen beider Gruppen. In den eigenen Untersuchungen wurden im Serum Konzentrationen von 0,0-75,0 µg/ml ( $x_{0,5}$  1,4) gemessen. Der Median liegt damit deutlich unterhalb früherer Angaben für Hunde mit OA und z.T. sogar unterhalb der Angaben für gesunde Hunde. Die CRP-Konzentrationen der Kontrollseren (0,5-5,8 µg/ml;  $x_{0,5}$  1,6) decken sich dagegen mit den aus der Literatur bekannten Angaben für gesunde Hunde. Als Kontrollen wurden Hunde ohne Hinweis auf eine systemische Erkrankung verwendet. Bei diesen Tieren hatte der Verdacht auf eine Gelenkpathologie bestanden, der anhand gründlicher Untersuchungen aber ausgeschlossen werden konnte.

Eine Differenzierung zwischen gesunden und OA-erkrankten Tieren anhand der CRP-Konzentrationen im Serum war nicht möglich. Dies kann den insgesamt sehr niedrigen Konzentrationen geschuldet sein, die eine Differenzierung der Werte erschweren. Mit Hilfe der in der Humanmedizin gebräuchlichen hsCRP-Assays erscheint eine Unterscheidung niedriger Konzentrationen besser durchführbar. So konnte in verschiedenen Studien gezeigt werden, dass bei Patienten mit OA zwar insgesamt geringe, aber dennoch höhere CRP-Konzentrationen vorlagen als bei gesunden Menschen (SPECTOR *et al.*, 1997; CONROZIER *et al.*, 2000; STÜRMER *et al.*, 2004) und die Konzentrationen mit histologischen Untersuchungsergebnissen korrelierten (PEARLE *et al.*, 2007). Für künftige Messungen von CRP bei Hunden mit OA wird daher die Verwendung eines hsCRP-Assay empfohlen.

In dieser Untersuchung wurde erstmals die CRP-Konzentration in Synovia von Hunden bestimmt. In Synovia von OA-Gelenken wurden signifikant höhere CRP-Konzentrationen als in der Synovia der Kontrollgelenke ermittelt. Die Überschneidungen der Werte zwischen den Gruppen führen allerdings zu einer Einschränkung der Richtigkeit des Markers und damit der diagnostischen Aussagekraft. Bei den Kontrolluntersuchungen nach 8 und 16 Wochen waren keine Unterschiede zu den Kontrollen mehr zu ermitteln. Aufgrund der Befunde der klinisch-orthopädischen Kontrolluntersuchungen 8 und 16 Wochen post operationem kann von einer verbesserten Funktionalität und Stabilität des Gelenks ausgegangen werden. Es folgt die Reduktion der Entzündungsprozesse im Gelenk, so dass auch die synoviale CRP-Konzentration reduziert wird. Auch dies sollte in künftigen Verlaufsuntersuchungen unter Einbeziehung histologischer Untersuchungen gesichert werden.

Analog zu Studien aus der Humanmedizin (ROWE *et al.*, 1987; DELPUECH *et al.*, 1989; WALTERS *et al.*, 1989; KUMON *et al.*, 1999) wurde eine positive Korrelation zwischen Serum und Synovia festgestellt, wobei die Serumkonzentrationen von CRP höher sind als die Synovialkonzentrationen. Durch Freisetzung von Entzündungsmediatoren bei OA erhöht sich die Permeabilität der Synovialmembran. Höhermolekulare Stoffe, wie auch CRP, treten dadurch vermehrt aus Blut in Synovia über (MACWILLIAMS und FRIEDRICH, 2003). CRP in Gelenkflüssigkeit ist damit ein Indikator der Schädigung der Synovialmembran. Trotz der positiven Korrelation der CRP-Werte zwischen Synovia und Serum konnte für Serum kein Unterschied zwischen Kontrolltieren und an OA erkrankten Tieren ausgemacht werden. Womöglich ist dies der geringen Gruppengröße der Kontrollseren in Verbindung mit genannten Messungenauigkeiten geschuldet. Da in den eigenen Untersuchungen jeweils Synovia- und Serumpaare betrachtet wurden und die Kontrolltiere keine systemisch entzündlichen Erkrankungen aufweisen durften, war eine höhere Anzahl an Kontrollen im Untersuchungszeitraum nicht zu erlangen. Künftig sollte in Untersuchungen zu CRP im Synovia und Serum osteoarthritischer Patienten das Verhältnis von Patienten zu Negativkontrollen ausgewogen sein.

Zwischen verschiedenen Gelenken ließen sich in den jeweiligen Synovia- und Serumpaaren keine signifikanten Unterschiede der CRP-Konzentrationen ermitteln, so dass auch CRP als gelenksunabhängig angesehen werden kann. Mit steigendem Lahmheitsgrad stieg die CRP-Konzentration in der Synovia signifikant an. Tendenziell nahmen die CRP-Konzentrationen im Median mit zunehmender Schädigung von Gelenkkapsel und Synovialmembran zu, ohne dass dies statistisch gesichert werden konnte. Diese Ergebnisse decken sich jedoch mit der Annahme, dass eine stärkere Schädigung der Synovialmembran vermehrt CRP in die Synovia übertreten lässt. Die reaktive Hypertrophie der Synovialmembran und die Kapselfibrose schränken die Beweglichkeit des Gelenks ein und erhöhen den Lahmheitsgrad.

Zwischen den weiteren Ausprägungsgraden der klinischen, röntgenologischen und intraoperativen Befunde konnten in Synovia und Serum keine unterschiedlichen CRP-Konzentrationen ermittelt werden. Bei Gruppierung der Befunde in OA-Grade wurde dagegen ein signifikanter Unterschied der CRP-Konzentration in Synovia zwischen Gelenken ohne und mit hochgradiger OA beobachtet. Analog zu einer humanmedizinischen Studie von PEARLE *et al.* (2007) könnten auf Basis dieser Ergebnisse histopathologische Untersuchungen von Gelenkkapsel und Synovialmembran auf inflammatorische Infiltrate in Verbindung mit der Messung von CRP in Serum und Synovia weiteren Aufschluss über Änderungen der CRP-Konzentrationen bei entzündlichen Prozessen der OA geben.

Insgesamt kann festgehalten werden, dass sich die CRP-Konzentrationen in Synovia OA-freier und OA-erkrankter Gelenke unterscheiden, wobei insbesondere eine Abgrenzung hochgradig veränderter Gelenke mit fortgeschrittener OA möglich ist. Als Marker einer frühen OA erscheint CRP ungeeignet. Die bereits genannten Limitationen sind bei diesen Aussagen jedoch zu beachten. Weitere Untersuchungen mit sensitiveren Nachweismethoden bzw. der Validierung des Assay für canine Synovia und histopathologischer Untersuchung von Gelenkkapsel und Synovialmembran könnten diese Beobachtungen und den Nutzen von CRP in Diagnostik und Monitoring von OA beim Hund weiter beleuchten.

### **5.11 Hyaluronsäure-Konzentration**

Um die HA-Konzentrationen in Synovia und Serum zu bestimmen wurde ein kommerzieller ELISA verwendet. Der Assay wurde für Serum entwickelt, es können aber laut Herstellerangaben auch andere biologischen Flüssigkeiten wie Urin oder Synovia eingesetzt werden. Zudem besteht eine speziesübergreifende Kreuzreaktivität des Antikörpers, so dass auch HA-Konzentrationen caniner Proben gemessen werden können. Die Serumproben wurden unverdünnt eingesetzt und im Doppelansatz gemessen. Für die eigenen Synoviaprobe wurde der Assay zunächst validiert.

Die Fehleranfälligkeit, die sich aus der hohen Verdünnung der Proben ergeben kann, lag mit einem CV von 0,54 bis 4,1% in einem akzeptablen Bereich. Zufriedenstellend waren auch die Intra- (2,5%) und Inter-Assay (12,3 und 12,1%) Variationskoeffizienten. Beim Vergleich der externen Kontrollmessungen mit den eigenen Messungen ergaben sich meist nur geringgradige Abweichungen, so dass der Assay valide Aussagen über HA-Konzentrationen in den eigenen Synoviaprobe liefern konnte.

In bisherigen Untersuchungen konnten bei Hunden mit spontaner OA (ARICAN *et al.*, 1994; VENABLE *et al.*, 2008) und experimentell durch Transektion des Lcc induzierter OA (BUDSBERG *et al.*, 2006) im Vergleich zu Kontrollen signifikant niedrigere HA-Konzentrationen in Synovia gemessen werden. VENABLE *et al.* (2008) fanden jedoch in den Untersuchungsgruppen mit experimentell induzierter OA keine Unterschiede im Vergleich zu präoperativen HA-Konzentrationen. Die eigenen Ergebnisse entsprechen den Angaben der Literatur zu Hunden mit spontaner OA. In Synovia osteoarthritisch veränderter Gelenke konnten signifikant niedrigere HA-Konzentrationen als in Kontrollsynovia nachgewiesen werden. Für die HA-Konzentrationen in Serum von Hunden mit OA liegen in der Literatur widersprüchliche Ergebnisse vor. So wurden von ARICAN *et al.* (1994) höhere, von NGANVONGPANIT *et al.* (2008) niedrigere und von BUDSBERG *et al.* (2006) unveränderte

Konzentrationen festgestellt. Generell waren in Serum deutlich geringere Konzentrationen als in Synovia zu messen. Die eigenen Konzentrationsmessungen in Serum ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen, tendenziell zeichneten sich im Serum OA-erkrankter Hunde niedrigere HA-Konzentrationen ab. Die Konzentrationen im Serum waren insgesamt deutlich niedriger als die in Synovia.

Für die verminderte HA-Konzentration in Synovia osteoarthritischer Gelenke wurden zuvor bereits ein Verdünnungseffekt durch den Gelenkerguss, die erhöhte Fragmentierung von HA und eine veränderte Synthese genannt (PREHM, 1990; HENDERSON *et al.*, 1991; KUROKI *et al.*, 2002). BUDSBERG *et al.* (2006) berechneten auf Basis der synovialen Harnstoffkonzentrationen korrigierte HA-Konzentrationen in Synovia und verglichen diese mit synovialen HA-Konzentrationen ohne Korrektur. Es konnten keine wesentlichen Änderungen der Konzentration festgestellt werden, so dass Verdünnungseffekte die Konzentrationsabnahme von HA in Synovia osteoarthritischer Gelenke nicht erklären können. Dagegen erscheint erwiesen, dass bei OA vermehrt ROS freigesetzt werden, die wesentlich an der Zerstörung von HA beteiligt sind (MCNEIL *et al.*, 1985; SAARI *et al.*, 1990; MOSELEY *et al.*, 1997). Auch veränderte Syntheseleistungen der Chondrozyten und eine modifizierte Freisetzung von HA können zu Änderungen der Konzentration und des Molekulargewichts von HA beitragen (PREHM, 1990). Bei OA erfolgt eine Überexpression des MPO-Gens in Chondrozyten (ATTUR *et al.*, 2002). Dadurch kann angenommen werden, dass vermehrt HOCl produziert wird, die ihrerseits ebenfalls zu der Zerstörung von HA führt (BAKER *et al.*, 1989; GREEN *et al.*, 1990; HAWKINS und DAVIES, 1998).

Auch wenn aufgrund des Metabolismus von HA auch im Serum niedrigere HA-Konzentrationen bei Hunden mit OA zu erwarten wären, konnte mit den eigenen Untersuchungen kein statistisch signifikanter Unterschied zu den Kontrolltieren nachgewiesen werden. Die Ergebnisse zeigten jedoch eine Tendenz zu niedrigeren Konzentrationen bei OA-Patienten. Womöglich hatte der Metabolismus von HA aus den EZM verschiedener anderer Gewebe einen ausgleichenden Effekt auf die Konzentrationen im Serum. Somit ist es möglich, dass in den ohnehin sehr niedrigen Serumkonzentrationen die Schwankungen durch verminderte Werte in der Synovia eines Gelenks keine wesentlichen Änderungen hervorrufen.

Etwaige Leber- oder Nierenerkrankungen, die die HA-Konzentrationen im Serum beeinflussen können, wurden bei den Probanden ausgeschlossen.

Über einen Zeitraum von 16 Wochen waren die HA-Konzentrationen in Synovia der OA-Patienten signifikant niedriger als bei den Kontrollproben. Nach 16 Wochen post operationem konnte jedoch ein signifikanter Anstieg der Konzentration gegenüber Punktion I und Punktion II gezeigt werden. Auch im Serum war nach 16 Wochen tendenziell ein Anstieg

festzustellen. Dies deutet darauf hin, dass in osteoarthritisch veränderten Gelenken längerfristig erniedrigte HA-Werte zu messen sind. Wie aus den klinisch-orthopädischen Kontrolluntersuchungen 8 und 16 Wochen post operationem ersichtlich, kann der operative Eingriff aber zu einer gewissen Stabilisierung der degenerativen Prozesse im Gelenk beigetragen haben, der den relativen Anstieg der HA-Konzentrationen erklärt.

Auch BUDSBERG *et al.* (2006) beobachteten einen Anstieg der synovialen HA-Konzentrationen über 3 Monate nach experimenteller Transektion des Lcc. Nach 12 Monaten waren keine Unterschiede zu den Kontrollen mehr festzustellen. Ob bei Hunden mit spontaner sekundärer OA eine ähnliche Entwicklung festzustellen ist, oder ob langfristig veränderte HA-Konzentrationen in Synovia zu messen sind, könnte durch eine Langzeitstudie gezeigt werden. Mit der Studie könnte zudem geprüft werden, ob der HA-Wert eine prognostische Aussage über die Progression der Erkrankung zulässt. Aus Untersuchungen in der Humanmedizin ist bekannt, dass HA-Konzentrationen im Serum prognostisch für die weitere Entwicklung der Erkrankung waren (SHARIF *et al.*, 1995; PAVELKA *et al.*, 2004; BRUYERE *et al.*, 2006; MAZIERES *et al.*, 2006; CIBERE *et al.*, 2009).

Auch wenn der Stoffwechselweg von HA hinreichend bekannt ist (FRASER *et al.*, 1997) und daher ein Zusammenhang zwischen HA-Konzentrationen in Synovia und Serum vermutet werden kann, wurde keine Korrelation zwischen den Werten in Synovia und Serum festgestellt. Auch ARICAN *et al.* (1994) konnte keine Korrelation nachweisen. Zudem bieten widersprüchliche Aussagen zu Serumkonzentrationen von HA aus verschiedenen human- und veterinärmedizinischen Untersuchungen bei Patienten mit OA (GOLDBERG *et al.*, 1991; HEDIN *et al.*, 1991; ARICAN *et al.*, 1994; GARNERO *et al.*, 2001; BUDSBERG *et al.*, 2006; TURAN *et al.*, 2007; NGANVONGPANIT *et al.*, 2008) Grund, die Nützlichkeit von Serumuntersuchungen anzuzweifeln. Wie auch bei den anderen Markern der eigenen Studie ersichtlich, unterstreichen die bisherigen Ergebnisse die mangelnde Sensitivität von Biomarkern im Serum bei Hunden mit Gelenkerkrankungen. Insbesondere die HA als Bestandteil der EZM in vielen verschiedenen Geweben des Körpers kann dabei zu irreführenden Schlüssen führen. Zur Evaluierung der OA beim Hund wird deswegen zukünftig die Bestimmung von HA in Synovia empfohlen.

In Synovia von Ellenbogen- und Schultergelenken lagen, wenn auch statistisch nicht signifikant, tendenziell höhere HA-Konzentrationen als in Kniegelenken vor. Dies kann jedoch durch die relativ geringen Fallzahlen von Ellenbogen- und Schultergelenken bedingt sein. Ziel dieser Studie war die Untersuchung von verschiedenen Markern bei Hunden mit OA – unabhängig von der primären Gelenkerkrankung. Ausgehend von den Ergebnissen

sollte aber zukünftig geklärt werden, ob verschiedene Erkrankungsbilder zu unterschiedlichen HA-Konzentrationen in Synovia führen.

Bisher wurden HA-Konzentrationen in Serum oder Synovia von Hunden nicht bei verschiedenen Ausprägungsgraden klinischer Befunde untersucht. Daher liegen aus der Literatur keine Angaben vor. In den eigenen Untersuchungen wurde mit steigendem Lahmheitsgrad, erhöhter Gelenkfüllung und Schmerzhaftigkeit eine signifikante Abnahme der HA-Konzentration in Synovia festgestellt.

Eine Reduktion der artikulären HA kann zu der vermehrten Migration von Entzündungszellen und Synthese von MMP führen, was die degenerativen Prozesse weiter fördert (FORRESTER und WILKINSON, 1981; PARTSCH *et al.*, 1989; LARSEN *et al.*, 1992; WANG *et al.*, 2006; WADDELL *et al.*, 2007). Zugleich ist die analgetische Wirkung auf intraartikuläre Schmerzrezeptoren vermindert (GOTOH *et al.*, 1993; POZO *et al.*, 1997; GOMIS *et al.*, 2007). Die verstärkte Migration von Entzündungszellen in den Synovialapparat verstärkt die Synovialitis. Die Synovialmembran wird dadurch eine permeabler, so dass ein Gelenkhydrops resultiert. Deswegen wurde HA bereits als Marker von Synovialitis bezeichnet (ETTRICH *et al.*, 1998; GARNERO *et al.*, 2000). Die eigenen Untersuchungen bestätigen dies, da eine zunehmende Schädigung von Gelenkkapsel und Synovialmembran mit signifikant abnehmenden HA-Konzentrationen in Synovia einherging. Die Befunde am Gelenkknorpel oder den knöchernen Strukturen waren dagegen nicht mit der HA-Konzentration assoziiert. Auch zwischen den Ausmaßen der Röntgenbefunde ließen sich keine unterschiedlichen HA-Konzentrationen aufdecken. Auch damit ist die mangelnde Sensitivität von Röntgenuntersuchungen zu inflammatorischen osteoarthritischen Prozessen zu belegen (AKERBLOM und SJÖSTRÖM, 2007; GOLDHAMMER *et al.*, 2010).

Auch wenn die Ausprägung einzelner klinischer Befunde mit verschiedenen HA-Konzentrationen assoziiert war, konnte dies in der Synopse aller Befunde zu den Ausprägungsgraden der OA noch verdeutlicht werden. Zwischen den Ausprägungsgraden bestanden signifikante Unterschiede der HA-Konzentrationen in Synovia. HA war damit der einzige Marker, mit dem über synoviale Konzentrationen zwischen gering- und hochgradiger bzw. früher und fortgeschrittener OA differenziert werden konnte. Die Bestimmung der HA-Konzentration in Synovia erweist sich als vielversprechend, um die Progression der Erkrankung zu überwachen und ggf. auch Therapiekontrollen vornehmen zu können. Da jedoch Überschneidungen der HA-Werte zwischen den einzelnen Gruppen vorliegen, ist die diagnostische Aussagekraft noch einzuschränken. Sehr hohe synoviale Konzentrationen weisen auf ein gesundes Gelenk, sehr niedrige auf eine OA hin.

In der Diagnostik könnte die Bestimmung der synovialen HA eingesetzt werden, um die weitere Therapie zu planen. Langzeitstudien könnten zeigen, ob HA auch als prognostischer Marker nutzbar ist. Zudem sollte geprüft werden, ob sich primäre Gelenkerkrankungen anhand der HA-Konzentration differenzieren lassen.

## 5.12 C2C-Konzentration

Die C2C-Konzentrationen in Synovia und Serum wurden mit einem kommerziellen ELISA bestimmt. Der Hersteller gibt eine breite Kreuzreaktivität für den Antikörper an, so dass er auch canines C2C erkennt. Beim Hund wurde der gleiche Assay bereits mit Serum (GORANOV, 2007; HAYASHI *et al.*, 2009), Urin (HAYASHI *et al.*, 2009) und Synovia (HAYASHI *et al.*, 2009; PRINK *et al.*, 2010) durchgeführt.

In den eigenen Untersuchungen konnten aufgrund des geringen Restvolumens der Synoviaprobe nur Einfachmessungen erfolgen. Die Standardkurve wurde anhand von Doppelwerten erstellt. Die OD der gemessenen Proben lag in allen Fällen im Optimum der Standardkurve, so dass trotz der Einfachmessungen eine verlässliche Aussage zu C2C-Konzentrationen der Proben gemacht werden konnte.

In den Synoviaprobe der OA-Gelenke wurden gegenüber den Kontrollgelenken signifikant höhere C2C-Konzentrationen gemessen. Dies steht in Einklang mit den Ergebnissen tierexperimenteller Untersuchungen mit induzierter Ruptur eines Lcc (CHU *et al.*, 2002; MATYAS *et al.*, 2004; GORANOV, 2007) und einer klinischen Studie bei Hunden mit Erkrankungen des Processus coronoideus medialis (PRINK *et al.*, 2010). HAYASHI *et al.* (2009) konnten dagegen bei Hunden mit spontaner Ruptur des Lcc keine erhöhten Konzentrationen von C2C in Synovia oder Serum feststellen.

Analog zu den Ergebnissen von MATYAS *et al.* (2004) war die Konzentration von C2C im Serum der eigenen Untersuchungen gegenüber den Synovialkonzentrationen erhöht. Dies unterstreicht die fragliche Spezifität von Biomarkerkonzentrationen in Serum, da dieses im Gegensatz zu Synovia systemischen Stoffwechseleinflüssen unterliegt. Die insgesamt höheren C2C-Konzentrationen im Serum reflektieren demnach nicht nur den Kollagenmetabolismus einzelner Gelenke sondern werden auch durch Abbau von CII im gesamten Skelett- und dem Respirationssystem beeinflusst. MATYAS *et al.* (2004) diskutieren eine systemische Stimulation des Kollagenmetabolismus, die durch Gelenkerkrankungen ausgelöst wird. Ebenso könne die Präparation von Serum zu erhöhten C2C-Konzentrationen führen.

Nach den eigenen Untersuchungen lagen sowohl in Synovia als auch in Serum Überschneidungen der Werte der OA-Gruppe und der Kontrollgruppe vor, so dass nicht empfohlen werden kann, nur C2C zur Diagnose von OA zu bestimmen.

Entgegen Angaben von MATYAS *et al.* (2004) und GORANOV (2007) konnte bei den eigenen Untersuchungen keine erhöhte Konzentration von C2C im Serum bei Patienten mit OA ermittelt werden. Verglichen zu den Kontrollen war sie signifikant niedriger. Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen C2C-Konzentrationen in Synovia und Serum festgestellt werden.

Die Kollagenasen MMP-1, MMP-8 und MMP-13 spalten CII an determinierter Stelle in 2 Fragmente von  $\frac{3}{4}$  und  $\frac{1}{4}$  der ursprünglichen Länge (MITCHELL *et al.*, 1996; BILLINGHURST *et al.*, 1997; DAHLBERG *et al.*, 2000). Die Tripelhelix entwindet sich und wird dadurch für weitere enzymatische Abbauprozesse angreifbar (BILLINGHURST *et al.*, 1997). Die Enzymaktivitäten des Kollagenkatabolismus sind komplex und noch nicht vollständig geklärt. Eine Vielzahl verschiedener Enzyme ist zu unterschiedlichen Zeiten und Bedingungen aktiv (GARVICAN *et al.*, 2010). Deswegen kann in osteoarthritischen Gelenken ein weiterer Abbau des  $\frac{3}{4}$  langen Kollagenfragments erfolgen, so dass im Serum vermehrt andere Spaltprodukte als C2C nachweisbar wären.

Im Verlauf über 16 Wochen änderte sich die C2C-Konzentration in den Synovia- und Serumproben nicht signifikant. Diese Beobachtung steht im Einklang mit Ergebnissen von CHU *et al.* (2002) und GORANOV (2007), die in Synovia von Hunden mit experimentell induzierter OA über einen längeren Zeitraum erhöhte C2C-Konzentrationen feststellten. Die geringgradigen Schwankungen in den Serumproben, mit einem geringgradigen transienten Anstieg nach 8 Wochen, könnten auch auf systemische Einflüsse zurückzuführen sein, da die Konzentrationen in der Synovia konstant blieben. Insgesamt scheinen die C2C-Konzentrationen nicht durch Änderungen der osteoarthritischen Prozesse, die durch den operativen Eingriff hervorgerufen sein könnten, beeinflusst zu werden.

Die höchsten C2C-Konzentrationen wurden in Synovia von Kniegelenken ermittelt. 86,8% der Patienten mit OA im Kniegelenk hatten eine Ruptur des Lcc. Daraus zu folgern ist, dass die aus der Kreuzbandruptur resultierenden osteoarthritischen Prozesse zu einer Schädigung des Gelenkknorpels geführt haben. Dieses Resultat steht im Einklang mit experimentellen Studien die erhöhte C2C-Konzentrationen in Synovia nach induzierter Ruptur des Lcc nachweisen konnten (CHU *et al.*, 2002; MATYAS *et al.*, 2004). Im Gegensatz dazu konnten jedoch HAYASHI *et al.* (2009) bei Hunden mit spontaner Ruptur keine erhöhten C2C-Konzentrationen verglichen zu Kontrollen nachweisen. Diskutiert wird, ob der

experimentelle Kreuzbandriss im Tiermodell größere Knorpelschädigungen verursacht, als die spontane Ruptur. Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen widersprechen dem. Betont werden muss aber, dass keine isolierte Analyse von Hunden mit Ruptur des Lcc erfolgte, da der Schwerpunkt auf allgemeine osteoarthritische Prozesse gelegt wurde. Breiter angelegte klinische Multicenter-Studien mit einem größeren Spektrum an Biomarkern des Knorpelmetabolismus könnten zu einer Klärung der Differenzen beitragen.

Bei den klinischen Parametern Lahmheit, Gelenkfüllung und Schmerzhaftigkeit wurden in Synovia signifikante Unterschiede der C2C-Konzentrationen zwischen den einzelnen Ausprägungsgraden festgestellt. Sie ergaben sich insbesondere zwischen Gelenken ohne und solchen mit gering- bis mittelgradigen klinischen Befunden. Die Serumkonzentrationen von C2C nahmen mit zunehmender Lahmheit eher ab, bei den Parametern Schmerz und Gelenkfüllung ergaben sich im Serum keine signifikanten Unterschiede. Die Konzentrationen sanken allerdings ebenfalls tendenziell ab.

Angaben zu etwaigen Zusammenhängen zwischen klinischen Befunden und C2C-Konzentrationen finden sich nur bei HAYASHI *et al.* (2009), eine signifikante Korrelation wurde dabei nicht festgestellt. In der Studie wurden nur Hunde mit Ruptur des Lcc untersucht. Möglich ist, dass die nach Ruptur des Kreuzbandes einsetzende Kapselfibrose zu einer sekundären Stabilisierung des Gelenks beiträgt und klinische Symptome daher weniger auffallend sind. Weitere Schädigungen des Gelenkknorpels und osteoarthritische Prozesse korrelieren dann nicht mehr mit der Klinik.

Zwischen den Ausprägungsgraden der Krepitation, der Röntgenbefunde und der intraoperativen Befunde ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der C2C-Konzentrationen in Synovia oder Serum. Auffallend hierbei ist, dass die zunehmende Schädigung des Gelenkknorpels nicht mit Veränderungen der C2C-Konzentration einherging. Bereits PRINK *et al.* (2010) konnten keine signifikanten Zusammenhänge feststellen. Dieses unerwartete Ergebnis kann zum einen mit der geringen Gruppengröße, insbesondere bei mittel- und hochgradigen Läsionen, erklärt werden. Zum anderen kann die Subjektivität der makroskopischen Knorpelbeurteilung eine weitere Ursache sein, zumal der Kollagenverlust nur indirekt beurteilt werden kann. Untersuchungen über Zusammenhänge zwischen makroskopischen Befunden und immunhistochemischen Analysen des Knorpels könnten weitere Klarheit schaffen.

Bei Zusammenfassung aller Befunde in OA-Graden konnte eine signifikante Zunahme der C2C-Konzentration in Synovia mit zunehmender Ausprägung der OA beobachtet werden. Gelenke mit hochgradiger bzw. fortgeschrittener OA wiesen signifikant höhere C2C-Werte gegenüber Gelenken ohne OA auf. Auch wenn sich Gelenke mit geringgradiger bzw.

frühzeitiger OA nicht signifikant von nicht oder hochgradig erkrankten Gelenken unterschieden, wurde auch in dieser Gruppe ein Konzentrationsanstieg gegenüber den Kontrollgelenken beobachtet. Im Serum waren die C2C-Konzentrationen bei Tieren mit hochgradiger OA gegenüber denen ohne OA signifikant vermindert. In tierexperimentellen Studien von CHU *et al.* (2002), MATYAS *et al.* (2004) und GORANOV (2007) wurde 3-4 Wochen nach dem Insult ein Anstieg von C2C in Synovia und/oder Serum ermittelt. Röntgenologische Veränderungen wurden von CHU *et al.* (2002) nach 8 Wochen beobachtet, so dass Änderungen der C2C-Werte frühzeitig auftraten. Insgesamt wurde C2C als spezifischer und sensitiver Marker von frühen Knorpelschäden bei OA angesehen. Mit den eigenen Untersuchungen kann dies so nicht bestätigt werden. Zwar unterschieden sich die Synovialkonzentrationen von C2C mit verschiedener Ausprägung der OA, jedoch konnte eine geringgradige bzw. frühzeitige OA nicht von einer hochgradigen OA oder Gelenken ohne OA abgegrenzt werden. Zu ähnlichen Schlüssen kamen auch PRINK *et al.* (2010) bei Hunden mit Erkrankungen des Processus coronoideus medialis. HAYASHI *et al.* (2009) sahen C2C nicht als nützlichen Marker in der Diagnostik der Ruptur des Lcc beim Hund an. Im Gegensatz zu klinischen Studien bieten tierexperimentelle Ansätze sicherlich den Vorteil, dass der Zeitpunkt, an dem osteoarthritische Prozesse initiiert werden, determiniert ist und damit sehr früh einsetzende Veränderungen genau überwacht werden können. Für die Anwendung von Biomarkern zur (Früh-) Diagnose von OA sollten jedoch auch unter klinischen Bedingungen verlässliche Aussagen getroffen werden können.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass C2C in Synovia als Biomarker bei Hunden mit OA dienen kann. Der Nutzen von C2C zur Diagnose früher Erkrankungen ist umstritten. Zukünftig sollten die C2C-Konzentrationen bei weiteren Form- und Funktionsstörungen genauer untersucht werden. Zur näheren Graduierung der Prozesse im Gelenk sollten dabei zusätzlich die MRT und immunhistochemische Analysen des Gelenkknorpels beitragen.

### **5.13 Osteoarthritis-Grade und Verlauf der Marker über 16 Wochen**

In diesem Abschnitt wurden die Veränderungen der Markerkonzentrationen oder -aktivitäten über 16 Wochen in Bezug zum Ausprägungsgrad der OA beleuchtet. Besonders zu beachten ist der Einfluss durch die chirurgische Intervention nach Punktion I. Angenommen wird, dass der chirurgische Eingriff die Funktionalität des Gelenks verbessert und die Progression der OA verlangsamt. Der Erfolg der chirurgischen Maßnahmen sollte dabei nicht überprüft werden. Vielmehr sollte erarbeitet werden, welche Marker auch über einen längeren Zeitraum hinweg als Indikatoren von OA dienen können, und ob die

Konzentrationen bzw. Aktivitäten der Marker in der Lage sind, Änderungen der Aktivität der OA durch therapeutische Maßnahmen zu reflektieren. Gering- und hochgradige osteoarthritische Veränderungen wurden hierbei gegenübergestellt. Auf Basis der Ergebnisse obliegt es weiteren Untersuchungen, das Potenzial der Marker hinsichtlich der Kontrolle therapeutischer Maßnahmen zu beleuchten.

Bei der initialen Untersuchung lagen zwischen Kontrollen und OA-Gelenken Unterschiede in den Gesamtzellzahlen vor, im Verlauf über 16 Wochen näherten sich die Zellzahlen der OA-Gelenke jedoch denen der Kontrollgelenke an. Zwischen den einzelnen OA-Graden wurde im Verlauf über 16 Wochen kein Unterschiede der Zellzahlen festgestellt. Erhöhte Zellzahlen deuten demnach auf intraartikuläre inflammatorische Prozesse hin, längerfristig vermögen sie aber nicht, osteoarthritische Prozesse zu reflektieren.

Der operative Eingriff normalisiert wohl die Gesamtzellzahl im Gelenk, ohne dass der Status der bestehenden OA durch die Zellzahl adäquat dargestellt werden kann.

Die synovialen MPO-Aktivitäten von OA-Patienten unterschieden sich zu jedem Zeitpunkt signifikant von denen der Kontrollgruppe. Sowohl bei OA-Grad 1 als auch bei OA-Grad 2 wurde nach 8 Wochen zunächst ein Anstieg der Aktivität beobachtet. Nach 16 Wochen fiel sie deutlich ab, jedoch konnte nur bei OA-Grad 2 ein signifikanter Unterschied gegenüber den Werten bei Punktion II festgestellt werden. Fehlende Signifikanzen bei OA-Grad 1 lassen sich durch geringe Fallzahlen bei Punktion II und III erklären. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die MPO-Aktivität relativ sensitiv für Veränderungen im Gelenk ist. Der Anstieg nach 8 Wochen ist durch den chirurgischen Eingriff als solchen zu erklären. Das Absinken nach 16 Wochen kann in Bezug zu einer Verminderung entzündlicher Vorgänge im Gelenk und eine Verlangsamung der osteoarthritischen Prozesse gesetzt werden. Dennoch lagen erhöhte Aktivitäten verglichen mit Kontrollen vor. Bei den verschiedenen OA-Graden ist der Verlauf der Aktivitäten vergleichbar. Auch wenn dies nicht statistisch gesichert werden konnte waren nach 16 Wochen bei OA-Grad 2 höhere Aktivitäten als bei OA-Grad 1 festzustellen.

Die MPO-Aktivitäten in Synovia sind somit über einen längeren Zeitraum in der Lage, inflammatorische Vorgänge im Gelenk zu reflektieren, und sie deuten Unterschiede zwischen den Ausprägungen der OA an. Ein Anstieg weist auf eine erhöhte Aktivität der OA hin. Die Bestimmung der MPO-Aktivität erweist sich als sehr vielversprechend, um die Effizienz therapeutischer Maßnahmen insbesondere hinsichtlich von Verlaufskontrollen zu überprüfen. Die MPO-Aktivitäten im Serum wiesen keine Unterschiede zwischen OA-Patienten und den Kontrollen auf, so dass die Aktivität im Serum nicht als Marker osteoarthritischer Prozesse eingesetzt werden kann. Dennoch konnten bei beiden OA-Graden nach 8 Wochen Anstiege

der Aktivitäten festgestellt werden. Nach 16 Wochen sanken die Werte wieder geringgradig, lagen aber noch oberhalb der Werte bei Punktion I.

Nur in Synovia konnten bei der Erstpunktion signifikante Unterschiede der CRP-Konzentrationen zwischen OA-Gelenken und Kontrollen festgestellt werden. Nach 8 und 16 Wochen bestand diese Differenz nicht mehr. Auch konnten unter Berücksichtigung der einzelnen OA-Grade im Verlauf keine Unterschiede ermittelt werden. CRP in Synovia kann daher kurzfristig dienlich sein, um entzündliche Reaktionen im Rahmen einer OA zu vermuten, erweist sich aber nicht als nützlich, um Änderungen, die mit therapeutischen Interventionen verbunden sind, sensitiv darzustellen.

Über den Verlauf von 16 Wochen stiegen die HA-Konzentrationen in Synovia bei OA-Grad 1 und 2 an. Signifikante Unterschiede gegenüber der Erstpunktion ergaben sich nur bei OA-Grad 2. Fehlende Signifikanzen bei OA-Grad 1 können durch die geringen Fallzahlen bei Punktion II und III erklärt werden. Nach 8 Wochen waren die HA-Konzentrationen bei OA-Grad 1 und 2 noch mit den Konzentrationen bei Erstpunktion vergleichbar, wenn auch insgesamt auf unterschiedlichem Niveau. Nach 16 Wochen wurde bei beiden OA-Graden ein Anstieg der Konzentration festgestellt, der jedoch nur bei OA-Grad 2 signifikant verschieden von Punktion I und II war. Die Zunahme der HA-Konzentration deutet auf eine Verminderung der degenerativen Vorgänge im Gelenk nach der chirurgischen Intervention hin. Bei jedem Untersuchungszeitpunkt waren in OA-Gelenken die Konzentrationen signifikant niedriger als in den Kontrollen. Es kann damit zwar von einer Stabilisierung der OA im Gelenk ausgegangen werden, dennoch zeigen die HA-Konzentrationen die weiterhin bestehenden osteoarthritischen Veränderungen auf. Auch ist der Anstieg der HA-Konzentrationen nach 16 Wochen bei Gelenken mit OA-Grad 2 weniger deutlich ausgeprägt.

Ebenso wie die synovialen MPO-Aktivitäten sind auch HA-Konzentrationen sensitiv, um osteoarthritische Prozesse längerfristig darzustellen. Sie erscheinen ebenso sehr vielversprechend, um in Verlaufskontrollen therapeutische Effekte zu kontrollieren und die Aktivität der OA zu reflektieren.

Im Serum konnten bei keiner Untersuchung signifikante Unterschiede zwischen HA-Konzentrationen bei OA-Patienten und Kontrollen ermittelt werden, auch wenn tendenziell die Serumkonzentrationen bei OA-Patienten niedriger waren. Damit kann HA in Serum nicht als zuverlässiger Marker bei Hunden mit OA eingesetzt werden. Sowohl bei OA-Grad 1 als auch OA-Grad 2 wurde im Verlauf von 16 Wochen eine geringgradige Zunahme der Konzentrationen ersichtlich. Es ist damit anzunehmen, dass, trotz der mangelnden Spezifität von Serumanalysen, die lokalen Prozesse im Gelenk einen gewissen Einfluss auf die Serumkonzentrationen haben.

In Synovia- und Serumproben wurden weder bei OA-Grad 1 noch bei OA-Grad 2 signifikante Differenzen der C2C-Konzentrationen im Verlauf über 16 Wochen festgestellt. In den Synovialproben waren bei jeder Untersuchung signifikante Differenzen der C2C-Konzentrationen zwischen OA-Gelenken und Kontrollen ermittelbar. Im Serum hatten sich die Werte nach 8 Wochen den Kontrollen angenähert, so dass hier keine Unterschiede mehr erkennbar waren. Nach 16 Wochen sanken die Serumkonzentrationen jedoch wieder ab. Obwohl längerfristig signifikante Unterschiede in den synovialen C2C-Konzentrationen von OA-Gelenken und Kontrollen bestanden, erscheint die Bestimmung von C2C als nicht hinreichend sensitiv, um Änderungen in der Aktivität der OA aufzuzeigen. C2C bietet sich nicht als Marker für Verlaufskontrollen an, sehr hohe synoviale C2C-Konzentrationen können jedoch als Indikator für osteoarthritische Prozesse gewertet werden.

### **5.14 Osteoarthritis-Grade und Quotienten der Marker**

Durch die Erstellung von Quotienten aus jeweils zwei Markern sollte geprüft werden, ob eine Kombination der Marker eine deutlichere Diskriminierung der unterschiedlichen Ausprägungen der OA ermöglicht. Aufgrund vorheriger Ergebnisse wurden nur Konzentrationen bzw. Aktivitäten der Marker zur Erstellung der Quotienten herangezogen, die in Synovia bestimmt wurden. Zunächst wurde ermittelt, welche Marker miteinander in Beziehung standen. Für drei Kombinationen wurden signifikant negative Korrelationen schwacher bis mittlerer Ausprägung berechnet und auf dieser Basis die Quotienten C2C/HA, MPO/HA und CRP/HA erstellt.

Der C2C/HA-Quotient wurde aus den Markern mit der stärksten negativen Korrelation erstellt. Wie erwartet stieg mit zunehmender Ausprägung der OA auch der Wert des Quotienten an. Dennoch überlappten sich unter Verwendung des Quotienten die Werte in den einzelnen Gruppen, so dass eine eindeutige Abgrenzung zwischen Gelenken ohne OA, mit gering- und mit hochgradiger OA nicht möglich war. Anhand der Quotienten konnten statistisch signifikante Unterschiede zwischen Gelenken ohne und mit geringgradiger OA, sowie ohne und mit hochgradiger OA ermittelt werden. Gegenüber den anderen Quotienten lieferte die Kombination von C2C/HA den Quotienten mit der stärksten Aussagekraft. Dennoch konnten im Vergleich zu den Ergebnissen der Einzelanalyse der Marker keine zusätzlichen Erkenntnisse erlangt werden.

Beim MPO/HA-Quotienten zeigt sich in Bezug auf verschiedene Ausprägungsgrade der OA eine Verminderung des Quotienten bei Gelenken mit hochgradiger OA. Dies ergibt sich aus den Beobachtungen, dass die MPO-Aktivität bei hochgradig veränderten Gelenken gegenüber geringgradig betroffenen abnimmt. Dennoch unterschieden sich die Quotienten signifikant zwischen Gelenken ohne und mit geringgradiger OA und zwischen Gelenken ohne und mit hochgradiger OA. Eine stärkere Diskriminierung zwischen den einzelnen Gruppen war aber auch mit dem Quotienten nicht erzielbar.

Der CRP/HA-Quotient lieferte die schwächste Aussagekraft. Im Median unterschieden sich die Werte zwischen OA-Grad 1 und OA-Grad 2 nur geringfügig. Statistisch signifikante Unterschiede lagen nur zwischen den Quotienten von Gelenken ohne und mit hochgradiger OA vor. Auch mit dem CRP/HA-Quotienten war keine deutlichere Abgrenzung der OA-Gruppen möglich.

Im Vergleich mit den Einzelanalysen der Marker konnte demnach auch durch die Kombination vom Markern mittels Quotientenbildung kein Vorteil gewonnen werden, um verschiedene Ausprägungen der OA genauer zu unterscheiden. Aufgrund der Überlappung der Daten zwischen den einzelnen Gruppen würden weitere statistische Testverfahren wie eine Diskriminanzanalyse keinen zusätzlichen Nutzen liefern, so dass sie nicht durchgeführt wurden.

## 6 Zusammenfassung

Die Osteoarthritis des Hundes ist eine degenerative Gelenkerkrankung, die sekundär aus verschiedenen Form- und Funktionsstörungen hervorgeht. Langfristig führt die Erkrankung zur Immobilität des Gelenks und chronischen Schmerzen. Die Diagnose wird meist aufgrund der klinisch-orthopädischen und röntgenologischen Befunde am Bewegungsapparat gestellt. Frühzeitig diagnostiziert können geeignete therapeutische Maßnahmen den Verlauf der Osteoarthritis verlangsamen und so die Lebensqualität des Tieres längerfristig erhalten. Insbesondere Röntgenuntersuchungen sind jedoch nicht ausreichend sensitiv, um initiale entzündliche Prozesse der Osteoarthritis darzustellen. Biochemische Marker, die diagnostische und prognostische Informationen über frühe Stadien der Osteoarthritis liefern, stehen im Fokus der aktuellen Forschung. Die Überwachung des Krankheitsverlaufs und Therapieerfolgs anhand einer präziseren Graduierung pathologischer Prozesse im Gelenk sind denkbar. Neue Erkenntnisse könnten zudem als Grundlage zur Entwicklung von Therapiestrategien dienen. Mit diesen Zielsetzungen wurde bereits eine Vielzahl an Marker untersucht. Dennoch sind weitere Arbeiten erforderlich bis die Marker für den routinemäßigen Einsatz in der klinischen Diagnostik verwendbar sind.

Ziel dieser Studie war es, die Biomarker Myeloperoxidase, C-reaktives Protein, Hyaluronsäure und C2C in Synovia und Serum von Hunden mit und ohne Osteoarthritis auf ihre Eignung als diagnostische Marker der Osteoarthritis zu untersuchen. Für die Konzentrationsmessung caniner Synovia wurde ein kommerzieller Hyaluronsäure-Assay validiert. Unabhängig von der primären Erkrankungsursache, aber unter Berücksichtigung klinischer, röntgenologischer, intraoperativer und synovialer Befunde, wurden die Gelenke in verschiedene Ausprägungsgrade der Osteoarthritis eingeteilt. Es wurde untersucht, ob zwischen Gelenken ohne, mit gering- und mit hochgradiger Osteoarthritis Unterschiede in den Konzentrationen bzw. Aktivitäten der Marker vorlagen. Um zu prüfen, ob die alleinige Bestimmung der Serumwerte zu zuverlässigen diagnostischen Aussagen führen kann, wurden die Konzentrationen bzw. Aktivitäten in Synovia und Serum verglichen. In einigen Fällen wurden Verläufe der Markerkonzentrationen bzw. -aktivitäten über 16 Wochen verfolgt und in Bezug zu den Ausprägungsgraden der Osteoarthritis gesetzt. Es wurden drei Quotienten berechnet, bei denen die Marker kombiniert wurden. Die Quotienten wurden bei den verschiedenen Ausprägungen der Osteoarthritis analysiert.

Der Hyaluronsäure-ELISA lieferte zuverlässige Ergebnisse für die eigenen caninen Synoviaprobe. Die Biomarker wiesen signifikante Konzentrations- bzw-

Aktivitätsunterschiede in Synovia zwischen gesunden Kontrollgelenken und osteoarthritisch veränderten Gelenken auf. Für alle Marker konnten signifikante Konzentrations- bzw. Aktivitätsunterschiede in Synovia zwischen Gelenken ohne Osteoarthritis und solchen mit hochgradigen Veränderungen festgestellt werden. Die synovialen Myeloperoxidase-Aktivitäten und die Hyaluronsäure-Konzentrationen unterschieden sich zudem zwischen gesunden Gelenken und geringgradig veränderten Gelenken signifikant. Allein die synovialen Hyaluronsäure-Konzentrationen wiesen signifikante Unterschiede zwischen gering- und hochgradig erkrankten Gelenken auf.

Bei den Markern überschritten sich Werte zwischen den Ausprägungsgraden, so dass die Richtigkeit eingeschränkt ist. Die Marker können demnach einen Trend anzeigen, sollten aber nicht als alleiniges Diagnostikum für osteoarthritische Veränderungen angewandt werden.

Die Ergebnisse bei den Folgeuntersuchungen der Marker nach 8 und 16 Wochen lassen darauf schließen, dass Myeloperoxidase und Hyaluronsäure in Synovia nützliche Indikatoren für die Aktivität der Erkrankung im Zuge von Verlaufskontrollen sein können.

Anhand der Serumkonzentrationen bzw. -aktivitäten der Biomarker konnten keine zuverlässigen Aussagen getroffen werden. Denkbar ist, dass systemische Einflüsse auf die Marker wirken. Die Bestimmung der Marker im Serum kann aufgrund der vorliegenden Ergebnisse nicht empfohlen werden.

Durch die Berechnung von Quotienten aus jeweils zwei korrelierenden Markern war eine deutlichere Diskriminierung zwischen den verschiedenen Ausprägungsgraden der Osteoarthritis nicht möglich.

Mit dieser Arbeit wurden neue Erkenntnisse hinsichtlich der Biomarker gewonnen. Somit konnten nicht nur Unterschiede zwischen gesunden und osteoarthritisch veränderten Gelenken nachgewiesen werden, es konnte darüber hinaus die Ausprägung der Osteoarthritis im Gelenk reflektiert werden. Als besonders nützlich erwiesen sich hierbei Myeloperoxidase und Hyaluronsäure in Synovia. Diese Marker können dazu beitragen, bereits geringgradige (frühe) osteoarthritische Prozesse aufzudecken. Die Ergebnisse der Arbeit können als Basis für weitere Studien genutzt werden.

## 7 Summary

### **Biomarkers of canine osteoarthritis: evaluation of myeloperoxidase, C-reactive protein, hyaluronic acid and C2C in synovial fluid and serum**

Canine osteoarthritis is a degenerative joint disease, mainly secondary to different preceding joint lesions. The course of the disease leads to joint immobilization and chronic pain development. The diagnosis is confirmed by clinical orthopaedic and radiographic examinations of the affected joint. An early diagnosis may offer the opportunity to retard the progression of the disease by applying adequate therapeutic measures and, therefore, to maintain the animal's quality of life for the longer term. Unfortunately, especially radiographic examinations are not suitable to identify early inflammatory osteoarthritic processes. Biochemical markers, which provide diagnostic and prognostic information about early stages of osteoarthritis, are in the focus of today's research. A more accurate graduation of pathologic processes in the joint may permit monitoring the course of the disease and its response to therapy. Additionally, new insights in the relations of biomarkers may help to develop new therapeutic strategies. Heading for these aims, a multitude of markers has been studied. However, further investigations are needed until the markers are suitable for routine application in clinical settings.

The aim of this study was to evaluate myeloperoxidase, C-reactive protein, hyaluronic acid and C2C in canine synovial fluid and serum with respect to their potential as diagnostic markers of osteoarthritis. A commercial hyaluronic acid assay was validated for canine synovial fluid samples. Samples of healthy controls were compared to those of diseased dogs with secondary osteoarthritis. Irrespective of the primary joint disease, but considering the clinical, radiographic, intraoperative and synovial fluid findings, the joints were classified in different degrees of osteoarthritis. Differences in the concentrations resp. activities of the markers between joints without and with mild or severe osteoarthritic lesions were investigated. Synovial fluid and serum values were compared to assess whether measurements of the markers in serum alone would be of diagnostic value. In some cases the concentrations resp. activities of the markers were monitored in the course of 16 weeks. The results were related to the degrees of osteoarthritis. By combining the markers, three ratios were calculated and evaluated with regard to the degrees of osteoarthritis.

The hyaluronic acid assay used for canine synovial fluid samples provided reliable results. All biomarkers showed significant differences in synovial fluid concentrations resp. activities between control joints and osteoarthritic joints. Regarding the degrees of osteoarthritis, all markers had significant differences in synovial fluid concentrations resp. activities between joints without osteoarthritis and those with severe lesions. Moreover, synovial fluid myeloperoxidase activities and hyaluronic acid concentrations differed significantly between controls and mildly affected joints. Exclusively, synovial fluid hyaluronic acid concentrations revealed significant differences between mildly and severely affected joints.

It should be emphasized that values of all markers overlapped between groups and, therefore, the accuracy is limited. The markers were able to indicate a trend of disease processes but should not be used as the only diagnostic tool.

The results of the follow-up examinations indicated that myeloperoxidase and hyaluronic acid might be useful indicators of disease activity in the course of continuous measurements.

No reliable conclusions could be made by determination of marker concentrations resp. activities in serum. Possible systemic influences on the biomarkers might have contributed to these results. Accordingly, measurements in serum are not recommended for the markers examined here.

The ratios that were calculated from two correlating markers respectively were not able to improve the discrimination between the degrees of osteoarthritis.

The study presented here helped to gain new insights concerning the examined biomarkers. Differences in marker concentrations resp. activities between healthy and osteoarthritic joints could be demonstrated, as well as the degree of osteoarthritic lesions. Myeloperoxidase and hyaluronic acid in synovial fluid were proved to be particularly useful. These markers might contribute to the detection of mild (early) osteoarthritic processes within the joint. On the basis of these findings further investigations can be designed.

## 8 Literaturverzeichnis

- ABATANGELO, G., BOTTI, P., DEL BUE, M., GEI, G., SAMSON, J. C., CORTIVO, R., DE GALATEO, A. & MARTELLI, M. (1989):  
Intraarticular sodium hyaluronate injections in the Pond-Nuki experimental model of osteoarthritis in dogs. I. Biochemical results.  
*Clin Orthop Relat Res*, 278-285
- ABERNETHY, P. J., TOWNSEND, P. R., ROSE, R. M. & RADIN, E. L. (1978):  
Is chondromalacia patellae a separate clinical entity?  
*J Bone Joint Surg Br* **60-B**, 205-210
- AIGNER, T., HEMMEL, M., NEUREITER, D., GEBHARD, P. M., ZEILER, G., KIRCHNER, T. & MCKENNA, L. (2001):  
Apoptotic cell death is not a widespread phenomenon in normal aging and osteoarthritic human articular knee cartilage: A study of proliferation, programmed cell death (apoptosis), and viability of chondrocytes in normal and osteoarthritic human knee cartilage.  
*Arthritis Rheum* **44**, 1304-1312
- AIGNER, T. & KIM, H. A. (2002):  
Apoptosis and cellular vitality: issues in osteoarthritic cartilage degeneration.  
*Arthritis Rheum* **46**, 1986-1996
- AIGNER, T., KURZ, B., FUKUI, N. & SANDELL, L. (2002):  
Roles of chondrocytes in the pathogenesis of osteoarthritis.  
*Curr Opin Rheumatol* **14**, 578-584
- AIGNER, T., VORNEHM, S. I., ZEILER, G., DUDHIA, J., VON DER MARK, K. & BAYLISS, M. T. (1997):  
Suppression of cartilage matrix gene expression in upper zone chondrocytes of osteoarthritic cartilage.  
*Arthritis Rheum* **40**, 562-569
- AIKEN, S. W., KASS, P. H. & TOOMBS, J. P. (1995):  
Intercondylar notch width in dogs with and without cranial cruciate ligament injuries.  
*Vet Comp Orthop Traumatol* **8**, 128-132
- AKERBLOM, S. & SJÖSTRÖM, L. (2007):  
Evaluation of clinical, radiographical and cytological findings compared to arthroscopic findings in shoulder joint lameness in the dog.  
*Vet Comp Orthop Traumatol* **20**, 136-141
- ALAM, M. R., LEE, J. I., KANG, H. S., KIM, I. S., PARK, S. Y., LEE, K. C. & KIM, N. S. (2007):  
Frequency and distribution of patellar luxation in dogs. 134 cases (2000 to 2005).  
*Vet Comp Orthop Traumatol* **20**, 59-64
- ALLAN, G. & NICOLL, R. (2009):  
Gelenke-Allgemeines. In: BARR, F.J. & KIRBERGER, R.M. (Ed.), *BSAVA Handbuch Bildgebende Diagnostik des muskuloskeletalen Systems bei Hund und Katze*  
1. Aufl., München: Elsevier GmbH, 2009, 87-103

- ALLGOEWER, I., RICHTER, A., GRÜNING, G., MEUTSTEGE, F. J., WAIBL, H. & BRUNNBERG, L. (2000):  
Zwei intra-extraartikuläre Stabilisationsverfahren zur Therapie der Ruptur des Ligamentum cruciatum craniale im Vergleich: Methode (mod.) nach FLO und Methode nach Meutstege.  
*Kleintierpraxis* **45**, 95-103
- AMEYE, L. G., DEBERG, M., OLIVEIRA, M., LABASSE, A., AESCHLIMANN, J. M. & HENROTIN, Y. (2007):  
The chemical biomarkers C2C, Coll2-1, and Coll2-1NO2 provide complementary information on type II collagen catabolism in healthy and osteoarthritic mice.  
*Arthritis Rheum* **56**, 3336-3346
- ARBESSER, E. (1974):  
Osteochondrosis dissecans der Femurkondylen beim Hund.  
*Wien Tierärztl Mschr* **61**, 303-313
- ARICAN, M., CARTER, S. D., MAY, C. & BENNETT, D. (1994):  
Hyaluronan in canine arthropathies.  
*J Comp Pathol* **111**, 185-195
- ARNOCZKY, S. P. & WILSON, J. W. (1990):  
The connective tissues. In: WHITTICK, W.G. (Ed.), *Canine orthopedics*  
2nd ed., Malvern, Pennsylvania: Lea and Febiger, 21-40
- ASPDEN, R. M. & HUKINS, D. W. (1981):  
Collagen organization in articular cartilage, determined by X-ray diffraction, and its relationship to tissue function.  
*Proc R Soc Lond B Biol Sci* **212**, 299-304
- ATILOLA, M. A., LUMSDEN, J. H., HULLAND, T. J. & PENNOCK, P. W. (1984):  
Intra-articular tissue response to analytical grade metrizamide in dogs.  
*Am J Vet Res* **45**, 2651-2657
- ATILOLA, M. A., LUMSDEN, J. H. & ROOKE, F. (1986):  
A comparison of manual and electronic counting for total nucleated cell counts on synovial fluid from canine stifle joints.  
*Can J Vet Res* **50**, 282-284
- ATKINSON, A. J., COLBURN, W. A., DEGRUTTOLA, V. G., DEMETS, D. L., DOWNING, G. J., HOTH, D. F., OATES, J. A., PECK, C. C., SCHOOLEY, R. T., SPILKER, B. A., WOODCOCK, J. & ZEGER, S. L. (2001):  
Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework.  
*Clin Pharmacol Ther* **69**, 89-95
- ATTUR, M. G., DAVE, M., AKAMATSU, M., KATOH, M. & AMIN, A. R. (2002):  
Osteoarthritis or osteoarthrosis: the definition of inflammation becomes a semantic issue in the genomic era of molecular medicine.  
*Osteoarthritis Cartilage* **10**, 1-4
- AUMARM, W. (2008):  
Comparative diagnosis of canine Elbow Dysplasia between Radiography, Computer Tomography and Arthroscopy.  
*Berlin, Freie Univ., Diss., 2008*, 126

- BABIOR, B. M. (1984):  
The respiratory burst of phagocytes.  
*J Clin Invest* **73**, 599-601
- BABIOR, B. M. (2000):  
Phagocytes and oxidative stress.  
*Am J Med* **109**, 33-44
- BAKER, M. S., GREEN, S. P. & LOWTHER, D. A. (1989):  
Changes in the viscosity of hyaluronic acid after exposure to a myeloperoxidase-derived oxidant.  
*Arthritis Rheum* **32**, 461-467
- BALAZS, E. A., WATSON, D., DUFF, I. F. & ROSEMAN, S. (1967):  
Hyaluronic acid in synovial fluid. I. Molecular parameters of hyaluronic acid in normal and arthritis human fluids.  
*Arthritis Rheum* **10**, 357-376
- BALLOU, S. P. & LOZANSKI, G. (1992):  
Induction of inflammatory cytokine release from cultured human monocytes by C-reactive protein.  
*Cytokine* **4**, 361-368
- BARDET, J. F. (1998):  
Diagnosis of shoulder instability in dogs and cats: a retrospective study.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **34**, 42-54
- BARDET, J. F. (2002):  
Shoulder diseases in dogs.  
*Vet Med* **97**, 909-918
- BARLAND, P., NOVIKOFF, A. B. & HAMERMAN, D. (1962):  
Electron microscopy of the human synovial membrane.  
*J Cell Biol* **14**, 207-220
- BARONE, F. C., HILLEGASS, L. M., PRICE, W. J., WHITE, R. F., LEE, E. V., FEUERSTEIN, G. Z., SARAU, H. M., CLARK, R. K. & GRISWOLD, D. E. (1991):  
Polymorphonuclear leukocyte infiltration into cerebral focal ischemic tissue: myeloperoxidase activity assay and histologic verification.  
*J Neurosci Res* **29**, 336-345
- BATHEN-NOETHEN, A., CARLSON, R., MENZEL, D., MISCHKE, R. & TIPOLD, A. (2008):  
Concentrations of acute-phase proteins in dogs with steroid responsive meningitis-arteritis.  
*J Vet Intern Med* **22**, 1149-1156
- BATISTE, D. L., KIRKLEY, A., LAVERTY, S., THAIN, L. M., SPOUGE, A. R. & HOLDSWORTH, D. W. (2004):  
Ex vivo characterization of articular cartilage and bone lesions in a rabbit ACL transection model of osteoarthritis using MRI and micro-CT.  
*Osteoarthritis Cartilage* **12**, 986-996
- BAUER, D. C., HUNTER, D. J., ABRAMSON, S. B., ATTUR, M., CORR, M., FELSON, D., HEINEGARD, D., JORDAN, J. M., KEPLER, T. B., LANE, N. E., SAXNE, T., TYREE, B. & KRAUS, V. B. (2006):  
Classification of osteoarthritis biomarkers: a proposed approach.  
*Osteoarthritis Cartilage* **14**, 723-727

- BAUER, E. L. (2006):  
Myeloperoxidase und C-reaktives Protein als Marker bei caniner Osteoarthritis.  
*Berlin, Freie Univ., Diss., 2006*, 123
- BAYRAMLI, G. & ULUTAS, B. (2008):  
Acute phase protein response in dogs with experimentally induced gastric mucosal injury.  
*Vet Clin Pathol* **37**, 312-316
- BELCHER, C., YAQUB, R., FAWTHROP, F., BAYLISS, M. & DOHERTY, M. (1997):  
Synovial fluid chondroitin and keratan sulphate epitopes, glycosaminoglycans, and hyaluronan in arthritic and normal knees.  
*Ann Rheum Dis* **56**, 299-307
- BENITO, M. J., VEALE, D. J., FITZGERALD, O., VAN DEN BERG, W. B. & BRESNIHAN, B. (2005):  
Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis.  
*Ann Rheum Dis* **64**, 1263-1267
- BENNETT, D., DUFF, S. R., KENE, R. O. & LEE, R. (1981):  
Osteochondritis dissecans and fragmentation of the coronoid process in the elbow joint of the dog.  
*Vet Rec* **109**, 329-336
- BENNETT, D., TENNANT, B., LEWIS, D. G., BAUGHAN, J., MAY, C. & CARTER, S. (1988):  
A reappraisal of anterior cruciate ligament disease in the dog.  
*J Small Anim Pract* **29**, 275-297
- BENNINGHOFF, A. (1925):  
Form und Bau der Gelenkknorpel in ihren Beziehungen zur Funktion.  
*Cell Tissue Res* **2**, 783-862
- BERG, R. I. M., SYKES, J. E., KASS, P. H. & VERNAU, W. (2009):  
Effect of repeated arthrocentesis on cytologic analysis of synovial fluid in dogs.  
*J Vet Intern Med* **23**, 814-817
- BERRY, P. A., MACIEWICZ, R. A., WLUKA, A. E., DOWNEY-JONES, M. D., FORBES, A., HELLAWELL, C. J. & CICUTTINI, F. M. (2010):  
Relationship of serum markers of cartilage metabolism to imaging and clinical outcome measures of knee joint structure.  
*Ann Rheum Dis*
- BERTOLI, A. M., VILA, L. M., REVEILLE, J. D. & ALARCON, G. S. (2008):  
Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US cohort (LUMINA): LXI. Value of C-reactive protein as a marker of disease activity and damage.  
*J Rheumatol* **35**, 2355-2358
- BERZON, J. L. (1979):  
Osteochondritis dissecans in the dog: diagnosis and therapy.  
*J Am Vet Med Assoc* **175**, 796-799
- BERZON, J. L. & QUICK, C. B. (1980):  
Fragmented coronoid process: anatomical, clinical and radiographic considerations with case analyses.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **16**, 241-251

BILLINGHURST, R. C., DAHLBERG, L., IONESCU, M., REINER, A., BOURNE, R., RORABECK, C., MITCHELL, P., HAMBOR, J., DIEKMANN, O., TSCHESCHE, H., CHEN, J., VAN WART, H. & POOLE, A. R. (1997):

Enhanced cleavage of type II collagen by collagenases in osteoarthritic articular cartilage.  
*J Clin Invest* **99**, 1534-1545

BLACK, S., KUSHNER, I. & SAMOLS, D. (2004):

C-reactive Protein.

*J Biol Chem* **279**, 48487-48490

BLAIN, E. J., GILBERT, S. J., WARDALE, R. J., CAPPER, S. J., MASON, D. J. & DUANCE, V. C. (2001):

Up-regulation of matrix metalloproteinase expression and activation following cyclical compressive loading of articular cartilage in vitro.

*Arch Biochem Biophys* **396**, 49-55

BOILEAU, C., MARTEL-PELLETIER, J., ABRAM, F., RAYNAULD, J. P., TRONCY, E., D'ANJOU, M. A., MOREAU, M. & PELLETIER, J. P. (2008):

Magnetic resonance imaging can accurately assess the long-term progression of knee structural changes in experimental dog osteoarthritis.

*Ann Rheum Dis* **67**, 926-932

BOLLET, A. J. & NANCE, J. L. (1966):

Biochemical findings in normal and osteoarthritic articular cartilage. II. Chondroitin sulfate concentration and chain length, water, and ash content.

*J Clin Invest* **45**, 1170-1177

BONNET, C. S. & WALSH, D. A. (2005):

Osteoarthritis, angiogenesis and inflammation.

*Rheumatology (Oxford)* **44**, 7-16

BORER, L. R., PEEL, J. E., SEEWALD, W., SCHAWALDER, P. & SPRENG, D. E. (2003):

Effect of carprofen, etodolac, meloxicam, or butorphanol in dogs with induced acute synovitis.

*Am J Vet Res* **64**, 1429-1437

BORRELLI, J., JR., TINSLEY, K., RICCI, W. M., BURNS, M., KARL, I. E. & HOTCHKISS, R. (2003):

Induction of chondrocyte apoptosis following impact load.

*J Orthop Trauma* **17**, 635-641

BOS, S. D., KLOPPENBURG, M., SUCHIMAN, E., VAN BEELEN, E., SLAGBOOM, P. E. & MEULENBELT, I. (2009):

The role of plasma cytokine levels, CRP and selenoprotein S gene variation in OA.

*Osteoarthritis Cartilage* **17**, 621-626

BOTHA-SCHEEPERS, S., WATT, I., SLAGBOOM, E., DE CRAEN, A. J., MEULENBELT, I.,

ROSENDAAL, F. R., BREEDVELD, F. C., HUIZINGA, T. W. & KLOPPENBURG, M. (2008):

Innate production of tumour necrosis factor alpha and interleukin 10 is associated with radiological progression of knee osteoarthritis.

*Ann Rheum Dis* **67**, 1165-1169

- BÖTTCHER, P., BRÜHSCHWEIN, A., WINKELS, P., WERNER, H., LUDEWIG, E., GREVEL, V. & OECHTERING, G. (2010):  
Value of low-field magnetic resonance imaging in diagnosing meniscal tears in the canine stifle: a prospective study evaluating sensitivity and specificity in naturally occurring cranial cruciate ligament deficiency with arthroscopy as the gold standard.  
*Vet Surg* **39**, 296-305
- BOUDRIEAU, R. J., HOHN, R. B. & BARDET, J. F. (1983):  
Osteochondritis dissecans of the elbow in the dog.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **19**, 627-635
- BOULAY, J. P. (1998):  
Fragmented medial coronoid process of the ulna in the dog.  
*Vet Clin North Am Small Anim Pract* **28**, 51-74
- BOUND, N., ZAKAI, D., BUTTERWORTH, S. J. & PEAD, M. (2009):  
The prevalence of canine patellar luxation in three centres. Clinical features and radiographic evidence of limb deviation.  
*Vet Comp Orthop Traumatol* **22**, 32-37
- BOYD, S. K., MATYAS, J. R., WOHL, G. R., KANTZAS, A. & ZERNICKE, R. F. (2000a):  
Early regional adaptation of periarticular bone mineral density after anterior cruciate ligament injury.  
*J Appl Physiol* **89**, 2359-2364
- BOYD, S. K., MULLER, R., LEONARD, T. & HERZOG, W. (2005):  
Long-term periarticular bone adaptation in a feline knee injury model for post-traumatic experimental osteoarthritis.  
*Osteoarthritis Cartilage* **13**, 235-242
- BOYD, S. K., MULLER, R., MATYAS, J. R., WOHL, G. R. & ZERNICKE, R. F. (2000b):  
Early morphometric and anisotropic change in periarticular cancellous bone in a model of experimental knee osteoarthritis quantified using microcomputed tomography.  
*Clin Biomech (Bristol, Avon)* **15**, 624-631
- BRADFORD, M. M. (1976):  
A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.  
*Anal Biochem* **72**, 248-254
- BRANNAN, S. R. & JERRARD, D. A. (2006):  
Synovial fluid analysis.  
*J Emerg Med* **30**, 331-339
- BRECKWOLDT, M. O., CHEN, J. W., STANGENBERG, L., AIKAWA, E., RODRIGUEZ, E., QIU, S., MOSKOWITZ, M. A. & WEISSLEDER, R. (2008):  
Tracking the inflammatory response in stroke in vivo by sensing the enzyme myeloperoxidase.  
*Proc Natl Acad Sci U S A* **105**, 18584-18589
- BROCKLEHURST, R., BAYLISS, M. T., MAROUDAS, A., COYSH, H. L., FREEMAN, M. A., REVELL, P. A. & ALI, S. Y. (1984):  
The composition of normal and osteoarthritic articular cartilage from human knee joints. With special reference to unicompartmental replacement and osteotomy of the knee.  
*J Bone Joint Surg Am* **66**, 95-106

- BRUCE, W. J., BURBIDGE, H. M., BRAY, J. P. & BROOME, C. J. (2000):  
Bicipital tendinitis and tenosynovitis in the dog: a study of 15 cases.  
*N Z Vet J* **48**, 44-52
- BRUNNBERG, L. (1987):  
Klinische und experimentelle Untersuchungen zu Ätiologie, Pathogenese und Therapie der Ruptur des Ligamentum cruciatum craniale im Kniegelenk des Hundes.  
*Habilitationsschrift, LMU, München*
- BRUNNBERG, L. (1990):  
Klinische Untersuchungen zu Ätiologie und Pathogenese der Ruptur des Ligamentum cruciatum craniale beim Hund. 3. Mitteilung: Eigene Untersuchungen.  
*Kleintierpraxis* **35**, 377-386
- BRUNNBERG, L. (1999):  
Spezielle Untersuchung der Hintergliedmaßen: Kniegelenk. In: BRUNNBERG, L. (Ed.),  
*Lahmheitsdiagnostik beim Hund: Untersuchung-Diagnose-Therapiehinweise*  
1. Aufl., Parey, Berlin, 171-198
- BRUNNBERG, L., RIEGER, I. & HESSE, E. M. (1992):  
Sieben Jahre Erfahrung mit einer modifizierten "Over-the-Top"-Kreuzbandplastik beim Hund.  
*Kleintierpraxis* **37**, 735-746
- BRUNNBERG, L., WAIBL, H. & NAGEL, M. L. (1978):  
Zur aseptischen Knochennekrose des Caput humeri beim Hund.  
*Berl Münch Tierärztl Wochenschr* **91**, 418-423
- BRUYERE, O., COLLETTE, J., KOTHARI, M., ZAIM, S., WHITE, D., GENANT, H., PETERFY, C.,  
BURLET, N., ETHGEN, D., MONTAGUE, T., DABROWSKI, C. & REGINSTER, J. Y. (2006):  
Osteoarthritis, magnetic resonance imaging, and biochemical markers: a one year  
prospective study.  
*Annals of the Rheumatic Diseases* **65**, 1050-1054
- BRZUSEK, D. & PETRON, D. (2008):  
Treating knee osteoarthritis with intra-articular hyaluronans.  
*Curr Med Res Opin* **24**, 3307-3322
- BUDRAS, K. D., FRICKE, W. & RICHTER, R. (2000):  
Gelenklehre: Verbindungen der Knochen und Gelenkformen. In: BUDRAS, K.D., FRICKE, W. &  
RICHTER, R. (Ed.), *Atlas der Anatomie des Hundes*  
6. überarb. und erw. Aufl., Schlütersche, Hannover, 142-143
- BUDSBERG, S. C., LENZ, M. E. & THONAR, E. J. (2006):  
Serum and synovial fluid concentrations of keratan sulfate and hyaluronan in dogs with  
induced stifle joint osteoarthritis following cranial cruciate ligament transection.  
*Am J Vet Res* **67**, 429-432
- BÜHL, A. (2010):  
Korrelationen. In: BÜHL, A. (Ed.), *PASW 18 Einführung in die moderne Datenanalyse*  
12. aktual. Aufl., Pearson Studium, München, 385-398
- BULLOUGH, P. G. & JAGANNATH, A. (1983):  
The morphology of the calcification front in articular cartilage. Its significance in joint function.  
*J Bone Joint Surg Br* **65**, 72-78

- BURR, D. B. & RADIN, E. L. (2003):  
Microfractures and microcracks in subchondral bone: Are they relevant to osteoarthritis?  
*Rheum Dis Clin North Am* **29**, 675-685
- CABRERA, S. Y., OWEN, T. J., MUELLER, M. G. & KASS, P. H. (2008):  
Comparison of tibial plateau angles in dogs with unilateral versus bilateral cranial cruciate ligament rupture: 150 cases (2000-2006).  
*J Am Vet Med Assoc* **232**, 889-892
- CALDIN, M., TASCA, S., CARLI, E., BIANCHINI, S., FURLANELLO, T., MARTINEZ-SUBIELA, S. & CERON, J. J. (2009):  
Serum acute phase protein concentrations in dogs with hyperadrenocorticism with and without concurrent inflammatory conditions.  
*Vet Clin Pathol* **38**, 63-68
- CANAPP, S. O., CROSS, A. R., BROWN, M. P., LEWIS, D. D., HERNANDEZ, J., MERRITT, K. A. & TRAN-SON-TAY, R. (2005):  
Examination of synovial fluid and serum following intravenous injections of hyaluronan for the treatment of osteoarthritis in dogs.  
*Vet Comp Orthop Traumatol* **18**, 169-174
- CAPALDO, F., GILLEY, R. & KAPATKIN, A. (2005a):  
Diagnostic and surgical applications of arthroscopy in dogs: General applications and forelimb joint diseases.  
*Comp* **27**, 580-594
- CAPALDO, F., GILLEY, R. & KAPATKIN, A. (2005b):  
Diagnostic and surgical applications of arthroscopy in dogs: Hindlimb joint diseases.  
*Comp* **27**, 596-611
- CARNEY, S. L., BILLINGHAM, M. E., CATERSON, B., RATCLIFFE, A., BAYLISS, M. T., HARDINGHAM, T. E. & MUIR, H. (1992):  
Changes in proteoglycan turnover in experimental canine osteoarthritic cartilage.  
*Matrix* **12**, 137-147
- CARNEY, S. L., BILLINGHAM, M. E., MUIR, H. & SANDY, J. D. (1985):  
Structure of newly synthesised (35S)-proteoglycans and (35S)-proteoglycan turnover products of cartilage explant cultures from dogs with experimental osteoarthritis.  
*J Orthop Res* **3**, 140-147
- CARNEY, S. L. & MUIR, H. (1988):  
The structure and function of cartilage proteoglycans.  
*Physiol Rev* **68**, 858-910
- CAROBBI, B. & NESS, M. G. (2009):  
Preliminary study evaluating tests used to diagnose canine cranial cruciate ligament failure.  
*J Small Anim Pract* **50**, 224-226
- CAWSTON, T., BILLINGTON, C., CLEAVER, C., ELLIOTT, S., HUI, W., KOSHY, P., SHINGLETON, B. & ROWAN, A. (1999):  
The regulation of MMPs and TIMPs in cartilage turnover.  
*Ann N Y Acad Sci* **878**, 120-129
- CERON, J. J., ECKERSALL, P. D. & MARTINEZ-SUBIELA, S. (2005):  
Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives.  
*Vet Clin Pathol* **34**, 85-99

CHALMERS, H. J., DYKES, N. L., LUST, G., FARESE, J. P., BURTON-WURSTER, N. I., WILLIAMS, A. J. & TODHUNTER, R. J. (2006):  
Assessment of bone mineral density of the femoral head in dogs with early osteoarthritis.  
*Am J Vet Res* **67**, 796-800

CHANG, J. & POOLE, C. A. (1996):  
Sequestration of type VI collagen in the pericellular microenvironment of adult chondrocytes cultured in agarose.  
*Osteoarthritis Cartilage* **4**, 275-285

CHAUVET, A. E., JOHNSON, A. L., PIJANOWSKI, G. J., HOMCO, L. & SMITH, R. D. (1996):  
Evaluation of fibular head transposition, lateral fabellar suture, and conservative treatment of cranial cruciate ligament rupture in large dogs: a retrospective study.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **32**, 247-255

CHEN, C. T., BURTON-WURSTER, N., BORDEN, C., HUEFFER, K., BLOOM, S. E. & LUST, G. (2001):  
Chondrocyte necrosis and apoptosis in impact damaged articular cartilage.  
*J Orthop Res* **19**, 703-711

CHEN, M. & KALLENBERG, C. G. (2009):  
New advances in the pathogenesis of ANCA-associated vasculitides.  
*Clin Exp Rheumatol* **27**, S108-114

CHEN, M. H. & BROOM, N. (1998):  
On the ultrastructure of softened cartilage: a possible model for structural transformation.  
*J Anat* **192 (Pt 3)**, 329-341

CHEVALIER, X., JEROSCH, J., GOUPILLE, P., VAN DIJK, N., LUYTEN, F. P., SCOTT, D. L., BAILLEUL, F. & PAVELKA, K. (2010):  
Single, intra-articular treatment with 6 ml hylan G-F 20 in patients with symptomatic primary osteoarthritis of the knee: a randomised, multicentre, double-blind, placebo controlled trial.  
*Ann Rheum Dis* **69**, 113-119

CHOI, H. U., JOHNSON, T. L., PAL, S., TANG, L. H., ROSENBERG, L. & NEAME, P. J. (1989):  
Characterization of the dermatan sulfate proteoglycans, DS-PGI and DS-PGII, from bovine articular cartilage and skin isolated by octyl-sepharose chromatography.  
*J Biol Chem* **264**, 2876-2884

CHU, Q., LOPEZ, M., HAYASHI, K., IONESCU, M., BILLINGHURST, R. C., JOHNSON, K. A., POOLE, A. R. & MARKEL, M. D. (2002):  
Elevation of a collagenase generated type II collagen neoepitope and proteoglycan epitopes in synovial fluid following induction of joint instability in the dog.  
*Osteoarthritis Cartilage* **10**, 662-669

CIBERE, J., ZHANG, H., GARNERO, P., POOLE, A. R., LOBANOK, T., SAXNE, T., KRAUS, V. B., WAY, A., THORNE, A., WONG, H., SINGER, J., KOPEC, J., GUERMAZI, A., PETERFY, C., NICOLAOU, S., MUNK, P. L. & ESDAILE, J. M. (2009):  
Association of biomarkers with pre-radiographically defined and radiographically defined knee osteoarthritis in a population-based study.  
*Arthritis Rheum* **60**, 1372-1380

CLARK, J. M. (1985):

The organization of collagen in cryofractured rabbit articular cartilage: a scanning electron microscopic study.

*J Orthop Res* **3**, 17-29

CLEMENTS, D. (2006):

Arthrocentesis and synovial fluid analysis in dogs and cats.

*In Pract* **28**, 256-262

CLEMENTS, K. M., BEE, Z. C., CROSSINGHAM, G. V., ADAMS, M. A. & SHARIF, M. (2001):

How severe must repetitive loading be to kill chondrocytes in articular cartilage?

*Osteoarthritis Cartilage* **9**, 499-507

CONROZIER, T., CARLIER, M. C., MATHIEU, P., COLSON, F., DEBARD, A. L., RICHARD, S., FAVRET, H., BIENVENU, J. & VIGNON, E. (2000):

Serum levels of YKL-40 and C reactive protein in patients with hip osteoarthritis and healthy subjects: a cross sectional study.

*Ann Rheum Dis* **59**, 828-831

COOK, C. R. & COOK, J. L. (2009):

Diagnostic imaging of canine elbow dysplasia: a review.

*Vet Surg* **38**, 144-153

COOPMAN, F., VERHOEVEN, G., SAUNDERS, J., DUCHATEAU, L. & VAN BREE, H. (2008):

Prevalence of hip dysplasia, elbow dysplasia and humeral head osteochondrosis in dog breeds in Belgium.

*Vet Rec* **163**, 654-658

CORRADO, E., RIZZO, M., COPPOLA, G., FATTOUCH, K., NOVO, G., MARTURANA, I., FERRARA, F. & NOVO, S. (2010):

An update on the role of markers of inflammation in atherosclerosis.

*J Atheroscler Thromb* **17**, 1-11

CYLWIK, B., CHROSTEK, L., GINDZIENSKA-SIESKIEWICZ, E., SIERAKOWSKI, S. & SZMITKOWSKI, M. (2010):

Relationship between serum acute-phase proteins and high disease activity in patients with rheumatoid arthritis.

*Adv Med Sci* **55**, 80-85

D'ANJOU, M. A., MOREAU, M., TRONCY, E., MARTEL-PELLETIER, J., ABRAM, F., RAYNAULD, J. P. & PELLETIER, J. P. (2008):

Osteophytosis, subchondral bone sclerosis, joint effusion and soft tissue thickening in canine experimental stifle osteoarthritis: comparison between 1.5 T magnetic resonance imaging and computed radiography.

*Vet Surg* **37**, 166-177

D'LIMA, D. D., HASHIMOTO, S., CHEN, P. C., COLWELL, C. W., JR. & LOTZ, M. K. (2001):

Human chondrocyte apoptosis in response to mechanical injury.

*Osteoarthritis Cartilage* **9**, 712-719

DABROWSKI, R., KOSTRO, K., LISIECKA, U., SZCZUBIAL, M. & KRAKOWSKI, L. (2009):

Usefulness of C-reactive protein, serum amyloid A component, and haptoglobin determinations in bitches with pyometra for monitoring early post-ovariohysterectomy complications.

*Theriogenology* **72**, 471-476

- DAEMS, R., JANSSENS, L. A. & BEOSIER, Y. M. (2009):  
Grossly apparent cartilage erosion of the patellar articular surface in dogs with congenital medial patellar luxation.  
*Vet Comp Orthop Traumatol* **22**, 222-224
- DAHL, L. B., DAHL, I. M., ENGSTROM-LAURENT, A. & GRANATH, K. (1985):  
Concentration and molecular weight of sodium hyaluronate in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and other arthropathies.  
*Ann Rheum Dis* **44**, 817-822
- DAHLBERG, L., BILLINGHURST, R. C., MANNER, P., NELSON, F., WEBB, G., IONESCU, M., REINER, A., TANZER, M., ZUKOR, D., CHEN, J., VAN WART, H. E. & POOLE, A. R. (2000):  
Selective enhancement of collagenase-mediated cleavage of resident type II collagen in cultured osteoarthritic cartilage and arrest with a synthetic inhibitor that spares collagenase 1 (matrix metalloproteinase 1).  
*Arthritis Rheum* **43**, 673-682
- DAUBS, B. M., MARKEL, M. D. & MANLEY, P. A. (2006):  
Histomorphometric analysis of articular cartilage, zone of calcified cartilage, and subchondral bone plate in femoral heads from clinically normal dogs and dogs with moderate or severe osteoarthritis.  
*Am J Vet Res* **67**, 1719-1724
- DAUGHERTY, A., DUNN, J. L., RATERI, D. L. & HEINECKE, J. W. (1994):  
Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions.  
*J Clin Invest* **94**, 437-444
- DAUMER, K. M., KHAN, A. U. & STEINBECK, M. J. (2000):  
Chlorination of pyridinium compounds. Possible role of hypochlorite, N-chloramines, and chlorine in the oxidation of pyridinoline cross-links of articular cartilage collagen type II during acute inflammation.  
*J Biol Chem* **275**, 34681-34692
- DAVIDSON, E. B., GRIFFEY, S. M., VASSEUR, P. B. & SHIELDS, S. L. (2000):  
Histopathological, radiographic and arthrographic comparison of the biceps tendon in normal dogs and dogs with biceps tenosynovitis.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **36**, 522-530
- DAVIES, J. M., HORWITZ, D. A. & DAVIES, K. J. (1993):  
Potential roles of hypochlorous acid and N-chloroamines in collagen breakdown by phagocytic cells in synovitis.  
*Free Radic Biol Med* **15**, 637-643
- DE GRUTTOLA, V. G., CLAX, P., DEMETS, D. L., DOWNING, G. J., ELLENBERG, S. S., FRIEDMAN, L., GAIL, M. H., PRENTICE, R., WITTES, J. & ZEGER, S. L. (2001):  
Considerations in the evaluation of surrogate endpoints in clinical trials. Summary of a National Institutes of Health workshop.  
*Control Clin Trials* **22**, 485-502
- DE RYCKE, L. M., GIELEN, I. M., VAN BREE, H. & SIMOENS, P. J. (2002):  
Computed tomography of the elbow joint in clinically normal dogs.  
*Am J Vet Res* **63**, 1400-1407

- DEBERG, M., DUBUC, J. E., LABASSE, A., SANCHEZ, C., QUETTIER, E., BOSSELOIR, A., CRIELAARD, J. M. & HENROTIN, Y. (2008):  
One-year follow-up of Coll2-1, Coll2-1NO2 and myeloperoxidase serum levels in osteoarthritis patients after hip or knee replacement.  
*Ann Rheum Dis* **67**, 168-174
- DEDRICK, D. K., GOLDSTEIN, S. A., BRANDT, K. D., O'CONNOR, B. L., GOULET, R. W. & ALBRECHT, M. (1993):  
A longitudinal study of subchondral plate and trabecular bone in cruciate-deficient dogs with osteoarthritis followed up for 54 months.  
*Arthritis Rheum* **36**, 1460-1467
- DEL CARLO, M., JR. & LOESER, R. F. (2002):  
Nitric oxide-mediated chondrocyte cell death requires the generation of additional reactive oxygen species.  
*Arthritis Rheum* **46**, 394-403
- DELPUECH, P., DESCH, G., MAGNAN, F., ARLAUD, J. & LAM-MY, S. (1989):  
La proteine C-reactive dans les affections inflammatoire articulaires: comparaison des dosages sanguin et synovial.  
*Clin Biochem* **22**, 305-308
- DENNY, H. R. & GIBBS, C. (1980):  
Osteochondritis dissecans of the canine stifle joint.  
*J Small Anim Pract* **21**, 317-322
- DEQUEKER, J., MOKASSA, L., AERSSSENS, J. & BOONEN, S. (1997):  
Bone density and local growth factors in generalized osteoarthritis.  
*Microsc Res Tech* **37**, 358-371
- DEVITT, C. M., NEELY, M. R. & VANVECHTEN, B. J. (2007):  
Relationship of physical examination test of shoulder instability to arthroscopic findings in dogs.  
*Vet Surg* **36**, 661-668
- DIAB, M., WU, J. J. & EYRE, D. R. (1996):  
Collagen type IX from human cartilage: a structural profile of intermolecular cross-linking sites.  
*Biochem J* **314 (Pt 1)**, 327-332
- DIETZ, O., NAGEL, E. & LI, E. (1972):  
Zur Klinik der Ellenbogendysplasie (isolierter Processus anconaeus) des Hundes.  
*Monatsh Veterinärmed* **27**, 734-738
- DING, M., DANIELSEN, C. C. & HVID, I. (2006):  
Age-related three-dimensional microarchitectural adaptations of subchondral bone tissues in guinea pig primary osteoarthritis.  
*Calcif Tissue Int* **78**, 113-122
- DOEGE, K. J., SASAKI, M., KIMURA, T. & YAMADA, Y. (1991):  
Complete coding sequence and deduced primary structure of the human cartilage large aggregating proteoglycan, aggrecan. Human-specific repeats, and additional alternatively spliced forms.  
*J Biol Chem* **266**, 894-902

- DONOHUE, J. M., BUSS, D., OEGEMA, T. R., JR. & THOMPSON, R. C., JR. (1983):  
The effects of indirect blunt trauma on adult canine articular cartilage.  
*J Bone Joint Surg Am* **65**, 948-957
- DOOM, M., DE BRUIN, T., DE ROOSTER, H., VAN BREE, H. & COX, E. (2008):  
Immunopathological mechanisms in dogs with rupture of the cranial cruciate ligament.  
*Vet Immunol Immunopathol* **125**, 143-161
- DOVERSPIKE, M., VASSEUR, P. B., HARB, M. F. & WALLS, C. M. (1993):  
Contralateral cranial cruciate ligament rupture: incidence in 114 dogs.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **29**, 167-170
- DUNCAN, H., JUNDT, J., RIDDLE, J. M., PITCHFORD, W. & CHRISTOPHERSON, T. (1987):  
The tibial subchondral plate. A scanning electron microscopic study.  
*J Bone Joint Surg Am* **69**, 1212-1220
- DUNN, S., KOLOMYTKIN, O. V. & MARINO, A. A. (2009):  
Pathophysiology of osteoarthritis: evidence against the viscoelastic theory.  
*Pathobiology* **76**, 322-328
- DUVAL, J. M., BUDSBERG, S. C., FLO, G. L. & SAMMARCO, J. L. (1999):  
Breed, sex, and body weight as risk factors for rupture of the cranial cruciate ligament in young dogs.  
*J Am Vet Med Assoc* **215**, 811-814
- ECHIGO, R., MOCHIZUKI, M., NISHIMURA, R. & SASAKI, N. (2006):  
Suppressive effect of hyaluronan on chondrocyte apoptosis in experimentally induced acute osteoarthritis in dogs.  
*J Vet Med Sci* **68**, 899-902
- ECKERSALL, P. D., CONNER, J. G. & HARVIE, J. (1991):  
An immunoturbidimetric assay for canine C-reactive protein.  
*Vet Res Commun* **15**, 17-24
- ECKERSALL, P. D., CONNER, J. G. & PARTON, H. (1989):  
An enzyme-linked immunosorbent assay for canine C-reactive protein.  
*Vet Rec* **124**, 490-491
- ECKSTEIN, F., ENGLMEIER, K.-H. & REISER, M. (2002):  
Quantitative Knorpelanalyse mit der Magnetresonanztomographie (qMRI) –Neue Ära der Arthrodiagnostik?  
*Z Rheumatol* **61**, 250-259
- ELKINS, A. D., PECHMAN, R., KEARNEY, M. T. & HERRON, M. (1991):  
A retrospective study evaluating the degree of degenerative joint disease in the stifle joint of dogs following surgical repair of anterior cruciate ligament rupture.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **27**, 533-540
- ELLISON, R. S. (1988):  
The cytologic examination of synovial fluid.  
*Semin Vet Med Surg (Small Anim)* **3**, 133-139
- ELSAID, K. A., JAY, G. D., WARMAN, M. L., RHEE, D. K. & CHICHESTER, C. O. (2005):  
Association of articular cartilage degradation and loss of boundary-lubricating ability of synovial fluid following injury and inflammatory arthritis.  
*Arthritis Rheum* **52**, 1746-1755

- ENGSTRÖM-LAURENT, A. (1989):  
Changes in hyaluronan concentration in tissues and body fluids in disease states.  
*Ciba Foundation Symposium* **143**, 233-240
- ERNE, J. B., GORING, R. L., KENNEDY, F. A. & SCHOENBORN, W. C. (2009):  
Prevalence of lymphoplasmacytic synovitis in dogs with naturally occurring cranial cruciate ligament rupture.  
*J Am Vet Med Assoc* **235**, 386-390
- ETTRICH, U., FENGLER, H., DREßLER, F. & SCHULZE, K. J. (1998):  
Überblick über den aktuellen Stand der meßbaren Parameter des Knorpelstoffwechsels in verschiedenen Körperflüssigkeiten.  
*Z Rheumatol* **57**, 375-391
- EVERTS, R. E., HAZEWINKEL, H. A., ROTHUIZEN, J. & VAN OOST, B. A. (2000):  
Bone disorders in the dog: a review of modern genetic strategies to find the underlying causes.  
*Vet Q* **22**, 63-70
- EYRE, D. (2002):  
Collagen of articular cartilage.  
*Arthritis Res* **4**, 30-35
- EYRE, D. R., MCDEVITT, C. A., BILLINGHAM, M. E. & MUIR, H. (1980):  
Biosynthesis of collagen and other matrix proteins by articular cartilage in experimental osteoarthritis.  
*Biochem J* **188**, 823-837
- EYRE, D. R. & MUIR, H. (1975):  
The distribution of different molecular species of collagen in fibrous, elastic and hyaline cartilages of the pig.  
*Biochem J* **151**, 595-602
- EYRE, D. R., WEIS, M. A. & WU, J. J. (2006):  
Articular cartilage collagen: an irreplaceable framework?  
*Eur Cell Mater* **12**, 57-63
- FEHR, M. (2007):  
Ätiologie, Pathogenese, Diagnose und Therapie von Hunden mit einer Ruptur des kranialen Kreuzbandes.  
*Kleintierpraxis* **52**, 374-382
- FERNANDES, J. C., MARTEL-PELLETIER, J. & PELLETIER, J. P. (2002):  
The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology.  
*Biorheology* **39**, 237-246
- FERNANDES, P. J. (2008):  
Synovial fluid analysis. In: COWELL, R.L., TYLER, R.D., MEINKOTH, J.H. & DENICOLA, D.B. (Ed.), *Diagnostic cytology and hematology of the dog and the cat* 3rd ed., Mosby Elsevier, Missouri, USA, 193-210
- FERNANDEZ, F. R., GRINDEM, C. B., LIPOWITZ, A. J. & PERMAN, V. (1983):  
Synovial fluid analysis: Preparation of smears for cytologic examination of canine synovial fluid.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **19**, 727-734

- FIETZ, S., BONDZIO, A., MOSCHOS, A., HERTSCH, B. & EINSPANIER, R. (2008):  
Measurement of equine myeloperoxidase (MPO) activity in synovial fluid by a modified MPO assay and evaluation of joint diseases - an initial case study.  
*Res Vet Sci* **84**, 347-353
- FILKOVA, M., SENOLT, L., BRAUN, M., HULEJOVA, H., PAVELKOVA, A., SLEGLOVA, O., KUPKA, K., GATTEROVA, J. & PAVELKA, K. (2009):  
Serum hyaluronic acid as a potential marker with a predictive value for further radiographic progression of hand osteoarthritis.  
*Osteoarthritis Cartilage* **17**, 1615-1619
- FITZPATRICK, N., SMITH, T. J., EVANS, R. B. & YEADON, R. (2009):  
Radiographic and arthroscopic findings in the elbow joints of 263 dogs with medial coronoid disease.  
*Vet Surg* **38**, 213-223
- FORRESTER, J. V. & WILKINSON, P. C. (1981):  
Inhibition of leukocyte locomotion by hyaluronic acid.  
*J Cell Sci* **48**, 315-331
- FOSSUM, T. W. (2007):  
Orthopädie: Gelenkerkrankungen. In: FOSSUM, T.W. (Ed.), *Chirurgie der Kleintiere*  
1. Aufl., München: Elsevier, 1123-1268
- FOX, D. B. & COOK, J. L. (2001):  
Synovial fluid markers of osteoarthritis in dogs.  
*J Am Vet Med Assoc* **219**, 756-761
- FOX, S. M., BLOOMBERG, M. S. & BRIGHT, R. M. (1983):  
Developmental anomalies of the canine elbow.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **19**, 605-615
- FOX, S. M. & WALKER, A. M. (1993a):  
OCD of the humeral head: its diagnosis and treatment.  
*Vet Med* **2**, 123-131
- FOX, S. M. & WALKER, A. M. (1993b):  
The etiopathogenesis of osteochondrosis.  
*Vet Med* **2**, 116-122
- FRANSSON, B. A., KARLSTAM, E., BERGSTROM, A., LAGERSTEDT, A. S., PARK, J. S., EVANS, M. A. & RAGLE, C. A. (2004):  
C-reactive protein in the differentiation of pyometra from cystic endometrial hyperplasia/mucometra in dogs.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **40**, 391-399
- FRASER, A., FEARON, U., BILLINGHURST, R. C., IONESCU, M., REECE, R., BARWICK, T., EMERY, P., POOLE, A. R. & VEALE, D. J. (2003):  
Turnover of type II collagen and aggrecan in cartilage matrix at the onset of inflammatory arthritis in humans: relationship to mediators of systemic and local inflammation.  
*Arthritis Rheum* **48**, 3085-3095
- FRASER, J. R., LAURENT, T. C. & LAURENT, U. B. (1997):  
Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover.  
*J Intern Med* **242**, 27-33

FRITZ, R. M. (1989):

Zur Luxatio patellae des Hundes - klinisches und röntgenologisches Spätergebnis nach Transposition der Tuberositas tibiae und/oder Vertiefung der Trochlea ossis femoris  
*München, LMU, Diss., 1989, 121*

FUJIKI, M., SHINEHA, J., YAMANOKUCHI, K., MISUMI, K. & SAKAMOTO, H. (2007):

Effects of treatment with polysulfated glycosaminoglycan on serum cartilage oligomeric matrix protein and C-reactive protein concentrations, serum matrix metalloproteinase-2 and -9 activities, and lameness in dogs with osteoarthritis.  
*Am J Vet Res* **68**, 827-833

FUJITA, Y., HARA, Y., NEZU, Y., SCHULZ, K. S. & TAGAWA, M. (2006):

Proinflammatory cytokine activities, matrix metalloproteinase-3 activity, and sulfated glycosaminoglycan content in synovial fluid of dogs with naturally acquired cranial cruciate ligament rupture.  
*Vet Surg* **35**, 369-376

GALLOWAY, R. H. & LESTER, S. J. (1995):

Histopathological evaluation of canine stifle joint synovial membrane collected at the time of repair of cranial cruciate ligament rupture.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **31**, 289-294

GANNON, J. M., WALKER, G., FISCHER, M., CARPENTER, R., THOMPSON, R. C., JR. & OEGEMA, T. R., JR. (1991):

Localization of type X collagen in canine growth plate and adult canine articular cartilage.  
*J Orthop Res* **9**, 485-494

GARDNER, D. L. (1994):

Problems and paradigms in joint pathology.  
*J Anat* **184 (Pt 3)**, 465-476

GARNERO, P. & DELMAS, P. D. (2003):

Biomarkers in osteoarthritis.  
*Curr Opin Rheumatol* **15**, 641-646

GARNERO, P., PIPERNO, M., GINEYTS, E., CHRISTGAU, S., DELMAS, P. D. & VIGNON, E. (2001):  
Cross sectional evaluation of biochemical markers of bone, cartilage, and synovial tissue metabolism in patients with knee osteoarthritis: relations with disease activity and joint damage.  
*Ann Rheum Dis* **60**, 619-626

GARNERO, P., ROUSSEAU, J. C. & DELMAS, P. D. (2000):

Molecular basis and clinical use of biochemical markers of bone, cartilage, and synovium in joint diseases.  
*Arthritis Rheum* **43**, 953-968

GARVICAN, E. R., VAUGHAN-THOMAS, A., INNES, J. F. & CLEGG, P. D. (2010):

Biomarkers of cartilage turnover. Part 1: Markers of collagen degradation and synthesis.  
*Vet J* **185**, 36-42

GEBHARDT, C., HIRSCHBERGER, J., RAU, S., ARNDT, G., KRAINER, K., SCHWEIGERT, F., BRUNNBERG, L., KASPERS, B. & KOHN, B. (2009):

Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis.  
*J Vet Emerg Crit Care* **19**, 450-458

- GEMMILL, T. J. & CLEMENTS, D. N. (2007):  
Fragmented coronoid process in the dog: is there a role for incongruency?  
*J Small Anim Pract* **48**, 361-368
- GEMMILL, T. J., MELLOR, D. J., CLEMENTS, D. N., CLARKE, S. P., FARRELL, M., BENNETT, D. & CARMICHAEL, S. (2005):  
Evaluation of elbow incongruency using reconstructed CT in dogs suffering fragmented coronoid process.  
*J Small Anim Pract* **46**, 327-333
- GIBBONS, S. E., MACIAS, C., TONZING, M. A., PINCHBECK, G. L. & MCKEE, W. M. (2006):  
Patellar luxation in 70 large breed dogs.  
*J Small Anim Pract* **47**, 3-9
- GILLEY, R. S., WALLACE, L. J. & HAYDEN, D. W. (2002):  
Clinical and pathologic analyses of bicipital tenosynovitis in dogs.  
*Am J Vet Res* **63**, 402-407
- GITTERLE, E. (1991):  
Die Patellaluxation beim Hund - Klinik und adäquate Therapie.  
*Kleintierpraxis* **36**, 232-244
- GOLDBERG, R. L., HUFF, J. P., LENZ, M. E., GLICKMAN, P., KATZ, R. & THONAR, E. J. (1991):  
Elevated plasma levels of hyaluronate in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis.  
*Arthritis Rheum* **34**, 799-807
- GOLDHAMMER, M. A., SMITH, S. H., FITZPATRICK, N. & CLEMENTS, D. N. (2010):  
A comparison of radiographic, arthroscopic and histological measures of articular pathology in the canine elbow joint.  
*Vet J* **186**, 96-103
- GOMIS, A., MIRALLES, A., SCHMIDT, R. F. & BELMONTE, C. (2007):  
Nociceptive nerve activity in an experimental model of knee joint osteoarthritis of the guinea pig: effect of intra-articular hyaluronan application.  
*Pain* **130**, 126-136
- GORANOV, N. V. (2007):  
Serum markers of lipid peroxidation, antioxidant enzymatic defense, and collagen degradation in an experimental (Pond-Nuki) canine model of osteoarthritis.  
*Vet Clin Pathol* **36**, 192-195
- GORDON, W. J., CONZEMIUS, M. G., RIEDESEL, E., BESANCON, M. F., EVANS, R., WILKE, V. & RITTER, M. J. (2003):  
The relationship between limb function and radiographic osteoarthrosis in dogs with stifle osteoarthrosis.  
*Vet Surg* **32**, 451-454
- GOTOH, S., ONAYA, J., ABE, M., MIYAZAKI, K., HAMAI, A., HORIE, K. & TOKUYASU, K. (1993):  
Effects of the molecular weight of hyaluronic acid and its action mechanisms on experimental joint pain in rats.  
*Ann Rheum Dis* **52**, 817-822

GRAY, E., THOMAS, T. L., BETMOUNI, S., SCOLDING, N. & LOVE, S. (2008):  
Elevated myeloperoxidase activity in white matter in multiple sclerosis.  
*Neurosci Lett* **444**, 195-198

GREEN, S. P., BAKER, M. S. & LOWTHER, D. A. (1990):  
Depolymerization of synovial fluid hyaluronic acid (HA) by the complete myeloperoxidase  
(MPO) system may involve the formation of a HA-MPO ionic complex.  
*J Rheumatol* **17**, 1670-1675

GREISEN, H. A., SUMMERS, B. A. & LUST, G. (1982):  
Ultrastructure of the articular cartilage and synovium in the early stages of degenerative joint  
disease in canine hip joints.  
*Am J Vet Res* **43**, 1963-1971

GRIEBSCH, C., ARNDT, G., RAILA, J., SCHWEIGERT, F. & KOHN, B. (2009):  
C-reactive protein concentration in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia.  
*Vet Clin Pathol* **38**, 421-425

GRIFFITHS, R. C. (1968):  
Osteochondritis dissecans of the canine shoulder.  
*J Am Vet Med Assoc* **153**, 1733-1735

GRONDALEN, J. (1979a):  
Arthrosis in the elbow joint of young rapidly growing dogs. III. Ununited medical coronoid  
process of the ulna and osteochondritis dissecans of the humeral condyle. Surgical  
procedure for correction and postoperative investigation.  
*Nord Vet Med* **31**, 520-527

GRONDALEN, J. (1979b):  
Arthrosis with special reference to the elbow joint of young rapidly growing dogs. I. A review  
of the literature.  
*Nord Vet Med* **31**, 62-68

GRONDALEN, J. (1979c):  
Arthrosis with special reference to the elbow joint of young rapidly growing dogs. II.  
Occurrence, clinical and radiographical findings.  
*Nord Vet Med* **31**, 69-75

GRONDALEN, J. & GRONDALEN, T. (1981):  
Arthrosis in the elbow joint of young rapidly growing dogs. V. A pathoanatomical  
investigation.  
*Nord Vet Med* **33**, 1-16

GUTHRIE, S. (1989):  
Some radiographic and clinical aspects of ununited anconeal process.  
*Vet Rec* **124**, 661-662

GUTHRIE, S. & PIDDUCK, H. G. (1990):  
Heritability of elbow osteochondrosis within a closed population of dogs.  
*J Small Anim Pract* **31**, 93-96

- GUTHRIE, S., PLUMMER, J. M. & VAUGHAN, L. C. (1992):  
Aetiopathogenesis of canine elbow osteochondrosis: a study of loose fragments removed at arthrotomy.  
*Res Vet Sci* **52**, 284-291
- HAGG, R., BRUCKNER, P. & HEDBOM, E. (1998):  
Cartilage fibrils of mammals are biochemically heterogeneous: differential distribution of decorin and collagen IX.  
*J Cell Biol* **142**, 285-294
- HAN, S., CHEON, H., CHO, H., KIM, J., KANG, J. H., YANG, M. P., LEE, Y., LEE, H. & CHANG, D. (2008):  
Evaluation of partial cranial cruciate ligament rupture with positive contrast computed tomographic arthrography in dogs.  
*J Vet Sci* **9**, 395-400
- HANSON, P. D., BROOKS, K. C., CASE, J., CONZEMIUS, M., GORDON, W., SCHUESSLER, J., SHELLEY, B., SIFFERMAN, R., DRAG, M., ALVA, R., BELL, L., ROMANO, D. & FLEISHMAN, C. (2006):  
Efficacy and safety of firocoxib in the management of canine osteoarthritis under field conditions.  
*Vet Ther* **7**, 127-140
- HARARI, J. (1998):  
Osteochondrosis of the femur.  
*Vet Clin North Am Small Anim Pract* **28**, 87-94
- HARASEN, G. (2003):  
Canine cranial cruciate ligament rupture in profile.  
*Can Vet J* **44**, 845-846
- HARDINGHAM, T. E. & FOSANG, A. J. (1992):  
Proteoglycans: many forms and many functions.  
*FASEB J* **6**, 861-870
- HARDINGHAM, T. E. & MUIR, H. (1972):  
The specific interaction of hyaluronic acid with cartilage proteoglycans.  
*Biochim Biophys Acta* **279**, 401-405
- HASCALL, V. C. & HEINEGARD, D. (1974):  
Aggregation of cartilage proteoglycans. I. The role of hyaluronic acid.  
*J Biol Chem* **249**, 4232-4241
- HAWKINS, C. L. & DAVIES, M. J. (1998):  
Degradation of hyaluronic acid, poly- and monosaccharides, and model compounds by hypochlorite: evidence for radical intermediates and fragmentation.  
*Free Radic Biol Med* **24**, 1396-1410
- HAYAMI, T., PICKARSKI, M., WESOLOWSKI, G. A., MCLANE, J., BONE, A., DESTEFANO, J., RODAN, G. A. & DUONG LE, T. (2004):  
The role of subchondral bone remodeling in osteoarthritis: reduction of cartilage degeneration and prevention of osteophyte formation by alendronate in the rat anterior cruciate ligament transection model.  
*Arthritis Rheum* **50**, 1193-1206

- HAYAMI, T., PICKARSKI, M., ZHUO, Y., WESOLOWSKI, G. A., RODAN, G. A. & DUONG LE, T. (2006):  
Characterization of articular cartilage and subchondral bone changes in the rat anterior cruciate ligament transection and meniscectomized models of osteoarthritis.  
*Bone* **38**, 234-243
- HAYASHI, K., FRANK, J. D., DUBINSKY, C., ZHENGLING, H., MARKEL, M. D., MANLEY, P. A. & MUIR, P. (2003):  
Histologic changes in ruptured canine cranial cruciate ligament.  
*Vet Surg* **32**, 269-277
- HAYASHI, K., KIM, S. Y., LANSDOWNE, J. L., KAPATKIN, A. & DEJARDIN, L. M. (2009):  
Evaluation of a collagenase generated osteoarthritis biomarker in naturally occurring canine cruciate disease.  
*Vet Surg* **38**, 117-121
- HAYES, A. G., BOUDRIEU, R. J. & HUNGERFORD, L. L. (1994):  
Frequency and distribution of medial and lateral patellar luxation in dogs: 124 cases (1982-1992).  
*J Am Vet Med Assoc* **205**, 716-720
- HAYES, D. W., JR., BROWER, R. L. & JOHN, K. J. (2001):  
Articular cartilage. Anatomy, injury, and repair.  
*Clin Podiatr Med Surg* **18**, 35-53
- HAZEWINKEL, H. A., MEIJ, B. P. & THEYSE, L. F. (1998):  
Surgical treatment of elbow dysplasia.  
*Vet Q* **20 Suppl 1**, 29-31
- HAZEWINKEL, H. A., VAN DEN BROM, W. E., THEYSE, L. F., POLLMEIER, M. & HANSON, P. D. (2008):  
Comparison of the effects of firocoxib, carprofen and vedaprofen in a sodium urate crystal induced synovitis model of arthritis in dogs.  
*Res Vet Sci* **84**, 74-79
- HAZEWINKEL, H. A. W. (2008):  
Elbow dysplasia; definitions and clinical diagnosis.  
*In: Proceedings 23rd Annual Meeting of the International Elbow Working Group, University College Dublin, Ireland, August 20th, 8-12*
- HEDIN, P. J., WEITTOFT, T., HEDIN, H., ENGSTROM-LAURENT, A. & SAXNE, T. (1991):  
Serum concentrations of hyaluronan and proteoglycan in joint disease. Lack of association.  
*J Rheumatol* **18**, 1601-1605
- HEFFRON, L. E. & CAMPBELL, J. R. (1979):  
Osteophyte formation in the canine stifle joint following treatment for rupture of the cranial cruciate ligament.  
*J Small Anim Pract* **20**, 603-611
- HEINE, A., HAMANN, H., TELLHELM, B. & DISTL, O. (2009):  
Schätzung von populationsgenetischen Parametern und Zuchtwerten für Ellenbogengelenksdysplasie beim Rottweiler.  
*Berl Münch Tierärztl Wochenschr* **122**, 100-107

- HELLSTRÖM, L. E., CARLSSON, C., BOUCHER, J. F. & MICHANEK, P. (2003):  
Intra-articular injections with high molecular weight sodium hyaluronate as a therapy for canine arthritis.  
*Vet Rec* **153**, 89-90
- HENDERSON, E. B., GROOTVELD, M., FARRELL, A., SMITH, E. C., THOMPSON, P. W. & BLAKE, D. R. (1991):  
A pathological role for damaged hyaluronan in synovitis.  
*Ann Rheum Dis* **50**, 196-200
- HENROTIN, Y. E., BRUCKNER, P. & PUJOL, J. P. L. (2003):  
The role of reactive oxygen species in homeostasis and degradation of cartilage.  
*Osteoarthritis Cartilage* **11**, 747-755
- HERRON, M. R. (1971):  
Ununited anconeal process in the dog.  
*Vet Clin North Am* **1**, 417-428
- HILL, J. R. (1978):  
Histology of joints.  
*Vet Clin North Am Small Anim Pract* **8**, 389-399
- HJERTQUIST, S. O. & WASTESON, A. (1972):  
The molecular weight of chondroitin sulphate from human articular cartilage. Effect of age and of osteoarthritis.  
*Calcif Tissue Res* **10**, 31-37
- HOLLANDER, A. P., HEATHFIELD, T. F., WEBBER, C., IWATA, Y., BOURNE, R., RORABECK, C. & POOLE, A. R. (1994):  
Increased damage to type II collagen in osteoarthritic articular cartilage detected by a new immunoassay.  
*J Clin Invest* **93**, 1722-1732
- HOLLANDER, A. P., PIDOUX, I., REINER, A., RORABECK, C., BOURNE, R. & POOLE, A. R. (1995):  
Damage to type II collagen in aging and osteoarthritis starts at the articular surface, originates around chondrocytes, and extends into the cartilage with progressive degeneration.  
*J Clin Invest* **96**, 2859-2869
- HOLM, J. L., ROZANSKI, E. A., FREEMAN, L. M. & WEBSTER, C. R. L. (2004):  
C-reactive protein concentrations in canine acute pancreatitis.  
*J Vet Emerg Crit Care* **14**, 183-186
- HORST, C. (2000):  
Osteochondrosis dissecans beim Hund. Diagnose, Therapie und Prognose. Eine retrospektive Untersuchung der Patienten der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin in den Jahren 1993 bis 1998.  
*Berlin, Freie Univ., Diss., 2000*, 230
- HOY, A., LEININGER-MULLER, B., KUTTER, D., SIEST, G. & VISVIKIS, S. (2002):  
Growing significance of myeloperoxidase in non-infectious diseases.  
*Clin Chem Lab Med* **40**, 2-8
- HUEBNER, J. L. & KRAUS, V. B. (2006):  
Assessment of the utility of biomarkers of osteoarthritis in the guinea pig.  
*Osteoarthritis Cartilage* **14**, 923-930

HULTH, A., LINDBERG, L. & TELHAG, H. (1972):  
Mitosis in human osteoarthritic cartilage.  
*Clin Orthop Relat Res* **84**, 197-199

HUNTER, D. J., LI, J., LAVALLEY, M., BAUER, D. C., NEVITT, M., DEGROOT, J., POOLE, R., EYRE, D., GUERMAZI, A., GALE, D. & FELSON, D. T. (2007):  
Cartilage markers and their association with cartilage loss on magnetic resonance imaging in knee osteoarthritis: the Boston Osteoarthritis Knee Study.  
*Arthritis Res Ther* **9**, R108

HURTER, K., SPRENG, D., RYTZ, U., SCHAWALDER, P., OTT-KNUSEL, F. & SCHMOKEL, H. (2005):  
Measurements of C-reactive protein in serum and lactate dehydrogenase in serum and synovial fluid of patients with osteoarthritis.  
*Vet J* **169**, 281-285

IMHOF, H., BREITENSEHER, M., KAINBERGER, F., RAND, T. & TRATTNIG, S. (1999):  
Importance of subchondral bone to articular cartilage in health and disease.  
*Top Magn Reson Imaging* **10**, 180-192

IMHOF, H., SULZBACHER, I., GRAMPP, S., CZERNY, C., YOUSSEFZADEH, S. & KAINBERGER, F. (2000):  
Subchondral bone and cartilage disease: a rediscovered functional unit.  
*Invest Radiol* **35**, 581-588

INAUEN, R., KOCH, D., BASS, M. & HAESSIG, M. (2009):  
Tibial tuberosity conformation as a risk factor for cranial cruciate ligament rupture in the dog.  
*Vet Comp Orthop Traumatol* **22**, 16-20

INNES, J. F., COSTELLO, M., BARR, F. J., RUDORF, H. & BARR, A. R. (2004):  
Radiographic progression of osteoarthritis of the canine stifle joint: a prospective study.  
*Vet Radiol Ultrasound* **45**, 143-148

IWANAGA, T., SHIKICHI, M., KITAMURA, H., YANASE, H. & NOZAWA-INOUE, K. (2000):  
Morphology and functional roles of synoviocytes in the joint.  
*Arch Histol Cytol* **63**, 17-31

JANUTTA, V. & DISTL, O. (2008):  
Review on canine elbow dysplasia: pathogenesis, diagnosis, prevalence and genetic aspects.  
*Dtsch Tierärztl Wochenschr* **115**, 172-181

JANUTTA, V., HAMANN, H., KLEIN, S., TELLHELM, B. & DISTL, O. (2006):  
Genetic analysis of three different classification protocols for the evaluation of elbow dysplasia in German shepherd dogs.  
*J Small Anim Pract* **47**, 75-82

JAY, G. D., TANTRAVAHU, U., BRITT, D. E., BARRACH, H. J. & CHA, C. J. (2001):  
Homology of lubricin and superficial zone protein (SZP): products of megakaryocyte stimulating factor (MSF) gene expression by human synovial fibroblasts and articular chondrocytes localized to chromosome 1q25.  
*J Orthop Res* **19**, 677-687

JEFFREY, J. E., THOMSON, L. A. & ASPDEN, R. M. (1997):  
Matrix loss and synthesis following a single impact load on articular cartilage in vitro.

*Biochim Biophys Acta* **1334**, 223-232

JOHNSON, J. M. & JOHNSON, A. L. (1993):  
Cranial cruciate ligament rupture. Pathogenesis, diagnosis, and postoperative rehabilitation.  
*Vet Clin North Am Small Anim Pract* **23**, 717-733

JOHNSTON, S. A. (1997):  
Osteoarthritis. Joint anatomy, physiology, and pathobiology.  
*Vet Clin North Am Small Anim Pract* **27**, 699-723

JON, A. J. (1999):  
Musculoskeletal sonography and MR imaging: a role for both imaging methods.  
*Radiol Clin North Am* **37**, 713-735

KADLUBAR, F. F., BUTLER, M. A., KADERLIK, K. R., CHOU, H. C. & LANG, N. P. (1992):  
Polymorphisms for aromatic amine metabolism in humans: relevance for human  
carcinogenesis.  
*Environ Health Perspect* **98**, 69-74

KALLENBERG, C. G. (2008):  
Pathogenesis of PR3-ANCA associated vasculitis.  
*J Autoimmun* **30**, 29-36

KATRANTZIS, M., BAKER, M. S., HANDLEY, C. J. & LOWTHER, D. A. (1991):  
The oxidant hypochlorite (OCI<sup>-</sup>), a product of the myeloperoxidase system, degrades  
articular cartilage proteoglycan aggregate.  
*Free Radic Biol Med* **10**, 101-109

KAWCAK, C. E., MCILWRAITH, C. W., NORRDIN, R. W., PARK, R. D. & JAMES, S. P. (2001):  
The role of subchondral bone in joint disease: a review.  
*Equine Vet J* **33**, 120-126

KENNETT, E. C. & DAVIES, M. J. (2009):  
Glycosaminoglycans are fragmented by hydroxyl, carbonate, and nitrogen dioxide radicals in  
a site-selective manner: implications for peroxynitrite-mediated damage at sites of  
inflammation.  
*Free Radic Biol Med* **47**, 389-400

KIJOWSKI, R., BLANKENBAKER, D., STANTON, P., FINE, J. & DE SMET, A. (2006):  
Arthroscopic validation of radiographic grading scales of osteoarthritis of the tibiofemoral  
joint.  
*Am J Roentgenol* **187**, 794-799

KIM, H. A., SUH, D. I. & SONG, Y. W. (2001):  
Relationship between chondrocyte apoptosis and matrix depletion in human articular  
cartilage.  
*J Rheumatol* **28**, 2038-2045

KINCAID, S. A. & VAN SICKLE, D. C. (1981):  
Regional histochemical and thickness variations of adult canine articular cartilage.  
*Am J Vet Res* **42**, 428-432

KING, K. B., LINDSEY, C. T., DUNN, T. C., RIES, M. D., STEINBACH, L. S. & MAJUMDAR, S.  
(2004):

A study of the relationship between molecular biomarkers of joint degeneration and the magnetic resonance-measured characteristics of cartilage in 16 symptomatic knees.

*Magn Reson Imaging* **22**, 1117-1123

KIVIRIKKO, K. I. & MYLLYLÄ, R. (1985):

Post-translational processing of procollagens.

*Ann N Y Acad Sci* **460**, 187-201

KJELGAARD-HANSEN, M., JENSEN, A. L., HOUSER, G. A., JESSEN, L. R. & KRISTENSEN, A. T. (2006):

Use of serum C-reactive protein as an early marker of inflammatory activity in canine type II immune-mediated polyarthritis: case report.

*Acta Vet Scand* **48**, 9

KJELGAARD-HANSEN, M., JENSEN, A. L. & KRISTENSEN, A. T. (2003a):

Evaluation of a commercially available human C-reactive protein (CRP) turbidometric immunoassay for determination of canine serum CRP concentration.

*Vet Clin Pathol* **32**, 81-87

KJELGAARD-HANSEN, M., KRISTENSEN, A. T. & JENSEN, A. L. (2003b):

Evaluation of a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the determination of C-reactive protein in canine serum.

*J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* **50**, 164-168

KLEBANOFF, S. J. (1970):

Myeloperoxidase: contribution to the microbicidal activity of intact leukocytes.

*Science* **169**, 1095-1097

KLEBANOFF, S. J. (1999):

Myeloperoxidase.

*Proc Assoc Am Physicians* **111**, 383-389

KLEBANOFF, S. J. (2005):

Myeloperoxidase: friend and foe.

*J Leukoc Biol* **77**, 598-625

KOJIMA, T., MWALE, F., YASUDA, T., GIRARD, C., POOLE, A. R. & LAVERTY, S. (2001):

Early degradation of type IX and type II collagen with the onset of experimental inflammatory arthritis.

*Arthritis Rheum* **44**, 120-127

KONGTAWELERT, P. & GHOSH, P. (1989):

An enzyme-linked immunosorbent-inhibition assay for quantitation of hyaluronan (hyaluronic acid) in biological fluids.

*Anal Biochem* **178**, 367-372

KOWANKO, I. C., BATES, E. J. & FERRANTE, A. (1989):

Mechanisms of human neutrophil-mediated cartilage damage in vitro: the role of lysosomal enzymes, hydrogen peroxide and hypochlorous acid.

*Immunol Cell Biol* **67 (Pt 5)**, 321-329

KRAFT, W. (2005a):

Referenzbereich, "Normalbereich", "Normbereich", "Normalwert". In: KRAFT, W. & DÜRR, U.M. (Ed.), *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*.

6. überarb. u. erw. Aufl., Schattauer, Stuttgart, New York, 1-6

- KRAFT, W. (2005b):  
Referenzbereiche. In: KRAFT, W. & DÜRR, U.M. (Ed.), *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*.  
6. überarb. u. erw. Aufl., Schattauer, Stuttgart, New York, 507-523
- KRAFT, W., DÜRR, U. M., FÜRLL, M., BOSTEDT, H. & HEINRITZI, K. (2005):  
Hämatologie. In: KRAFT, W. & DÜRR, U.M. (Ed.), *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*.  
6. überarb. u. erw. Aufl., Schattauer, Stuttgart, New York, 49-114
- KRAMER, M., GERWING, M., SHEPPARD, C. & SCHIMKE, E. (2001):  
Ultrasonography for the diagnosis of diseases of the tendon and tendon sheath of the biceps brachii muscle.  
*Vet Surg* **30**, 64-71
- KRAMER, M., SCHIMKE, E., GERWING, M. & TELLHELM, B. (1997):  
Bizepssehnenenerkrankungen beim Hund als Lahmheitsursache.  
*Prakt Tierarzt* **78**, 274-292
- KUETTNER, K. E. (1992):  
Biochemistry of articular cartilage in health and disease.  
*Clin Biochem* **25**, 155-163
- KUETTNER, K. E. & GOLDBERG, V. M. (1995):  
Introduction. In: KUETTNER, K.E. & GOLDBERG, V.M. (Ed.), *Osteoarthritic disorders*  
1st ed. American Academy of Orthopaedic Surgeons, Rosemont, Illinois, XXI-XXV
- KUMAR, P., PAI, K., PANDEY, H. P. & SUNDAR, S. (2002):  
NADH-oxidase, NADPH-oxidase and myeloperoxidase activity of visceral leishmaniasis patients.  
*J Med Microbiol* **51**, 832-836
- KUMON, Y., SUEHIRO, T., NISHIYA, K., HASHIMOTO, K., NAKATANI, K. & SIPE, J. D. (1999):  
Ferritin correlates with C-reactive protein and acute phase serum amyloid A in synovial fluid, but not in serum.  
*Amyloid* **6**, 130-135
- KUROKI, K., COOK, J. L. & KREEGER, J. M. (2002):  
Mechanisms of action and potential uses of hyaluronan in dogs with osteoarthritis.  
*J Am Vet Med Assoc* **221**, 944-950
- KURZ, B., JIN, M., PATWARI, P., CHENG, D. M., LARK, M. W. & GRODZINSKY, A. J. (2001):  
Biosynthetic response and mechanical properties of articular cartilage after injurious compression.  
*J Orthop Res* **19**, 1140-1146
- KUSHNER, I., JIANG, S. L., ZHANG, D., LOZANSKI, G. & SAMOLS, D. (1995):  
Do post-transcriptional mechanisms participate in induction of C-reactive protein and serum amyloid A by IL-6 and IL-1?  
*Ann N Y Acad Sci* **762**, 102-107
- LAFOND, E., BREUR, G. J. & AUSTIN, C. C. (2002):  
Breed susceptibility for developmental orthopedic diseases in dogs.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **38**, 467-477

- LAHM, A., KREUZ, P. C., EL-TAYEH, A., MROSEK, E., OBERST, M., HABERSTROH, J. & MERK, H. (2007):  
Loss of zonal organization of articular cartilage after experimental subchondral trauma of the knee joint.  
*Saudi Med J* **28**, 649-652
- LAHM, A., KREUZ, P. C., OBERST, M., HABERSTROH, J., UHL, M. & MAIER, D. (2006):  
Subchondral and trabecular bone remodeling in canine experimental osteoarthritis.  
*Arch Orthop Trauma Surg* **126**, 582-587
- LAI, W. M., HOU, J. S. & MOW, V. C. (1991):  
A triphasic theory for the swelling and deformation behaviors of articular cartilage.  
*J Biomech Eng* **113**, 245-258
- LAMMER, B. (2001):  
Untersuchung synovialer Parameter aus osteoarthritischen Gelenken beim Hund unter besonderer Berücksichtigung des Myeloperoxidasegehaltes.  
*Berlin, Freie Univ., Diss., 2001*, 137
- LANE, J. M. & WEISS, C. (1975):  
Review of articular cartilage collagen research.  
*Arthritis Rheum* **18**, 553-562
- LANG, J., BUSATO, A., BAUMGARTNER, D., FLUCKIGER, M. & WEBER, U. T. (1998):  
Comparison of two classification protocols in the evaluation of elbow dysplasia in the dog.  
*J Small Anim Pract* **39**, 169-174
- LARSEN, N. E., LOMBARD, K. M., PARENT, E. G. & BALAZS, E. A. (1992):  
Effect of hylan on cartilage and chondrocyte cultures.  
*J Orthop Res* **10**, 23-32
- LAU, D. & BALDUS, S. (2006):  
Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease.  
*Pharmacol Ther* **111**, 16-26
- LAWRENCE, D., BAO, S., CANFIELD, P. J., ALLANSON, M. & HUSBAND, A. J. (1998):  
Elevation of immunoglobulin deposition in the synovial membrane of dogs with cranial cruciate ligament rupture.  
*Vet Immunol Immunopathol* **65**, 89-96
- LAYTON, M. W., GOLDSTEIN, S. A., GOULET, R. W., FELDKAMP, L. A., KUBINSKI, D. J. & BOLE, G. G. (1988):  
Examination of subchondral bone architecture in experimental osteoarthritis by microscopic computed axial tomography.  
*Arthritis Rheum* **31**, 1400-1405
- LEDDY, H. A. & GUILAK, F. (2003):  
Site-specific molecular diffusion in articular cartilage measured using fluorescence recovery after photobleaching.  
*Ann Biomed Eng* **31**, 753-760
- LEIGHTON, R. L. (1981):  
Surgical treatment of osteochondritis dissecans of the canine stifle.  
*Vet Med Small Anim Clin* **76**, 1733-1736

- LENEHAN, T. M. & VAN SICKLE, D. C. (1985):  
Canine osteochondrosis. In: NEWTON, D.N. & NUNAMAKER, D.M. (Ed.), *Textbook of Small Animal Orthopaedics*  
1st ed., Philadelphia: J.B. Lipincott Company, 981-997
- LEVICK, J. R. (1995):  
Microvascular architecture and exchange in synovial joints.  
*Microcirculation* **2**, 217-233
- LEWANDOWSKA, K., CHOI, H. U., ROSENBERG, L. C., ZARDI, L. & CULP, L. A. (1987):  
Fibronectin-mediated adhesion of fibroblasts: inhibition by dermatan sulfate proteoglycan and evidence for a cryptic glycosaminoglycan-binding domain.  
*J Cell Biol* **105**, 1443-1454
- LIEBICH, H. G. (2010):  
Binde- und Stützgewebe. In: LIEBICH, H.G. (Ed.), *Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel - Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis*  
5. Aufl., Stuttgart: Schattauer, 2010, 67-96
- LISS, C., LÜSSE, S., KARGER, N., HELLER, M. & GLÜER, C. C. (2002):  
Detection of changes in cartilage water content using MRI T2-mapping in vivo.  
*Osteoarthritis Cartilage* **10**, 907-913
- LINDSEY, C. T., NARASIMHAN, A., ADOLFO, J. M., JIN, H., STEINBACH, L. S., LINK, T., RIES, M. & MAJUMDAR, S. (2004):  
Magnetic resonance evaluation of the interrelationship between articular cartilage and trabecular bone of the osteoarthritic knee.  
*Osteoarthritis Cartilage* **12**, 86-96
- LINN, F. C. & SOKOLOFF, L. (1965):  
Movement and composition of interstitial fluid of cartilage.  
*Arthritis Rheum* **8**, 481-494
- LIPOWITZ, A. J., WONG, P. L. & STEVENS, J. B. (1985):  
Synovial membrane changes after experimental transection of the cranial cruciate ligament in dogs.  
*Am J Vet Res* **46**, 1166-1170
- LJUNGGREN, G., CAWLEY, A. J. & ARCHIBALD, J. (1966):  
The elbow dysplasias in the dog.  
*J Am Vet Med Assoc* **148**, 887-891
- LJUNGGREN, G. & OLSSON, S. E. (1975):  
Osteoarthrosis of the shoulder and elbow in dogs: a pathologic and radiographic study of a necropsy material.  
*J Am Vet Radiol Soc* **16**, 33
- LOBO, S. M., LOBO, F. R., BOTA, D. P., LOPES-FERREIRA, F., SOLIMAN, H. M., MELOT, C. & VINCENT, J. L. (2003):  
C-reactive protein levels correlate with mortality and organ failure in critically ill patients.  
*Chest* **123**, 2043-2049
- LOEFFLER, K. (1964):  
Gelenkanomalien als Problem in der Hundezucht.

*Dtsch tierärztl Wochenschr* **11**, 291-297

LOWRIE, M., PENDERIS, J., ECKERSALL, P. D., MCLAUGHLIN, M., MELLOR, D. & ANDERSON, T. J. (2009):

The role of acute phase proteins in diagnosis and management of steroid-responsive meningitis arteritis in dogs.

*Vet J* **182**, 125-130

LU VALLE, P., IWAMOTO, M., FANNING, P., PACIFICI, M. & OLSEN, B. R. (1993):

Multiple negative elements in a gene that codes for an extracellular matrix protein, collagen X, restrict expression to hypertrophic chondrocytes.

*J Cell Biol* **121**, 1173-1179

LU, Y., MARKEL, M. D., SWAIN, C. & KAPLAN, L. D. (2006):

Development of partial thickness articular cartilage injury in an ovine model.

*J Orthop Res* **24**, 1974-1982

LUBBERTS, E., JOOSTEN, L. A., CHABAUD, M., VAN DEN BERSSELAAR, L., OPPERS, B., COENEN-DE ROO, C. J., RICHARDS, C. D., MIOSSEC, P. & VAN DEN BERG, W. B. (2000a):

IL-4 gene therapy for collagen arthritis suppresses synovial IL-17 and osteoprotegerin ligand and prevents bone erosion.

*J Clin Invest* **105**, 1697-1710

LUBBERTS, E., JOOSTEN, L. A., VAN DE LOO, F. A., VAN DEN BERSSELAAR, L. A. & VAN DEN BERG, W. B. (2000b):

Reduction of interleukin-17-induced inhibition of chondrocyte proteoglycan synthesis in intact murine articular cartilage by interleukin-4.

*Arthritis Rheum* **43**, 1300-1306

LÜSSE, S., CLAASSEN, H., GEHRKE, T., HASSENPFUG, J., SCHÜNKE, M., HELLER, M. & GLÜER, C. C. (2000):

Evaluation of water content by spatially resolved transverse relaxation times of human articular cartilage.

*Magn Reson Imaging* **18**, 423-430

LUST, G. & SUMMERS, B. A. (1981):

Early, asymptomatic stage of degenerative joint disease in canine hip joints.

*Am J Vet Res* **42**, 1849-1855

MACWILLIAMS, P. S. & FRIEDRICH, K. R. (2003):

Laboratory evaluation and interpretation of synovial fluid.

*Vet Clin North Am Small Anim Pract* **33**, 153-178

MÄKI, K., LIINAMO, A. E. & OJALA, M. (2000):

Estimates of genetic parameters for hip and elbow dysplasia in Finnish Rottweilers.

*J Anim Sci* **78**, 1141-1148

MALLET, W. G., MOSEBROOK, D. R. & TRUSH, M. A. (1991):

Activation of (+-)-trans-7,8-dihydroxy-7,8-dihydrobenzo[a]pyrene to diolepoxides by human polymorphonuclear leukocytes or myeloperoxidase.

*Carcinogenesis* **12**, 521-524

MANKIN, H. J. (1963):

Localization of tritiated thymidine in articular cartilage of rabbits: III. Mature articular cartilage.

*J Bone Joint Surg Am* **45**, 529-540

- MANKIN, H. J., DORFMAN, H., LIPPIELLO, L. & ZARINS, A. (1971):  
Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data.  
*J Bone Joint Surg Am* **53**, 523-537
- MANKIN, H. J. & THRASHER, A. Z. (1975):  
Water content and binding in normal and osteoarthritic human cartilage.  
*J Bone Joint Surg Am* **57**, 76-80
- MAPP, P. I. & REVELL, P. A. (1987):  
Ultrastructural localisation of muramidase in the human synovial membrane.  
*Ann Rheum Dis* **46**, 30-37
- MAROUDAS, A. (1970):  
Distribution and diffusion of solutes in articular cartilage.  
*Biophys J* **10**, 365-379
- MAROUDAS, A. I. (1976):  
Balance between swelling pressure and collagen tension in normal and degenerate cartilage.  
*Nature* **260**, 808-809
- MARTINEZ, S. A. (1997):  
Congenital conditions that lead to osteoarthritis in the dog.  
*Vet Clin North Am Small Anim Pract* **27**, 735-758
- MARTINEZ-SUBIELA, S., GINEL, P. J. & CERON, J. J. (2004):  
Effects of different glucocorticoid treatments on serum acute phase proteins in dogs.  
*Vet Rec* **154**, 814-817
- MARTINEZ-SUBIELA, S., TECLES, F., ECKERSALL, P. D. & CERON, J. J. (2002):  
Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniasis.  
*Vet Rec* **150**, 241-244
- MASON, T. A., LAVELLE, R. B., SKIPPER, S. C. & WRIGLEY, W. R. (1980):  
Osteochondrosis of the elbow joint in young dogs.  
*J Small Anim Pract* **21**, 641-656
- MATIJATKO, V., MRLJAK, V., KIS, I., KUCER, N., FORSEK, J., ZIVICNJAK, T., ROMIC, Z., SIMEC, Z. & CERON, J. J. (2007):  
Evidence of an acute phase response in dogs naturally infected with *Babesia canis*.  
*Vet Parasitol* **144**, 242-250
- MATYAS, J. R., ATLEY, L., IONESCU, M., EYRE, D. R. & POOLE, A. R. (2004):  
Analysis of cartilage biomarkers in the early phases of canine experimental osteoarthritis.  
*Arthritis and Rheumatism* **50**, 543-552
- MAYNE, R. (1989):  
Cartilage collagens. What is their function, and are they involved in articular disease?  
*Arthritis Rheum* **32**, 241-246
- MAZIERES, B., GARNERO, P., GUEGUEN, A., ABBAL, M., BERDAH, L., LEQUESNE, M., NGUYEN, M., SALLES, J. P., VIGNON, E. & DOUGADOS, M. (2006):  
Molecular markers of cartilage breakdown and synovitis at baseline as predictors of structural progression of hip osteoarthritis. The ECHODIAH Cohort.

*Ann Rheum Dis* **65**, 354-359

MAZZETTI, I., GRIGOLO, B., PULSATELLI, L., DOLZANI, P., SILVESTRI, T., ROSETI, L., MELICONI, R. & FACCHINI, A. (2001):  
Differential roles of nitric oxide and oxygen radicals in chondrocytes affected by osteoarthritis and rheumatoid arthritis.

*Clin Sci (Lond)* **101**, 593-599

MAZZUCA, S. A., POOLE, A. R., BRANDT, K. D., KATZ, B. P., LANE, K. A. & LOBANOK, T. (2006):  
Associations between joint space narrowing and molecular markers of collagen and proteoglycan turnover in patients with knee osteoarthritis.

*J Rheumatol* **33**, 1147-1151

MCCARTY, D. J., JR., PHELPS, P. & PYENSON, J. (1966):

Crystal-induced inflammation in canine joints. I. An experimental model with quantification of the host response.

*J Exp Med* **124**, 99-114

MCDEVITT, C., GILBERTSON, E. & MUIR, H. (1977):

An experimental model of osteoarthritis; early morphological and biochemical changes.

*J Bone Joint Surg Br* **59**, 24-35

MCKEE, M. & MACIAS, C. (2004):

Orthopaedic conditions of the shoulder in the dog.

*In Pract* **26**, 118-129

MCNEIL, J. D., WIEBKIN, O. W., BETTS, W. H. & CLELAND, L. G. (1985):

Depolymerisation products of hyaluronic acid after exposure to oxygen-derived free radicals.

*Ann Rheum Dis* **44**, 780-789

MEACHIM, G. & EMERY, I. H. (1974):

Quantitative aspects of patello-femoral cartilage fibrillation in Liverpool necropsies.

*Ann Rheum Dis* **33**, 39-47

MENDLER, M., EICH-BENDER, S. G., VAUGHAN, L., WINTERHALTER, K. H. & BRUCKNER, P. (1989):

Cartilage contains mixed fibrils of collagen types II, IX, and XI.

*J Cell Biol* **108**, 191-197

MEYER-LINDENBERG, A., FEHR, M. & NOLTE, I. (1991):

Der isolierte Processus anconaeus des Hundes - Vorkommen, Behandlung und Ergebnisse.

*Kleintierpraxis* **36**, 671-679

MEYER-LINDENBERG, A., LANGHANN, A., FEHR, M. & NOLTE, I. (2002):

Prevalence of fragmented medial coronoid process of the ulna in lame adult dogs.

*Vet Rec* **151**, 230-234

MEYER-LINDENBERG, A., NOLTE, I. & FEHR, M. (1999):

Der isolierte Processus anconaeus: Retro- und prospektive Untersuchungen zur operativen Behandlung.

*Tierärztl Prax* **27 (K)**, 309-320

MIGLIORE, A. & GRANATA, M. (2008):

Intra-articular use of hyaluronic acid in the treatment of osteoarthritis.

*Clin Interv Aging* **3**, 365-369

MILLER, E. J., HARRIS, E. D., JR., CHUNG, E., FINCH, J. E., JR., MCCROSKERY, P. A. & BUTLER, W. T. (1976):

Cleavage of Type II and III collagens with mammalian collagenase: site of cleavage and primary structure at the NH<sub>2</sub>-terminal portion of the smaller fragment released from both collagens.

*Biochemistry* **15**, 787-792

MILTON, J. L. (1983):

Osteochondritis dissecans in the dog.

*Vet Clin North Am Small Anim Pract* **13**, 117-134

MISCHKE, R., WATERSTON, M. & ECKERSALL, P. D. (2007):

Changes in C-reactive protein and haptoglobin in dogs with lymphatic neoplasia.

*Vet J* **174**, 188-192

MITCHELL, K. D., KRUTH, S. A., WOOD, R. D. & JEFFERSON, B. (2009):

Serum acute phase protein concentrations in dogs with autoimmune hemolytic anemia.

*J Vet Intern Med* **23**, 585-591

MITCHELL, P. G., MAGNA, H. A., REEVES, L. M., LOPRESTI-MORROW, L. L., YOCUM, S. A.,

ROSNER, P. J., GEOGHEGAN, K. F. & HAMBOR, J. E. (1996):

Cloning, expression, and type II collagenolytic activity of matrix metalloproteinase-13 from human osteoarthritic cartilage.

*J Clin Invest* **97**, 761-768

MIYAKE, K., IMURA, S., NISHIOKA, M., BATMUNKH, E., SUGIMOTO, K., OHMOTO, Y. & SHIMADA, M. (2010):

Serum evaluation of soluble interferon-alpha/beta receptor and high-sensitivity C-reactive protein for diagnosis of the patients with gastrointestinal and hepatobiliary-pancreatic cancer.

*Cytokine* **49**, 251-255

MOCATTA, T. J., PILBROW, A. P., CAMERON, V. A., SENTHILMOHAN, R., FRAMPTON, C. M.,

RICHARDS, A. M. & WINTERBOURN, C. C. (2007):

Plasma concentrations of myeloperoxidase predict mortality after myocardial infarction.

*J Am Coll Cardiol* **49**, 1993-2000

MOLD, C., RODRIGUEZ, W., RODIC-POLIC, B. & DU CLOS, T. W. (2002):

C-reactive protein mediates protection from lipopolysaccharide through interactions with Fc gamma R.

*J Immunol* **169**, 7019-7025

MOLENAAR, E. T., VOSKUYL, A. E., FAMILIAN, A., VAN MIERLO, G. J., DIJKMANS, B. A. & HACK, C. E. (2001):

Complement activation in patients with rheumatoid arthritis mediated in part by C-reactive protein.

*Arthritis Rheum* **44**, 997-1002

MONTGOMERY, R. D., HATHCOCK, J. T., MILTON, J. L. & FITCH, R. B. (1994):

Osteochondritis dissecans of the canine tarsal joint

*Compend Contin Educ Pract Vet* **16**, 835-845

MONTGOMERY, R. D., MILTON, J. L., HENDERSON, R. A. & HATHCOCK, J. T. (1989):

Osteochondritis dissecans of the canine stifle.

*Compend Contin Educ Pract Vet* **11**, 1199-1205

- MOORE, K. W. & READ, R. A. (1995):  
Cranial cruciate ligament rupture in the dog--a retrospective study comparing surgical techniques.  
*Aust Vet J* **72**, 281-285
- MOORE, K. W. & READ, R. A. (1996):  
Rupture of the cranial cruciate ligament in dogs. Part II. Diagnosis and management.  
*Comp* **18**, 381-391
- MOORES, A. P., BENIGNI, L. & LAMB, C. R. (2008):  
Computed tomography versus arthroscopy for detection of canine elbow dysplasia lesions.  
*Vet Surg* **37**, 390-398
- MORGAN, J. P., POOL, R. R. & MIYABAYASHI, T. (1987):  
Primary degenerative joint disease of the shoulder in a colony of beagles.  
*J Am Vet Med Assoc* **190**, 531-540
- MORGAN, S. J. (1997):  
Pathologic alterations in canine hip dysplasia.  
*J Am Vet Med Assoc* **210**, 1446-1450
- MORRIS, E. & LIPOWITZ, A. J. (2001):  
Comparison of tibial plateau angles in dogs with and without cranial cruciate ligament injuries.  
*J Am Vet Med Assoc* **218**, 363-366
- MOSELEY, R., WADDINGTON, R. J. & EMBERY, G. (1997):  
Degradation of glycosaminoglycans by reactive oxygen species derived from stimulated polymorphonuclear leukocytes.  
*Biochimica et Biophysica Acta* **1362**, 221-231
- MOSES, A. G., MAINGAY, J., SANGSTER, K., FEARON, K. C. & ROSS, J. A. (2009):  
Pro-inflammatory cytokine release by peripheral blood mononuclear cells from patients with advanced pancreatic cancer: relationship to acute phase response and survival.  
*Oncol Rep* **21**, 1091-1095
- MOSTAFA, A. A., GRIFFON, D. J., THOMAS, M. W. & CONSTABLE, P. D. (2009):  
Morphometric characteristics of the pelvic limbs of labrador retrievers with and without cranial cruciate ligament deficiency.  
*Am J Vet Res* **70**, 498-507
- MOW, V. C., HOLMES, M. H. & LAI, W. M. (1984):  
Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage: a review.  
*J Biomech* **17**, 377-394
- MOW, V. C., WANG, C. C. & HUNG, C. T. (1999):  
The extracellular matrix, interstitial fluid and ions as a mechanical signal transducer in articular cartilage.  
*Osteoarthritis Cartilage* **7**, 41-58
- MROSEK, E. H., LAHM, A., ERGGELET, C., UHL, M., KURZ, H., EISSNER, B. & SCHAGEMANN, J. C. (2006):  
Subchondral bone trauma causes cartilage matrix degeneration: an immunohistochemical analysis in a canine model.

**Osteoarthritis Cartilage** **14**, 171-178

MUIR, H. (1995):

The chondrocyte, architect of cartilage. Biomechanics, structure, function and molecular biology of cartilage matrix macromolecules.

*Bioessays* **17**, 1039-1048

MUIR, P. & JOHNSON, K. A. (1994):

Supraspinatus and biceps brachii tendinopathy in dogs.

*J Small Anim Pract* **35**, 239-243

MULLANE, K. M., KRAEMER, R. & SMITH, B. (1985):

Myeloperoxidase activity as a quantitative assessment of neutrophil infiltration into ischemic myocardium.

*J Pharmacol Methods* **14**, 157-167

MURATA, H., SHIMADA, N. & YOSHIOKA, M. (2004):

Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview.

*Vet J* **168**, 28-40

MURPHY, S. E., BALLEGEER, E. A., FORREST, L. J. & SCHAEFER, S. L. (2008):

Magnetic resonance imaging findings in dogs with confirmed shoulder pathology.

*Vet Surg* **37**, 631-638

NAGRA, R. M., BECHER, B., TOURTELLOTTE, W. W., ANTEL, J. P., GOLD, D., PALADINO, T., SMITH, R. A., NELSON, J. R. & REYNOLDS, W. F. (1997):

Immunohistochemical and genetic evidence of myeloperoxidase involvement in multiple sclerosis.

*J Neuroimmunol* **78**, 97-107

NAKAMURA, M., TAKAHASHI, M., OHNO, K., KOSHINO, A., NAKASHIMA, K., SETOGUCHI, A., FUJINO, Y. & TSUJIMOTO, H. (2008):

C-reactive protein concentration in dogs with various diseases.

*J Vet Med Sci* **70**, 127-131

NARAMA, I., MASUOKA-NISHIYAMA, M., MATSUURA, T., OZAKI, K., NAGATANI, M. & MORISHIMA, T. (1996):

Morphogenesis of degenerative changes predisposing dogs to rupture of the cranial cruciate ligament.

*J Vet Med Sci* **58**, 1091-1097

NECAS, A., DVORAK, M. & ZATLOUKAL, J. (1999):

Incidence of osteochondrosis in dogs and its late diagnosis.

*Acta Vet Brno* **68**, 131-139

NGANVONGPANIT, K., ITTHIARBHA, A., ONG-CHAI, S. & KONGTAWELERT, P. (2008):

Evaluation of serum chondroitin sulfate and hyaluronan: biomarkers for osteoarthritis in canine hip dysplasia.

*J Vet Sci* **9**, 317-325

NGUYEN, Q., MURPHY, G., ROUGHLEY, P. J. & MORT, J. S. (1989):

Degradation of proteoglycan aggregate by a cartilage metalloproteinase. Evidence for the involvement of stromelysin in the generation of link protein heterogeneity in situ.

*Biochem J* **259**, 61-67

- NICKEL, R., SCHUMMER, A. & SEIFERLE, E. (1992):  
Bd. 1. Bewegungsapparat: Gelenklehre. In: NICKEL, R., SCHUMMER, A. & SEIFERLE, E. (Ed.),  
*Lehrbuch der Anatomie der Haustiere*  
6., völlig neu bearb. Aufl., Parey, Berlin und Hamburg, 215-217
- NIEBAUER, G. W., WOLF, B., BASHEY, R. I. & NEWTON, C. D. (1987):  
Antibodies to canine collagen types I and II in dogs with spontaneous cruciate ligament  
rupture and osteoarthritis.  
*Arthritis Rheum* **30**, 319-327
- NIELSEN, L., TOFT, N., ECKERSALL, P. D., MELLOR, D. J. & MORRIS, J. S. (2007):  
Serum C-reactive protein concentration as an indicator of remission status in dogs with  
multicentric lymphoma.  
*J Vet Intern Med* **21**, 1231-1236
- NIEMINEN, M. T., RIEPPO, J., TOYRAS, J., HAKUMAKI, J. M., SILVENNOINEN, J., HYTTINEN, M. M.,  
HELMINEN, H. J. & JURVELIN, J. S. (2001):  
T2 relaxation reveals spatial collagen architecture in articular cartilage: a comparative  
quantitative MRI and polarized light microscopic study.  
*Magn Reson Med* **46**, 487-493
- NOZAWA-INOUE, K., TAKAGI, R., KOBAYASHI, T., OHASHI, Y. & MAEDA, T. (1998):  
Immunocytochemical demonstration of the synovial membrane in experimentally induced  
arthritis of the rat temporomandibular joint.  
*Arch Histol Cytol* **61**, 451-466
- OHNO, K., YOKOYAMA, Y., NAKASHIMA, K., SETOGUCHI, A., FUJINO, Y. & TSUJIMOTO, H. (2006):  
C-reactive protein concentration in canine idiopathic polyarthritis.  
*J Vet Med Sci* **68**, 1275-1279
- OHNO, O., NAITO, J., IGUCHI, T., ISHIKAWA, H., HIROHATA, K. & COOKE, T. D. (1988):  
An electron microscopic study of early pathology in chondromalacia of the patella.  
*J Bone Joint Surg Am* **70**, 883-899
- OLIVIERI, M., CILIBERTO, E., HULSE, D. A., VEZZONI, A., INGRAVALLE, F. & PEIRONE, B. (2007):  
Arthroscopic treatment of osteochondritis dissecans of the shoulder in 126 dogs.  
*Vet Comp Orthop Traumatol* **20**, 65-69
- OLSSON, S. E. (1983):  
The early diagnosis of fragmented coronoid process and osteochondritis dissecans of the  
canine elbow.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **19**, 616-626
- OLSZOWSKI, S., MAK, P., OLSZOWSKA, E. & MARCINKIEWICZ, J. (2003):  
Collagen type II modification by hypochlorite.  
*Acta Biochim Pol* **50**, 471-479
- ONISHI, T., INOKUMA, H., OHNO, K., SOEDA, S., NOGUCHI, K. & SASAKI, M. (2000):  
C-reactive protein concentrations in normal and diseased dogs - measured by laser  
nephelometric immunoassay.  
*J Jpn Vet Med Assoc* **53**, 595-601
- OREMEK, G. M., SAUER-EPEL, H. & BRUZDZIAK, T. H. (2007):  
Value of tumour and inflammatory markers in lung cancer.  
*Anticancer Res* **27**, 1911-1915

- OSMOND, C. S., MARCELLIN-LITTLE, D. J., HARRYSSON, O. L. & KIDD, L. B. (2006):  
Morphometric assessment of the proximal portion of the tibia in dogs with and without cranial cruciate ligament rupture.  
*Vet Radiol Ultrasound* **47**, 136-141
- OTABE, K., ITO, T., SUGIMOTO, T. & YAMAMOTO, S. (2000):  
C-reactive protein (CRP) measurement in canine serum following experimentally-induced acute gastric mucosal injury.  
*Lab Anim* **34**, 434-438
- OTAKE, T., UEZONO, K., TAKAHASHI, R., FUKUMOTO, J., TABATA, S., ABE, H., TAJIMA, O., MIZOUE, T., OHNAKA, K. & KONO, S. (2009):  
C-reactive protein and colorectal adenomas: self defense forces health study.  
*Cancer Sci* **100**, 709-714
- PAATSAMA, S., ROKKANEN, P., JUSSILA, J. & SITTIKOW, K. (1971):  
A study of osteochondritis dissecans of the canine humeral head using histological, OTC bone labelling, microradiographic and microangiographic methods.  
*J Small Anim Pract* **12**, 603-611
- PARRA, M. D., TUOMOLA, M., CABEZAS-HERRERA, J. & CERON, J. J. (2006):  
Analytical and clinical validation of a time-resolved immunofluorometric assay (TR-IFMA) for canine C-reactive protein in serum.  
*Vet Res Commun* **30**, 113-126
- PARTSCH, G., SCHWARZER, C., NEUMÜLLER, J., DUNKY, A., PETERA, P., BROLL, H., ITTNER, G. & JANTSCH, S. (1989):  
Modulation of the migration and chemotaxis of PMN cells by hyaluronic acid.  
*Z Rheumatol* **48**, 123-128
- PAVELKA, K., FOREJTOVA, S., OLEJAROVA, M., GATTEROVA, J., SENOLT, L., SPACEK, P., BRAUN, M., HULEJOVA, M., STOVICKOVA, J. & PAVELKOVA, A. (2004):  
Hyaluronic acid levels may have predictive value for the progression of knee osteoarthritis.  
*Osteoarthritis Cartilage* **12**, 277-283
- PEARLE, A. D., SCANZELLO, C. R., GEORGE, S., MANDL, L. A., DICARLO, E. F., PETERSON, M., SCULCO, T. P. & CROW, M. K. (2007):  
Elevated high-sensitivity C-reactive protein levels are associated with local inflammatory findings in patients with osteoarthritis.  
*Osteoarthritis Cartilage* **15**, 516-523
- PEDERSEN, N. C. (1978):  
Synovial fluid collection and analysis.  
*Vet Clin North Am* **8**, 495-499
- PELLETIER, J. P., BOILEAU, C., BRUNET, J., BOILY, M., LAJEUNESSE, D., REBOUL, P., LAUFER, S. & MARTEL-PELLETIER, J. (2004):  
The inhibition of subchondral bone resorption in the early phase of experimental dog osteoarthritis by licofelone is associated with a reduction in the synthesis of MMP-13 and cathepsin K.  
*Bone* **34**, 527-538

- PELLETIER, J. P., JOVANOVIC, D. V., LASCAU-COMAN, V., FERNANDES, J. C., MANNING, P. T., CONNOR, J. R., CURRIE, M. G. & MARTEL-PELLETIER, J. (2000):  
Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces progression of experimental osteoarthritis in vivo: possible link with the reduction in chondrocyte apoptosis and caspase 3 level.  
*Arthritis Rheum* **43**, 1290-1299
- PELLETIER, J. P., MARTEL-PELLETIER, J. & ABRAMSON, S. B. (2001):  
Osteoarthritis, an inflammatory disease: potential implication for the selection of new therapeutic targets.  
*Arthritis Rheum* **44**, 1237-1247
- PELLETIER, J. P., MARTEL-PELLETIER, J., GHANDUR-MNAYMNEH, L., HOWELL, D. S. & WOESSNER, J. F., JR. (1985):  
Role of synovial membrane inflammation in cartilage matrix breakdown in the Pond-Nuki dog model of osteoarthritis.  
*Arthritis Rheum* **28**, 554-561
- PETERFY, C. G., VAN DIJKE, C. F., JANZEN, D. L., GLUER, C. C., NAMBA, R., MAJUMDAR, S., LANG, P. & GENANT, H. K. (1994):  
Quantification of articular cartilage in the knee with pulsed saturation transfer subtraction and fat-suppressed MR imaging: optimization and validation.  
*Radiology* **192**, 485-491
- PETERSON, K. D. & KEEFE, T. J. (2004):  
Effects of meloxicam on severity of lameness and other clinical signs of osteoarthritis in dogs.  
*J Am Vet Med Assoc* **225**, 1056-1060
- PIERCE, B. L., BALLARD-BARBASH, R., BERNSTEIN, L., BAUMGARTNER, R. N., NEUHOUSER, M. L., WENER, M. H., BAUMGARTNER, K. B., GILLILAND, F. D., SORENSEN, B. E., MCTIERNAN, A. & ULRICH, C. M. (2009):  
Elevated biomarkers of inflammation are associated with reduced survival among breast cancer patients.  
*J Clin Oncol* **27**, 3437-3444
- PINILLA, J. C., HAYES, P., LAVERTY, W., ARNOLD, C. & LAXDAL, V. (1998):  
The C-reactive protein to prealbumin ratio correlates with the severity of multiple organ dysfunction.  
*Surgery* **124**, 799-806
- POLTERAUER, S., GRIMM, C., TEMPFER, C., SLIUTZ, G., SPEISER, P., REINTHALLER, A. & HEFLER, L. A. (2007):  
C-reactive protein is a prognostic parameter in patients with cervical cancer.  
*Gynecol Oncol* **107**, 114-117
- POND, M. J. & CAMPBELL, J. R. (1972):  
The canine stifle joint. I. Rupture of the anterior cruciate ligament. An assessment of conservative and surgical treatment.  
*J Small Anim Pract* **13**, 1-10
- POOLE, A. R. (1994):  
Immunochemical markers of joint inflammation, skeletal damage and repair: where are we now?  
*Ann Rheum Dis* **53**, 3-5

- POOLE, A. R., IONESCU, M., FITZCHARLES, M. A. & BILLINGHURST, R. C. (2004):  
The assessment of cartilage degradation in vivo: development of an immunoassay for the measurement in body fluids of type II collagen cleaved by collagenases.  
*J Immunol Methods* **294**, 145-153
- POOLE, A. R. & PIDOUX, I. (1989):  
Immunoelectron microscopic studies of type X collagen in endochondral ossification.  
*J Cell Biol* **109**, 2547-2554
- POOLE, A. R., WEBBER, C., PIDOUX, I., CHOI, H. & ROSENBERG, L. C. (1986):  
Localization of a dermatan sulfate proteoglycan (DS-PGII) in cartilage and the presence of an immunologically related species in other tissues.  
*J Histochem Cytochem* **34**, 619-625
- POOLE, C. A., FLINT, M. H. & BEAUMONT, B. W. (1984):  
Morphological and functional interrelationships of articular cartilage matrices.  
*J Anat* **138 (Pt 1)**, 113-138
- POOLE, C. A., FLINT, M. H. & BEAUMONT, B. W. (1987):  
Chondrons in cartilage: ultrastructural analysis of the pericellular microenvironment in adult human articular cartilages.  
*J Orthop Res* **5**, 509-522
- POOLE, C. A., MATSUOKA, A. & SCHOFIELD, J. R. (1991):  
Chondrons from articular cartilage. III. Morphologic changes in the cellular microenvironment of chondrons isolated from osteoarthritic cartilage.  
*Arthritis Rheum* **34**, 22-35
- PÓVOA, P., ALMEIDA, E., MOREIRA, P., FERNANDES, A., MEALHA, R., ARAGÃO, A. & SABINO, H. (1998):  
C-reactive protein as an indicator of sepsis.  
*Intensive Care Med* **24**, 1052-1056
- POZO, M. A., BALAZS, E. A. & BELMONTE, C. (1997):  
Reduction of sensory responses to passive movements of inflamed knee joints by hylan, a hyaluronan derivative.  
*Exp Brain Res* **116**, 3-9
- POZZI, A., HILDRETH, B. E., 3RD & RAJALA-SCHULTZ, P. J. (2008):  
Comparison of arthroscopy and arthrotomy for diagnosis of medial meniscal pathology: an ex vivo study.  
*Vet Surg* **37**, 749-755
- PRAEST, B. M., GREILING, H. & KOCK, R. (1997):  
Assay of synovial fluid parameters: hyaluronan concentration as a potential marker for joint diseases.  
*Clin Chim Acta* **266**, 117-128
- PREHM, P. (1990):  
Release of hyaluronate from eukaryotic cells.  
*Biochem J* **267**, 185-189
- PRINK, A., HAYASHI, K., KIM, S. Y., KIM, J. & KAPATKIN, A. (2010):  
Evaluation of a collagenase generated osteoarthritis biomarker in the synovial fluid from elbow joints of dogs with medial coronoid disease and unaffected dogs.  
*Vet Surg* **39**, 65-70

- PUNKE, J. P., HULSE, D. A., KERWIN, S. C., PEYCKE, L. E. & BUDSBERG, S. C. (2009):  
Arthroscopic documentation of elbow cartilage pathology in dogs with clinical lameness  
without changes on standard radiographic projections.  
*Vet Surg* **38**, 209-212
- QUINN, T. M., MOREL, V. & MEISTER, J. J. (2001):  
Static compression of articular cartilage can reduce solute diffusivity and partitioning:  
implications for the chondrocyte biological response.  
*J Biomech* **34**, 1463-1469
- RADIN, E. L., MARTIN, R. B., BURR, D. B., CATERSON, B., BOYD, R. D. & GOODWIN, C. (1984):  
Effects of mechanical loading on the tissues of the rabbit knee.  
*J Orthop Res* **2**, 221-234
- RADIN, E. L., PAUL, I. L. & LOWY, M. (1970):  
A comparison of the dynamic force transmitting properties of subchondral bone and articular  
cartilage.  
*J Bone Joint Surg Am* **52**, 444-456
- RADIN, E. L. & ROSE, R. M. (1986):  
Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage.  
*Clin Orthop Relat Res*, 34-40
- READ, R. A. (1993):  
Osteochondrose und Ellenbogenarthrose bei jungen Hunden: Häufigkeit, Diagnose und  
Therapie.  
*Waltham International Focus* **3**, 2-10
- REDLER, I., MOW, V. C., ZIMNY, M. L. & MANSELL, J. (1975):  
The ultrastructure and biomechanical significance of the tidemark of articular cartilage.  
*Clin Orthop Relat Res*, 357-362
- REES, M. D., HAWKINS, C. L. & DAVIES, M. J. (2003):  
Hypochlorite-mediated fragmentation of hyaluronan, chondroitin sulfates, and related N-  
acetyl glycosamines: evidence for chloramide intermediates, free radical transfer reactions,  
and site-specific fragmentation.  
*J Am Chem Soc* **125**, 13719-13733
- REES, M. D., PATTISON, D. I. & DAVIES, M. J. (2005):  
Oxidation of heparan sulphate by hypochlorite: role of N-chloro derivatives and dichloramine-  
dependent fragmentation.  
*Biochem J* **391**, 125-134
- REESE, S. (1995):  
Untersuchungen am intakten und rupturierten Ligamentum cruciatum craniale des Hundes.  
*Berlin, Freie Univ., Diss., 1995*, 226
- REMY, D., NEUHART, L., FAU, D. & GENEVOIS, J. P. (2004):  
Canine elbow dysplasia and primary lesions in German shepherd dogs in France.  
*J Small Anim Pract* **45**, 244-248
- REVELL, P. A., AL-SAFFAR, N., FISH, S. & OSEI, D. (1995):  
Extracellular matrix of the synovial intimal cell layer.  
*Ann Rheum Dis* **54**, 404-407

- REYNOLDS, W. F., CHANG, E., DOUER, D., BALL, E. D. & KANDA, V. (1997):  
An allelic association implicates myeloperoxidase in the etiology of acute promyelocytic leukemia.  
*Blood* **90**, 2730-2737
- RIDKER, P. M. (2003):  
Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention.  
*Circulation* **107**, 363-369
- RIKIHISA, Y., YAMAMOTO, S., KWAK, I., IQBAL, Z., KOCIBA, G., MOTT, J. & CHICHANASIRIWITHAYA, W. (1994):  
C-reactive protein and alpha 1-acid glycoprotein levels in dogs infected with Ehrlichia canis.  
*J Clin Microbiol* **32**, 912-917
- RIYAZI, N., SLAGBOOM, E., DE CRAEN, A. J., MEULENBELT, I., HOUWING-DUISTERMAAT, J. J., KROON, H. M., VAN SCHAARDENBURG, D., ROSENDAAL, F. R., BREEDVELD, F. C., HUIZINGA, T. W. & KLOPPENBURG, M. (2005):  
Association of the risk of osteoarthritis with high innate production of interleukin-1beta and low innate production of interleukin-10 ex vivo, upon lipopolysaccharide stimulation.  
*Arthritis Rheum* **52**, 1443-1450
- RIZKALLA, G., REINER, A., BOGOCH, E. & POOLE, A. R. (1992):  
Studies of the articular cartilage proteoglycan aggrecan in health and osteoarthritis. Evidence for molecular heterogeneity and extensive molecular changes in disease.  
*J Clin Invest* **90**, 2268-2277
- ROWE, I. F., SHELDON, J., RICHES, P. G. & KEAT, A. C. (1987):  
Comparative studies of serum and synovial fluid C reactive protein concentrations.  
*Ann Rheum Dis* **46**, 721-726
- ROY, R. G., WALLACE, L. J., JOHNSTON, G. R. & WICKSTROM, S. L. (1992):  
A retrospective evaluation of stifle osteoarthritis in dogs with bilateral medial patellar luxation and unilateral surgical repair.  
*Vet Surg* **21**, 475-479
- RUDD, R. G., WHITEHAIR, J. G. & MARGOLIS, J. H. (1990):  
Results of management of osteochondritis dissecans of the humeral head in dogs: 44 cases (1982-1987).  
*J Am Anim Hosp Assoc* **26**, 173-178
- RUDOLPH, V., ANDRIE, R. P., RUDOLPH, T. K., FRIEDRICHS, K., KLINKE, A., HIRSCH-HOFFMANN, B., SCHWOERER, A. P., LAU, D., FU, X., KLINGEL, K., SYDOW, K., DIDIE, M., SENIUK, A., VON LEITNER, E. C., SZOECs, K., SCHRICKEL, J. W., TREEDE, H., WENZEL, U., LEWALTER, T., NICKENIG, G., ZIMMERMANN, W. H., MEINERTZ, T., BOGER, R. H., REICHENSPURNER, H., FREEMAN, B. A., ESCHENHAGEN, T., EHMKE, H., HAZEN, S. L., WILLEMS, S. & BALDUS, S. (2010):  
Myeloperoxidase acts as a profibrotic mediator of atrial fibrillation.  
*Nat Med* **16**, 470-474
- RUSH, J. E., LEE, N. D., FREEMAN, L. M. & BREWER, B. (2006):  
C-reactive protein concentration in dogs with chronic valvular disease.  
*J Vet Intern Med* **20**, 635-639

RYAN, M. C. & SANDELL, L. J. (1990):

Differential expression of a cysteine-rich domain in the amino-terminal propeptide of type II (cartilage) procollagen by alternative splicing of mRNA.  
*J Biol Chem* **265**, 10334-10339

SAARI, H., SORSA, T. & KONTTINEN, Y. T. (1990):

Reactive oxygen species and hyaluronate in serum and synovial fluid in arthritis.  
*Int J Tissue React* **12**, 81-89

SAJAD, M., ZARGAN, J., CHAWLA, R., UMAR, S., SADAQAT, M. & KHAN, H. A. (2009):

Hippocampal neurodegeneration in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE): potential role of inflammation activated myeloperoxidase.  
*Mol Cell Biochem* **328**, 183-188

SAMII, V. F., DYCE, J., POZZI, A., DROST, W. T., MATTOON, J. S., GREEN, E. M., KOWALESKI, M. P. & LEHMAN, A. M. (2009):

Computed tomographic arthrography of the stifle for detection of cranial and caudal cruciate ligament and meniscal tears in dogs.  
*Vet Radiol Ultrasound* **50**, 144-150

SANDELL, L. J. (1994):

In situ expression of collagen and proteoglycan genes in notochord and during skeletal development and growth.  
*Microsc Res Tech* **28**, 470-482

SANDY, J. D. & PLAAS, A. H. (1989):

Studies on the hyaluronate binding properties of newly synthesized proteoglycans purified from articular chondrocyte cultures.  
*Arch Biochem Biophys* **271**, 300-314

SAUNDERS, A. B., SMITH, B. E., FOSGATE, G. T., SUCHODOLSKI, J. S. & STEINER, J. M. (2009):

Cardiac troponin I and C-reactive protein concentrations in dogs with severe pulmonic stenosis before and after balloon valvuloplasty.  
*J Vet Cardiol* **11**, 9-16

SAWYER, D. C. (1963):

Synovial fluid analysis of canine joints.  
*J Am Vet Med Assoc* **143**, 609-612

SCHAEFER, S. L. & FORREST, L. J. (2006):

Magnetic resonance imaging of the canine shoulder: an anatomic study.  
*Vet Surg* **35**, 721-728

SCHIAVINATO, A., LINI, E., GUIDOLIN, D., PEZZOLI, G., BOTTI, P., MARTELLI, M., CORTIVO, R., DE GALATEO, A. & ABATANGELO, G. (1989):

Intraarticular sodium hyaluronate injections in the Pond-Nuki experimental model of osteoarthritis in dogs. II. Morphological findings.  
*Clin Orthop Relat Res*, 286-299

SCHILLER, J., BENARD, S., REICHL, S., ARNHOLD, J. & ARNOLD, K. (2000):

Cartilage degradation by stimulated human neutrophils: reactive oxygen species decrease markedly the activity of proteolytic enzymes.  
*Chem Biol* **7**, 557-568

SELMI, A. L. & PADILHA FILHO, J. G. (2001):

Rupture of the cranial cruciate ligament associated with deformity of the proximal tibia in five dogs.

*J Small Anim Pract* **42**, 390-393

SHAO, B., ODA, M. N., ORAM, J. F. & HEINECKE, J. W. (2010):

Myeloperoxidase: an oxidative pathway for generating dysfunctional high-density lipoprotein.

*Chem Res Toxicol* **23**, 447-454

SHARIF, M., GEORGE, E., SHEPSTONE, L., KNUDSON, W., THONAR, E. J., CUSHNAGHAN, J. & DIEPPE, P. (1995):

Serum hyaluronic acid level as a predictor of disease progression in osteoarthritis of the knee.

*Arthritis Rheum* **38**, 760-767

SHARIF, M., SHEPSTONE, L., ELSON, C. J., DIEPPE, P. A. & KIRWAN, J. R. (2000):

Increased serum C reactive protein may reflect events that precede radiographic progression in osteoarthritis of the knee.

*Ann Rheum Dis* **59**, 71-74

SHOULDERS, M. D. & RAINES, R. T. (2009):

Collagen structure and stability.

*Annu Rev Biochem* **78**, 32.01-32.30

SINGLETON, W. B. (1969):

The surgical correction of stifle deformities in the dog.

*J Small Anim Pract* **10**, 59-69

SJÖSTRÖM, L., KASSTRÖM, H. & KÄLLBERG, M. (1995):

Ununited anconeal process in the dog. Pathogenesis and treatment by osteotomy of the ulna.

*Vet Comp Orthop Traumatol* **8**, 170-176

SLATER, M. R., SCARLETT, J. M., KADERLEY, R. E. & BONNETT, B. N. (1991):

Breed, Gender, and age as risk factors for canine osteochondritis dissecans.

*Vet Comp Orthop Traumatol* **4**, 100-106

SLOCUM, B. & DEVINE, T. (1983):

Cranial tibial thrust: a primary force in the canine stifle.

*J Am Vet Med Assoc* **183**, 456-459

SMITH, G., JR., MYERS, S. L., BRANDT, K. D., MICKLER, E. A. & ALBRECHT, M. E. (2005):

Effect of intraarticular hyaluronan injection on vertical ground reaction force and progression of osteoarthritis after anterior cruciate ligament transection.

*J Rheumatol* **32**, 325-334

SMITH, G. N., JR., MICKLER, E. A., MYERS, S. L. & BRANDT, K. D. (2001):

Effect of intraarticular hyaluronan injection on synovial fluid hyaluronan in the early stage of canine post-traumatic osteoarthritis.

*J Rheumatol* **28**, 1341-1346

SNAPS, F. R., BALLIGAND, M. H., SAUNDERS, J. H., PARK, R. D. & DONDELINGER, R. F. (1997):  
Comparison of radiography, magnetic resonance imaging, and surgical findings in dogs with elbow dysplasia.

*Am J Vet Res* **58**, 1367-1370

SNAPS, F. R., PARK, R. D., SAUNDERS, J. H., BALLIGAND, M. H. & DONDELINGER, R. F. (1999):  
Magnetic resonance arthrography of the cubital joint in dogs affected with fragmented medial  
coronoid processes.  
*Am J Vet Res* **60**, 190-193

SOWERS, M., JANNAUSCH, M., STEIN, E., JAMADAR, D., HOCHBERG, M. & LACHANCE, L. (2002):  
C-reactive protein as a biomarker of emergent osteoarthritis.  
*Osteoarthritis Cartilage* **10**, 595-601

SPECTOR, T. D., HART, D. J., NANDRA, D., DOYLE, D. V., MACKILLOP, N., GALLIMORE, J. R. &  
PEPYS, M. B. (1997):  
Low-level increases in serum C-reactive protein are present in early osteoarthritis of the knee  
and predict progressive disease.  
*Arthritis Rheum* **40**, 723-727

SPELLMEYER, K. (2003):  
Myeloperoxidase-Aktivität im Serum und in der Synovia bei Hunden mit Osteoarthritis  
- eine prospektive Studie.  
*Berlin, Freie Univ., Diss., 2003*, 140

STEINBECK, M. J., NESTI, L. J., SHARKEY, P. F. & PARVIZI, J. (2007):  
Myeloperoxidase and chlorinated peptides in osteoarthritis: potential biomarkers of the  
disease.  
*J Orthop Res* **25**, 1128-1135

STEINMEYER, J. & ACKERMANN, B. (1999):  
The effect of continuously applied cyclic mechanical loading on the fibronectin metabolism of  
articular cartilage explants.  
*Res Exp Med (Berl)* **198**, 247-260

STEINMEYER, J., KNUE, S., RAISS, R. X. & PELZER, I. (1999):  
Effects of intermittently applied cyclic loading on proteoglycan metabolism and swelling  
behaviour of articular cartilage explants.  
*Osteoarthritis Cartilage* **7**, 155-164

STOBIE, D., WALLACE, L. J., LIPOWITZ, A. J., KING, V. & LUND, E. M. (1995):  
Chronic bicipital tenosynovitis in dogs: 29 cases (1985-1992).  
*J Am Vet Med Assoc* **207**, 201-207

STORY, E. C. (1978):  
Prognostic value of arthrography in canine shoulder osteochondrosis (osteochondritis)  
dissecans.  
*Vet Clin North Am* **8**, 301-308

STRYER, L. (1991):  
Bindegewebsproteine. In: STRYER, L. (Ed.), *Biochemie*  
5. völlig Neubearb. Aufl., Spektrum, Heidelberg, Berlin, New York, 273-293

STÜRMER, T., BRENNER, H., KOENIG, W. & GUNTHER, K. P. (2004):  
Severity and extent of osteoarthritis and low grade systemic inflammation as assessed by  
high sensitivity C reactive protein.  
*Ann Rheum Dis* **63**, 200-205

- SUGIYAMA, S., ITOKAZU, M., SUZUKI, Y. & SHIMIZU, K. (2003):  
Procollagen II C propeptide level in the synovial fluid as a predictor of radiographic progression in early knee osteoarthritis.  
*Ann Rheum Dis* **62**, 27-32
- SUTTON, S., CLUTTERBUCK, A., HARRIS, P., GENT, T., FREEMAN, S., FOSTER, N., BARRETT-JOLLEY, R. & MOBASHERI, A. (2009):  
The contribution of the synovium, synovial derived inflammatory cytokines and neuropeptides to the pathogenesis of osteoarthritis.  
*Vet J* **179**, 10-24
- SZALAI, A. J., NATAF, S., HU, X. Z. & BARNUM, S. R. (2002):  
Experimental allergic encephalomyelitis is inhibited in transgenic mice expressing human C-reactive protein.  
*J Immunol* **168**, 5792-5797
- TACKE, S., KRAMER, M. & SCHIMKE, E. (1999):  
Osteochondrosis dissecans (OCD) am Schultergelenk des Hundes.  
*Tierärztl Praxis* **27 (K)**, 81-90
- TAGATA, K., YOKOYAMA, S., GINBO, T., HONDA, M., OKIMURA, T., ODAKURA, M., NOMURA, M. & YAMAMOTO, S. (1996):  
Quantitative capillary reversed passive latex agglutination test for C-reactive protein (CRP) in the dog.  
*Vet Res Commun* **20**, 21-30
- TAN, S., WANG, G., PENG, M., ZHANG, X., SHEN, G., JIANG, J. & CHEN, F. (2009):  
Detection of myeloperoxidase activity in primary leukemic cells by an enhanced chemiluminescent assay for differentiation between acute lymphoblastic and non-lymphoblastic leukemia.  
*Clin Chim Acta* **403**, 216-218
- TAN, Y., YU, F., YANG, H., CHEN, M., FANG, Q. & ZHAO, M. H. (2008):  
Autoantibodies against monomeric C-reactive protein in sera from patients with lupus nephritis are associated with disease activity and renal tubulointerstitial lesions.  
*Hum Immunol* **69**, 840-844
- TASKIRAN, D., STEFANOVIC-RACIC, M., GEORGESCU, H. & EVANS, C. (1994):  
Nitric oxide mediates suppression of cartilage proteoglycan synthesis by interleukin-1.  
*Biochem Biophys Res Commun* **200**, 142-148
- THOMPSON, R. C., JR., OEGEMA, T. R., JR., LEWIS, J. L. & WALLACE, L. (1991):  
Osteoarthrotic changes after acute transarticular load. An animal model.  
*J Bone Joint Surg Am* **73**, 990-1001
- TIKU, M. L., GUPTA, S. & DESHMUKH, D. R. (1999):  
Aggrecan degradation in chondrocytes is mediated by reactive oxygen species and protected by antioxidants.  
*Free Radic Res* **30**, 395-405
- TILG, H., VANNIER, E., VACHINO, G., DINARELLO, C. A. & MIER, J. W. (1993):  
Antiinflammatory properties of hepatic acute phase proteins: preferential induction of interleukin 1 (IL-1) receptor antagonist over IL-1 beta synthesis by human peripheral blood mononuclear cells.  
*J Exp Med* **178**, 1629-1636

- TIVERS, M. S., MAHONEY, P. N., BAINES, E. A. & CORR, S. A. (2009):  
Diagnostic accuracy of positive contrast computed tomography arthrography for the detection of injuries to the medial meniscus in dogs with naturally occurring cranial cruciate ligament insufficiency.  
*J Small Anim Pract* **50**, 324-332
- TODHUNTER, R. J. & JOHNSTON, S. A. (2003):  
Osteoarthritis. In: SLATTER, D. (Ed.), *Textbook of small animal surgery*  
3rd ed., Elsevier Science, Philadelphia, Pennsylvania, 2208-2245
- TORRINGTON, A. (2004):  
The clinical, radiographic and surgical findings in patients with and without subpatellar artilage loss associated with grade 1 and 2 medial patellar luxation.  
*Abstracts of the 12th ESVOT Congress, Munich, Germany Sept 10th-12th*
- TORZILLI, P. A., ADAMS, T. C. & MIS, R. J. (1987):  
Transient solute diffusion in articular cartilage.  
*J Biomech* **20**, 203-214
- TORZILLI, P. A. & GRIGIENE, R. (1998):  
Continuous cyclic load reduces proteoglycan release from articular cartilage.  
*Osteoarthritis Cartilage* **6**, 260-268
- TORZILLI, P. A., GRIGIENE, R., BORRELLI, J., JR. & HELFET, D. L. (1999):  
Effect of impact load on articular cartilage: cell metabolism and viability, and matrix water content.  
*J Biomech Eng* **121**, 433-441
- TRACHTENBERG, B. H. & HARE, J. M. (2009):  
Biomarkers of oxidative stress in heart failure.  
*Heart Fail Clin* **5**, 561-577
- TROMBLEE, T. C., JONES, J. C., BAHR, A. M., SHIRES, P. K. & AREF, S. (2007):  
Effect of computed tomography display window and image plane on diagnostic certainty for characteristics of dysplastic elbow joints in dogs.  
*Am J Vet Res* **68**, 858-871
- TROSTEL, C. T., MCLAUGHLIN, R. M. & POOL, R. R. (2002):  
Canine lameness caused by developmental orthopaedic diseases: osteochondrosis.  
*Compendium* **24**, 836-854
- TURAN, Y., BAL, S., GURGAN, A., TOPAC, H. & KOSEOGLU, M. (2007):  
Serum hyaluronan levels in patients with knee osteoarthritis.  
*Clin Rheumatol* **26**, 1293-1298
- UBBINK, G. J., HAZEWINKEL, H. A., VAN DE BROEK, J. & ROTHUIZEN, J. (1999):  
Familial clustering and risk analysis for fragmented coronoid process and elbow joint incongruity in Bernese Mountain Dogs in The Netherlands.  
*Am J Vet Res* **60**, 1082-1087
- VAN BREE, H. & GIELEN, I. (2009):  
Schultergelenk und Skapula. In: BARR, F.J. & KIRBERGER, R.M. (Ed.), *BSAVA Handbuch Bildgebende Diagnostik des muskuloskeletalen Systems bei Hund und Katze*  
1. Aufl., München: Elsevier GmbH, 105-125

- VAN BREE, H. & VAN RYSSSEN, B. (1995):  
Imaging the canine elbow: Radiography, computed tomography and arthroscopy.  
*Vet Annu* **35**, 118
- VAN BREE, H. J. & VAN RYSSSEN, B. (1998):  
Diagnostic and surgical arthroscopy in osteochondrosis lesions.  
*Vet Clin North Am Small Anim Pract* **28**, 161-189
- VANKEMMELBEKE, M., DEKEYSER, P. M., HOLLANDER, A. P., BUTTLE, D. J. & DEMEESTER, J. (1998):  
Characterization of helical cleavages in type II collagen generated by matrixins.  
*Biochem J* **330 (Pt 2)**, 633-640
- VASSEUR, P. B. (1984):  
Clinical results following nonoperative management for rupture of the cranial cruciate ligament in dogs.  
*Vet Surg* **13**, 243-246
- VASSEUR, P. B. (2003):  
Stifle joint. In: SLATTER, D. (Ed.), *Textbook of small animal surgery*  
3rd Edition. Elsevier Science, Philadelphia, Pennsylvania, 2090-2132
- VASSEUR, P. B. & BERRY, C. R. (1992):  
Progression of stifle osteoarthritis following reconstruction of the cranial cruciate ligament in 21 dogs.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **28**, 129-136
- VASSEUR, P. B., POOL, R. R., ARNO CZKY, S. P. & LAU, R. E. (1985):  
Correlative biomechanical and histologic study of the cranial cruciate ligament in dogs.  
*Am J Vet Res* **46**, 1842-1854
- VAUGHAN, L. C. & JONES, D. G. (1968):  
Osteochondritis dissecans of the head of the humerus in dogs.  
*J Small Anim Pract* **9**, 283-294
- VEIT, G., KOBBE, B., KEENE, D. R., PAULSSON, M., KOCH, M. & WAGENER, R. (2006):  
Collagen XXVIII, a novel von Willebrand factor A domain-containing protein with many imperfections in the collagenous domain.  
*J Biol Chem* **281**, 3494-3504
- VENABLE, R. O., STOKER, A. M., COOK, C. R., COCKRELL, M. K. & COOK, J. L. (2008):  
Examination of synovial fluid hyaluronan quantity and quality in stifle joints of dogs with osteoarthritis.  
*Am J Vet Res* **69**, 1569-1573
- VILLIERS, E., BAINES, S., LAW, A. M. & MALLOWS, V. (2006):  
Identification of acute myeloid leukemia in dogs using flow cytometry with myeloperoxidase, MAC387, and a canine neutrophil-specific antibody.  
*Vet Clin Pathol* **35**, 55-71
- VOGEL, K. G., PAULSSON, M. & HEINEGARD, D. (1984):  
Specific inhibition of type I and type II collagen fibrillogenesis by the small proteoglycan of tendon.  
*Biochem J* **223**, 587-597

- WADDELL, D. D., KOLOMYTKIN, O. V., DUNN, S. & MARINO, A. A. (2007):  
Hyaluronan suppresses IL-1beta-induced metalloproteinase activity from synovial tissue.  
*Clin Orthop Relat Res* **465**, 241-248
- WAGNER, K., GRIFFON, D. J., THOMAS, M. W., SCHAEFFER, D. J., SCHULZ, K., SAMII, V. F. & NECAS, A. (2007):  
Radiographic, computed tomographic, and arthroscopic evaluation of experimental radio-  
ulnar incongruence in the dog.  
*Vet Surg* **36**, 691-698
- WAIBL, H. & BRUNNBERG, L. (2003):  
Schultergliedmaße. In: WAIBL, H., MAYRHOFER, E., MATIS, U., BRUNNBERG, L. & KÖSTLIN, R.  
(Ed.), *Atlas der Röntgenanatomie des Hundes*  
1. Neuaufl., Blackwell, Berlin, Wien, 70-83
- WAIBL, H., MATIS, U. & KÖSTLIN, R. (2003):  
Beckengliedmaße. In: WAIBL, H., MAYRHOFER, E., MATIS, U., BRUNNBERG, L. & KÖSTLIN, R.  
(Ed.), *Atlas der Röntgenanatomie des Hundes*  
1. Neuaufl., Blackwell, Berlin, Wien, 88-113
- WALL, C. R. & TAYLOR, R. (2002):  
Arthroscopic biceps brachii tenotomy as a treatment for canine bicipital tenosynovitis.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **38**, 169-175
- WALSH, D. A. (1999):  
Angiogenesis and arthritis.  
*Rheumatology (Oxford)* **38**, 103-112
- WALTERS, M. T., STEVENSON, F. K., GOSWAMI, R., SMITH, J. L. & CAWLEY, M. I. (1989):  
Comparison of serum and synovial fluid concentrations of beta 2-microglobulin and C  
reactive protein in relation to clinical disease activity and synovial inflammation in rheumatoid  
arthritis.  
*Ann Rheum Dis* **48**, 905-911
- WANG, C. S. & SUN, C. F. (2009):  
C-reactive protein and malignancy: clinico-pathological association and therapeutic  
implication.  
*Chang Gung Med J* **32**, 471-482
- WANG, C. T., LIN, Y. T., CHIANG, B. L., LIN, Y. H. & HOU, S. M. (2006):  
High molecular weight hyaluronic acid down-regulates the gene expression of osteoarthritis-  
associated cytokines and enzymes in fibroblast-like synoviocytes from patients with early  
osteoarthritis.  
*Osteoarthritis Cartilage* **14**, 1237-1247
- WATANABE, S., IMAGAWA, T., BOIVIN, G. P., GAO, G., WILSON, J. M. & HIRSCH, R. (2000):  
Adeno-associated virus mediates long-term gene transfer and delivery of chondroprotective  
IL-4 to murine synovium.  
*Mol Ther* **2**, 147-152
- WAYDHAS, C., NAST-KOLB, D., TRUPKA, A., ZETTL, R., KICK, M., WIESHOLLER, J.,  
SCHWEIBERER, L. & JOCHUM, M. (1996):  
Posttraumatic inflammatory response, secondary operations, and late multiple organ failure.  
*J Trauma* **40**, 624-630; discussion 630-621

- WEIR, C. J. & WALLEY, R. J. (2006):  
Statistical evaluation of biomarkers as surrogate endpoints: a literature review.  
*Stat Med* **25**, 183-203
- WEISBRODE, S. E. (2007):  
Bone and Joints. In: MCGAVIN, M.D. & ZACHARY, J.F. (Ed.), *Pathologic basis of veterinary disease*  
4th Edition. Mosby Elsevier, St. Louis, Missouri, 1041-1105
- WEISS, C. (1979):  
Normal and osteoarthritic articular cartilage.  
*Orthop Clin North Am* **10**, 175-189
- WEISS, C., ROSENBERG, L. & HELFET, A. J. (1968):  
An ultrastructural study of normal young adult human articular cartilage.  
*J Bone Joint Surg Am* **50**, 663-674
- WENZ, W., BREUSCH, S. J., GRAF, J. & STRATMANN, U. (2000):  
Ultrastructural findings after intraarticular application of hyaluronan in a canine model of arthropathy.  
*J Orthop Res* **18**, 604-612
- WERNHAM, B. G. J., JERRAM, R. M. & WARMAN, C. G. A. (2008):  
Bicipital tenosynovitis in dogs.  
*Comp* **30**, 537-552
- WHITEHAIR, J. G. & RUDD, R. G. (1990):  
Osteochondritis dissecans of the humeral head in dogs.  
*Compend Contin Educ Pract Vet* **12**, 195-203
- WHITEHAIR, J. G., VASSEUR, P. B. & WILLITS, N. H. (1993):  
Epidemiology of cranial cruciate ligament rupture in dogs.  
*J Am Vet Med Assoc* **203**, 1016-1019
- WIDMER, W. R., BUCKWALTER, K. A., BRAUNSTEIN, E. M., HILL, M. A., O'CONNOR, B. L. & VISCO, D. M. (1994):  
Radiographic and magnetic resonance imaging of the stifle joint in experimental osteoarthritis of dogs  
*Vet Radiol Ultrasound* **35**, 371-384
- WILKINSON, L. S., PITSILLIDES, A. A. & EDWARDS, J. C. (1993):  
Giant cells in arthritic synovium.  
*Ann Rheum Dis* **52**, 182-184
- WIND, A. (1986):  
Elbow incongruity and developmental elbow diseases in the dog: part 1.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **22**, 711-724
- WIND, A. & PACKARD, M. E. (1986):  
Elbow incongruity and developmental elbow diseases in the dog: part 2.  
*J Am Anim Hosp Assoc* **22**, 725-730
- WOLFE, D. A. (1976):  
Surgical correction of osteochondritis dissecans of the medial humeral condyle and ununited coronoid process in a dog.  
*Vet Med Small Anim Clin* **71**, 1554-1557

WOLFE, F. (1997):

The C-reactive protein but not erythrocyte sedimentation rate is associated with clinical severity in patients with osteoarthritis of the knee or hip.

*J Rheumatol* **24**, 1486-1488

WONDRATSCHEK, C. (2008):

Histopathologische Veränderungen an Gelenkkapsel und Gelenkknorpel bei caniner Osteoarthritis in Korrelation zum klinischen Erscheinungsbild.

*Berlin, Freie Univ., Diss., 2008*, 143

WONDRATSCHEK, C., BAUER, E., BONDZIO, A., RUDOLPH, R., EINSPANIER, R. & BRUNNBERG, L. (2009):

Kanine Osteoarthritis - Histopathologische Veränderungen an Gelenkkapsel und Gelenkknorpel in Korrelation zur Myeloperoxidase.

*Kleintierpraxis* **54**, 681-687

WOOD, A. K., BATH, M. L. & MASON, T. A. (1975):

Osteochondritis dissecans of the distal humerus in a dog.

*Vet Rec* **96**, 489-490

WU, J. J., EYRE, D. R. & SLAYTER, H. S. (1987):

Type VI collagen of the intervertebral disc. Biochemical and electron-microscopic characterization of the native protein.

*Biochem J* **248**, 373-381

WU, J. J., WOODS, P. E. & EYRE, D. R. (1992):

Identification of cross-linking sites in bovine cartilage type IX collagen reveals an antiparallel type II-type IX molecular relationship and type IX to type IX bonding.

*J Biol Chem* **267**, 23007-23014

WU, W., BILLINGHURST, R. C., PIDOUX, I., ANTONIOU, J., ZUKOR, D., TANZER, M. & POOLE, A. R. (2002):

Sites of collagenase cleavage and denaturation of type II collagen in aging and osteoarthritic articular cartilage and their relationship to the distribution of matrix metalloproteinase 1 and matrix metalloproteinase 13.

*Arthritis Rheum* **46**, 2087-2094

WU, X., SCHABATH, M. B. & SPITZ, M. R. (2003):

Myeloperoxidase promoter region polymorphism and lung cancer risk.

*Methods Mol Med* **75**, 121-133

YAMAMOTO, S., SHIDA, T., MIYAJI, S., SANTSUKA, H., FUJISE, H., MUKAWA, K., FURUKAWA, E., NAGAE, T. & NAIKI, M. (1993):

Changes in serum C-reactive protein levels in dogs with various disorders and surgical traumas.

*Vet Res Commun* **17**, 85-93

YAMAMOTO, S., SHIDA, T., OKIMURA, T., OTABE, K., HONDA, M., ASHIDA, Y., FURUKAWA, E., SARIKAPUTI, M. & NAIKI, M. (1994):

Determination of C-reactive protein in serum and plasma from healthy dogs and dogs with pneumonia by ELISA and slide reversed passive latex agglutination test.

*Vet Q* **16**, 74-77

YAMASHITA, K., FUJINAGA, T., MIYAMOTO, T., HAGIO, M., IZUMISAWA, Y. & KOTANI, T. (1994):  
Canine acute phase response: relationship between serum cytokine activity and acute phase  
protein in dogs.  
*J Vet Med Sci* **56**, 487-492

YASUDA, T. & POOLE, A. R. (2002):  
A fibronectin fragment induces type II collagen degradation by collagenase through an  
interleukin-1-mediated pathway.  
*Arthritis Rheum* **46**, 138-148

YENTIS, S. M., SONI, N. & SHELDON, J. (1995):  
C-reactive protein as an indicator of resolution of sepsis in the intensive care unit.  
*Intensive Care Med* **21**, 602-605

YUDOH, K., NGUYEN, T., NAKAMURA, H., HONGO-MASUKO, K., KATO, T. & NISHIOKA, K. (2005):  
Potential involvement of oxidative stress in cartilage senescence and development of  
osteoarthritis: oxidative stress induces chondrocyte telomere instability and downregulation  
of chondrocyte function.  
*Arthritis Res Ther* **7**, R380-391

ZENTEK, J., MEYER, H. & DAMMRICH, K. (1995):  
Über den Einfluss einer unterschiedlichen Energieversorgung wachsender Doggen auf  
Körpermasse- und Skelettentwicklung. 3. Mitteilung: Klinisches Bild und chemische  
Skelettuntersuchungen.  
*Zbl Vet Med A* **42**, 69-80

## 9 Anhang

### Medikamentelle Vorbehandlung

VORBEHANDELTE				
	Anzahl	Min-Max	Median	Mittelwert
Zellzahl (/µl)				
Synovia	20	175-5550	900	1675,3
MPO (mU/µl)				
Synovia	20	0,0-87,62	3,14	11,13
Serum	19	4,65-37,0	12,5	14,88
CRP (µg/ml)				
Synovia	14	0,0-2,36	0,38	0,57
Serum	12	0,0-6,84	1,8	2,4
HA (µg/ml)				
Synovia	13	212,2-1869,5	694,4	766,9
Serum	11	0,021-0,6	0,119	0,169
C2C (ng/ml)				
Synovia	14	63-356	255	226,86
Serum	12	178-501	302	304,33
Leukozyten (G/l)				
EDTA-Vollblut	15	4,88-18,69	9,72	10,35

NICHT-VORBEHANDELTE				
	Anzahl	Min-Max	Median	Mittelwert
Zellzahl (/µl)				
Synovia	77	100-8000	1050	1558,26
MPO (mU/µl)				
Synovia	77	0,0-86,5	4,62	10,5
Serum	74	1,16-72,7	16,77	19,56
CRP (µg/ml)				
Synovia	51	0,0-42,83	0,41	2,35
Serum	47	0,05-75,01	1,28	4,76
HA (µg/ml)				
Synovia	44	192,8-2000,9	946,6	956,8
Serum	41	0,017-0,501	0,081	0,102
C2C (ng/ml)				
Synovia	51	92-401	251	242,41
Serum	47	215-489	301	307,57
Leukozyten (G/l)				
EDTA-Vollblut	57	5,8-18,53	9,95	10,29

**Hämatologische Untersuchung**

ROTES BLUTBILD				
	Anzahl	Min-Max	Median	Mittelwert
WBC (G/l)	72	4,88-18,69	9,94	10,31
RBC (T/l)	71	4,18-9,26	7,49	7,34
Hb (g/dl)	72	9,8-21,9	17,4	17,12
Hkt (%)	72	32,2-59,6	49,1	48,09
MCV (fl)	71	56,8-77	65,6	65,69
MCH (pg)	70	19,4-25,9	23,3	23,32
MCHC (g/dl)	71	30,4-37,6	35,6	35,56
PLT (G/l)	71	115-569	264	281,07

KLINISCHE CHEMIE				
	Anzahl	Min-Max	Median	Mittelwert
Natrium (mmol/l)	71	141-156	146	146,65
Kalium (mmol/l)	71	3,17-5,38	4,04	4,05
Glukose (mg/dl)	71	79-140	109	109,45
Calcium (mmol/l)	69	2,43-3,22	2,76	2,77
Phosphor (mmol/l)	69	0,43-2,87	1,24	1,3
Harnstoff (mg/dl)	71	10,2-73,9	33,4	34,21
Kreatinin (mg/dl)	71	0,68-1,48	1,05	1,06
ALT (IU/l)	70	13-143	44,5	51,42
AST (IU/l)	71	12-126	24	27,29
AP (IU/l)	70	13-821	59,5	99,63
GLDH (IU/l)	70	0,1-90,2	1,05	3,63
Bilirubin (mg/dl)	71	0,03-0,45	0,19	0,2
Protein (g/dl)	71	5,13-7,73	6,35	6,34
Albumin (g/dl)	71	2,7-3,88	3,06	3,07

**Viskosität der Synovia**

Grad	Alle Gelenke		Schultergelenk		Ellenbogengelenk		Kniegelenk	
	Anzahl	(%)	Anzahl	(%)	Anzahl	(%)	Anzahl	(%)
0	49	50,5	4	57,1	15	68,2	30	44,1
1	24	24,7	3	42,9	3	13,6	18	26,5
2	15	15,5	0	0	3	13,6	12	17,6
3	9	9,3	0	0	1	4,5	8	11,8
Gesamt	97	100	7	100	22	100	68	100

SCHULTERGELENK				
Grad	OCD		Bizepstendinitis	
	Anzahl	(%)	Anzahl	(%)
0	3	50	1	100
1	3	50	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
Gesamt	6	100	1	100

ELLENBOGENGELLENK								
Grad	FPC		ED		OCD		IPA	
	Anzahl	(%)	Anzahl	(%)	Anzahl	(%)	Anzahl	(%)
0	8	66,7	3	60,0	4	100	0	0
1	1	8,3	1	20,0	0	0	1	100
2	3	25,0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	1	20,0	0	0	0	0
Gesamt	12	100	5	100	4	100	1	100

KNIEGELENK						
Grad	Ruptur Lcc		Patellaluxation		Gonitis	
	Anzahl	(%)	Anzahl	(%)	Anzahl	(%)
0	27	45,8	3	37,5	0	0
1	15	25,4	3	37,5	0	0
2	9	15,2	2	25,0	1	100
3	8	13,6	0	0	0	0
Gesamt	59	100	8	100	1	100

ANHANG

Viskosität	Lahmheit									
	Grad 0		Grad 1		Grad 2		Grad 3		Grad 4	
Grad	Anzahl Gelenke	(%)								
0	17	94	22	56	17	50	8	50	1	17
1	0	0	10	26	9	26	4	25	1	17
2	1	6	4	10	4	12	3	19	3	49
3	0	0	3	8	4	12	1	5	1	17
Gesamt	18	100	39	100	34	100	16	100	6	100

Viskosität	Gelenkschmerz							
	Grad 0		Grad 1		Grad 2		Grad 3	
Grad	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)
0	21	87,5	27	47,4	15	55,6	2	40
1	3	12,5	15	26,3	6	22,2	0	0
2	0	0	8	14,0	5	18,5	2	40
3	0	0	7	12,3	1	3,7	1	20
Gesamt	24	100	57	100	27	100	5	100

Viskosität	Gelenkfüllung							
	Grad 0		Grad 1		Grad 2		Grad 3	
Grad	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)
0	6	84,2	20	54,1	15	39,5	3	60
1	1	5,3	8	21,6	12	31,6	0	0
2	2	10,5	5	13,5	6	15,8	2	40
3	0	0	4	10,8	5	13,2	0	0
Gesamt	19	100	37	100	38	100	5	100

Viskosität	Krepitation							
	Grad 0		Grad 1		Grad 2		Grad 3	
Grad	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)
0	62	59,6	3	42,8	0	0	0	0
1	21	20,2	2	28,6	1	50	0	0
2	14	13,5	0	0	1	50	0	0
3	7	6,7	2	28,6	0	0	0	0
Gesamt	104	100	7	100	2	100	0	0

ANHANG

Viskosität	Röntgen							
	Grad 0		Grad 1		Grad 2		Grad 3	
Grad	Anzahl Gelenke	(%)						
0	25	73,5	24	53,3	11	39,3	5	83,3
1	2	5,9	10	22,2	12	42,9	0	0
2	5	14,7	7	15,6	3	10,7	0	0
3	2	5,9	4	8,9	2	7,1	1	16,7
Gesamt	34	100	45	100	28	100	6	100

Viskosität	Kapsel, Synovialmembran							
	Grad 0		Grad 1		Grad 2		Grad 3	
Grad	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)
0	13	52,0	21	58,3	10	43,5	5	38,5
1	6	24,0	5	13,9	8	34,8	5	38,5
2	5	20,0	6	16,7	2	8,7	2	15,4
3	1	4,0	4	11,1	3	13,0	1	7,6
Gesamt	25	100	36	100	23	100	13	100

Viskosität	Knorpel							
	Grad 0		Grad 1		Grad 2		Grad 3	
Grad	Anzahl Gelenke	(%)						
0	10	45,5	13	61,5	5	50,0	3	50,0
1	6	27,2	2	9,5	2	20,0	2	33,3
2	4	18,2	4	19,0	1	10,0	1	16,7
3	2	9,1	2	9,5	2	20,0	0	0
Gesamt	22	100	21	100	10	100	6	100

Viskosität	Knochen							
	Grad 0		Grad 1		Grad 2		Grad 3	
Grad	Anzahl Gelenke	(%)						
0	15	50,0	13	61,9	8	50,0	6	54,5
1	3	10,0	4	19,0	7	43,8	2	18,2
2	8	26,7	3	14,3	0	0	1	9,1
3	4	13,3	1	4,8	1	6,2	2	18,2
Gesamt	30	100	21	100	16	100	11	100

---

Viskosität	Osteoarthritis-Grade					
	Grad 0		Grad 1		Grad 2	
Grad	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)	Anzahl Gelenke	(%)
0	16	100	30	69,8	19	35,2
1	0	0	8	18,6	16	29,6
2	0	0	5	11,6	10	18,5
3	0	0	0	0	9	16,7
Gesamt	16	100	43	100	54	100

**Gesamtzellzahl in der Synovia**

SCHULTERGELENK				
	Anzahl	Min-Max (/µl)	Median	Mittelwert
Gesamt	7	900-4050	1450	1779,29
OCD	6	900-4050	1400	1805
Bizepstendinitis	1	1625	-	-

ELLENBOGENGELLENK				
	Anzahl	Min-Max (/µl)	Median	Mittelwert
Gesamt	22	300-6450	1000	1448,23
FPC	12	300-4350	1000	1433,83
ED	5	480-6450	1100	2126
OCD	4	650-1350	762,5	881,25
IPA	1	500	-	-

KNIEGELENK				
	Anzahl	Min-Max (/µl)	Median	Mittelwert
Gesamt	68	100-8000	1037,5	1650,53
Ruptur Lcc	59	100-7825	1025	1536,46
Patellaluxation	8	150-3750	962,5	1315,63
Gonitis	1	8000	-	-

Lahmheit	Anzahl Proben	Min-Max (/µl)	Median	Mittelwert
Grad 0	2	650-756	703	703
Grad 1	39	150-6450	1050	1564,64
Grad 2	34	100-7825	1050	1361,62
Grad 3	16	150-4800	1650	1785
Grad 4	6	275-8000	937	2758

Gelenkschmerz	Anzahl Proben	Min-Max (/µl)	Median	Mittelwert
Grad 0	8	900-3481	1712,5	1748,25
Grad 1	57	100-5000	800	1286,51
Grad 2	27	150-7825	1350	1959,26
Grad 3	5	275-8000	1300	2655

Gelenkfüllung	Anzahl Proben	Min-Max (/µl)	Median	Mittelwert
Grad 0	10	746-2900	1700	1713,1
Grad 1	37	100-4800	800	1357,03
Grad 2	38	150-7825	1025	1658,45
Grad 3	5	250-8000	850	2135

ANHANG

Krepitation	Anzahl Proben	Min-Max (/µl)	Median	Mittelwert
Grad 0	88	100-8000	1050	1620,31
Grad 1	7	350-2250	775	1118,57
Grad 2	2	150-2925	1537,5	1537,5
Grad 3	0	0	0	0

Röntgen	Anzahl Proben	Min-Max (/µl)	Median	Mittelwert
Grad 0	18	150-4800	875	1231,94
Grad 1	45	100-8000	1400	1818,22
Grad 2	28	275-7825	1050	1555,25
Grad 3	6	350-1525	950	991,67

Kapsel/ Synovialmembran	Anzahl Proben	Min-Max (/µl)	Median	Mittelwert
Grad 0	25	150-6450	800	1301,64
Grad 1	36	100-5000	1325	1461
Grad 2	23	250-7825	1100	2014,94
Grad 3	13	175-8000	1000	1691,15

Knorpel	Anzahl Proben	Min-Max (/µl)	Median	Mittelwert
Grad 0	22	150-3250	1175	1302,95
Grad 1	21	350-4350	800	1142,19
Grad 2	10	550-6450	1350	1760
Grad 3	6	300-5000	1212,5	2042,5

Knochen	Anzahl Proben	Min-Max (/µl)	Median	Mittelwert
Grad 0	30	150-6450	875	1392,37
Grad 1	21	100-5000	1600	1743,1
Grad 2	16	250-7825	812,5	1925,38
Grad 3	11	350-1900	800	965,91

## Myeloperoxidase

SCHULTERGELENK				
	Anzahl	Min-Max (mU/µl)	Median	Mittelwert
Gesamt				
Synovia	7	0,3-17,16	2,0	5,39
Serum	7	4,5-38,3	10,45	13,23
OCD				
Synovia	6	1,39-17,16	3,2	6,24
Serum	6	7,7-38,3	10,67	14,68
Bizepstendinitis				
Synovia	1	0,3	-	-
Serum	1	4,5	-	-

ELLENBOGENGELLENK				
	Anzahl	Min-Max (mU/µl)	Median	Mittelwert
Gesamt				
Synovia	22	0,26-43,03	3,79	8,33
Serum	18	5,51-37,0	19,16	19,34
FPC				
Synovia	12	0,65-26,0	5,59	9,2
Serum	11	9,1-37,0	24,5	21,13
ED				
Synovia	5	0,7-43,03	1,13	9,6
Serum	4	14,8-28,31	21,63	21,59
OCD				
Synovia	4	0,26-14,59	3,7	5,54
Serum	2	5,51-8,13	6,82	6,82
IPA				
Synovia	1	2,66	-	-
Serum	1	15,68	-	-

KNIEGELENK				
	Anzahl	Min-Max (mU/µl)	Median	Mittelwert
Gesamt				
Synovia	68	0-87,62	6,25	11,91
Serum	68	1,16-72,7	16,35	18,96
Ruptur Lcc				
Synovia	59	0-87,62	5,4	10,2
Serum	59	1,16-72,7	15,24	18,55
Patellaluxation				
Synovia	8	1,09-53,31	7,03	15,23
Serum	8	9,9-33,54	19,74	21,18
Gonitis				
Synovia	1	86,5	-	-
Serum	1	25,7	-	-

ANHANG

Lahmheit	Anzahl Proben	Min-Max (mU/µl)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	18	0-25,1	0,85	2,48
Serum	8	1,0-37	14,9	15,45
Grad 1				
Synovia	39	0-53,31	3,96	10,54
Serum	37	1,16-72,7	14,8	17,77
Grad 2				
Synovia	34	0-43,21	3,86	7,27
Serum	33	2,61-61,7	16,7	18,28
Grad 3				
Synovia	16	0,78-87,62	7,62	12,7
Serum	16	7,4-33,54	15,84	17,49
Grad 4				
Synovia	6	3,27-86,5	11	23,43
Serum	6	12,2-57,49	22,36	25,43

Gelenkschmerz	Anzahl Proben	Min-Max (mU/µl)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	24	0-42,7	1,11	3,5
Serum	15	1,0-38,3	14,1	15,45
Grad 1				
Synovia	57	0-53,31	3,61	8,44
Serum	55	1,16-72,7	14,52	17,43
Grad 2				
Synovia	27	0,65-87,62	7,49	13,48
Serum	25	5,51-61,7	18,29	21,59
Grad 3				
Synovia	5	0,9-86,5	9,1	23,46
Serum	5	7,4-25,7	21	17,32

Gelenkfüllung	Anzahl Proben	Min-Max (mU/µl)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	19	0,13-42,7	1,5	6,63
Serum	15	7,6-57,49	18,1	21,17
Grad 1				
Synovia	37	0-27,2	4,62	7,88
Serum	34	1,16-72,7	16,35	17,88
Grad 2				
Synovia	38	0,7-87,62	4,81	12,96
Serum	37	4,65-44,86	4,65	19,48
Grad 3				
Synovia	5	0-86,5	2,09	18,59
Serum	5	5,66-25,7	11,6	13,07

ANHANG

Krepitation	Anzahl Proben	Min-Max (mU/µl)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	104	0-87,62	3,59	9,24
Serum	91	1,0-72,7	15,7	18,38
Grad 1				
Synovia	7	0,78-10,8	4,22	4,47
Serum	7	1,16-37,31	11,76	14,99
Grad 2				
Synovia	2	0,9-53,31	27,11	27,11
Serum	2	7,4-31,94	19,67	19,67
Grad 3				
Synovia	0	-	-	-
Serum	0	-	-	-

Röntgen	Anzahl Proben	Min-Max (mU/µl)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	34	0-53,31	2,1	7,3
Serum	25	1,0-57,49	14,52	17,29
Grad 1				
Synovia	45	0-86,5	4,1	9,66
Serum	42	1,16-72,7	17,5	18,76
Grad 2				
Synovia	28	0-87,62	3,79	11,59
Serum	27	4,21-44,86	12,8	17,76
Grad 3				
Synovia	6	0,78-14,59	4,88	6,56
Serum	6	5,66-37,31	20,67	19,5

Kapsel/ Synovialmembran	Anzahl Proben	Min-Max (mU/µl)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	25	0,26-53,31	7,29	11,78
Serum	23	2,61-57,49	15,68	18,67
Grad 1				
Synovia	36	0-45,2	5,14	8,42
Serum	35	4,21-72,7	17,28	19,83
Grad 2				
Synovia	23	0-43,21	4,62	9,19
Serum	22	7,4-37,31	18,37	18,5
Grad 3				
Synovia	13	0,78-87,62	3,57	17,06
Serum	13	1,16-61,7	10,45	15,38

ANHANG

Knorpel	Anzahl Proben	Min-Max (mU/μl)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	22	0-87,62	5,99	13,99
Serum	22	4,65-61,7	16,84	19,88
Grad 1				
Synovia	21	0,26-25,1	3,0	5,29
Serum	18	2,61-38,3	15,7	18,46
Grad 2				
Synovia	10	0-43,03	3,67	8,11
Serum	10	1,16-26,28	14,09	14,91
Grad 3				
Synovia	6	2,0-12,3	3,48	4,92
Serum	5	11,03-44,86	16,84	22,41

Knochen	Anzahl Proben	Min-Max (mU/μl)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	30	0,65-45,2	4,31	10,4
Serum	29	5,51-61,7	17,71	19,57
Grad 1				
Synovia	21	0,26-42,7	7,75	8,82
Serum	20	2,61-44,86	13,14	16,13
Grad 2				
Synovia	16	0-22,13	3,71	6,73
Serum	15	4,21-33,54	12,8	16,22
Grad 3				
Synovia	11	0-87,62	3,61	11,51
Serum	11	1,16-42,78	17,28	18,60

**C-reaktives Protein**

SCHULTERGELENK				
	Anzahl	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Gesamt				
Synovia	6	0-4,12	0,31	0,98
Serum	5	0,51-11,44	0,92	3,0
OCD				
Synovia	5	0-4,12	0,56	1,17
Serum	4	0,52-11,44	1,27	3,62
Bizepstendinitis				
Synovia	1	0	-	-
Serum	1	0,51	-	-

ELLENBOGENGELLENK				
	Anzahl	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Gesamt				
Synovia	11	0-2,6	0,7	0,44
Serum	9	0,05-25,63	0,67	3,98
FPC				
Synovia	4	0-0,18	0,04	0,06
Serum	4	0,27-0,77	0,56	0,54
ED				
Synovia	4	0-2,6	0,67	0,98
Serum	3	0,5-25,63	2,26	9,46
OCD				
Synovia	2	0-0	0	0
Serum	1	0,05	-	-
IPA				
Synovia	1	0,69	-	-
Serum	1	5,2	-	-

KNIEGELENK				
	Anzahl	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Gesamt				
Synovia	48	0-42,83	0,48	2,44
Serum	45	0-75,01	1,86	4,48
Ruptur Lcc				
Synovia	42	0-23,65	0,54	1,74
Serum	40	0-19,06	1,84	2,96
Patellaluxation				
Synovia	5	0,09-0,43	0,18	0,23
Serum	4	0,42-4,28	1,87	2,11
Gonitis				
Synovia	1	42,83	-	-
Serum	1	75,01	-	-

ANHANG

Lahmheit	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	9	0-0,39	0	0,1
Serum	7	0,44-5,81	1,12	1,91
Grad 1				
Synovia	24	0-4,12	0,22	0,67
Serum	21	0,05-11,44	1,61	2,38
Grad 2				
Synovia	23	0-23,65	0,41	2,06
Serum	21	0-25,63	1,81	4,38
Grad 3				
Synovia	11	0-1,22	0,5	0,53
Serum	11	0,24-5,2	0,67	1,63
Grad 4				
Synovia	6	0,08-42,83	1,43	9,7
Serum	5	0,41-75,01	7,25	18,45

Gelenkschmerz	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	15	0-4,12	0,17	0,55
Serum	12	0,5-11,44	2,18	2,9
Grad 1				
Synovia	36	0-23,65	0,3	1,4
Serum	33	0-19,06	1,28	2,69
Grad 2				
Synovia	17	0-12,63	0,77	1,57
Serum	15	0,24-25,63	2,3	4,27
Grad 3				
Synovia	5	0-42,83	0,09	8,61
Serum	5	0,3-75,01	0,67	15,51

Gelenkfüllung	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	14	0-2,66	0,04	0,37
Serum	13	0,27-8,5	1,12	2,06
Grad 1				
Synovia	19	0-23,65	0,34	2,35
Serum	18	0,05-7,25	1,3	2,33
Grad 2				
Synovia	27	0-7,98	0,41	0,1
Serum	24	0-25,63	1,57	3,82
Grad 3				
Synovia	5	0-42,83	0,6	9,14
Serum	4	0,25-75,01	4,39	21,01

ANHANG

Krepitation	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	66	0-42,83	0,33	1,91
Serum	58	0-75,01	1,71	4,4
Grad 1				
Synovia	5	0-0,98	0,52	0,45
Serum	5	0,11-4,66	1,19	1,78
Grad 2				
Synovia	2	0,09-0,09	0,09	0,09
Serum	2	0,42-0,67	0,55	0,55
Grad 3				
Synovia	-	-	-	-
Serum	-	-	-	-

Röntgen	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	22	0-23,65	0,28	2,43
Serum	18	0-16,07	1,22	3,08
Grad 1				
Synovia	26	0-42,83	0,5	2,52
Serum	25	0,06-75,01	1,61	6,4
Grad 2				
Synovia	19	0-1,52	0,16	0,41
Serum	16	0,25-11,44	1,93	2,57
Grad 3				
Synovia	6	0-0,98	0,15	0,31
Serum	6	0,05-2,63	1,54	1,47

Kapsel/ Synovialmembran	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	16	0-12,63	0,22	2,02
Serum	15	0,05-19,06	1,19	4,26
Grad 1				
Synovia	21	0-23,65	0,23	1,6
Serum	19	0,06-4,68	1,11	1,52
Grad 2				
Synovia	17	0-2,6	0,45	0,76
Serum	14	0,25-25,63	2,06	4,49
Grad 3				
Synovia	11	0-42,83	0,73	4,45
Serum	11	0-75,01	2,3	8,82

ANHANG

Knorpel	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	15	0-7,98	0,37	1,0
Serum	15	0-19,06	1,09	2,85
Grad 1				
Synovia	15	0-4,12	0,11	0,77
Serum	13	0,05-25,63	1,19	4,13
Grad 2				
Synovia	5	0-1,08	0,56	0,48
Serum	5	0,5-4,6	2,26	2,1
Grad 3				
Synovia	5	0-0,056	0,18	0,23
Serum	4	0,67-2,0	1,19	1,26

Knochen	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	17	0-12,63	0,41	2,02
Serum	17	0,05-19,06	1,1	4,42
Grad 1				
Synovia	17	0-23,65	0,23	1,7
Serum	16	0-4,68	1,02	1,49
Grad 2				
Synovia	9	0-2,36	0,2	0,72
Serum	7	0,25-6,48	2,3	2,65
Grad 3				
Synovia	10	0-1,52	0,57	0,57
Serum	10	0,67-6,84	2,48	2,58

## Hyaluronsäure

SCHULTERGELENK				
	Anzahl	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Gesamt				
Synovia	5	568,6-2000,9	1624,78	1297,94
Serum	5	0,091-0,227	0,15	0,152
OCD				
Synovia	4	568,62-1636,53	1141,8	1122,19
Serum	4	0,091-0,227	0,167	0,163
Bizepstendinitis				
Synovia	1	2000,9	-	-
Serum	1	0,109	-	-

ELLENBOGENGELLENK				
	Anzahl	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Gesamt				
Synovia	9	348,2-1915,8	1273,31	1248,16
Serum	7	0,024-0,6	0,076	0,15
FPC				
Synovia	2	965,69-1869,46	1417,57	1417,57
Serum	2	0,091-0,129	0,11	0,11
ED				
Synovia	4	348,24-1878	1026,81	1069,96
Serum	3	0,024-0,076	0,053	0,051
OCD				
Synovia	2	1580-1915,77	1747,89	1747,89
Serum	1	0,074	-	-
IPA				
Synovia	1	622,72	-	-
Serum	1	0,6	-	-

KNIEGELENK				
	Anzahl	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Gesamt				
Synovia	43	192,8-1656	775,65	798,7
Serum	40	0,017-0,501	0,082	0,106
Ruptur Lcc				
Synovia	39	192,8-1474,07	772,94	776,24
Serum	37	0,017-0,338	0,081	0,098
Patellaluxation				
Synovia	4	559,72-1656	927,69	1017,77
Serum	3	0,035-0,501	0,082	0,206

ANHANG

Lahmheit	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	11	1089,9-2819,5	1849,17	1863,61
Serum	8	0,067-0,241	0,125	0,127
Grad 1				
Synovia	20	316-2000,9	1014,68	1085,59
Serum	18	0,0167-0,338	0,095	0,113
Grad 2				
Synovia	21	489,4-1878	927,5	941,28
Serum	19	0,021-0,501	0,076	0,107
Grad 3				
Synovia	10	192,8-1079,74	591,47	582,33
Serum	10	0,035-0,6	0,074	0,125
Grad 4				
Synovia	5	394,9-901	428,28	579,21
Serum	4	0,045-0,327	0,103	0,145

Gelenkschmerz	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	15	658,83-2819,54	1777,21	1652,06
Serum	12	0,035-0,241	0,117	0,118
Grad 1				
Synovia	34	192,8-2000,9	821,22	971,6
Serum	31	0,0167-0,6	0,083	0,12
Grad 2				
Synovia	15	212,18-1273,31	624,44	678,22
Serum	13	0,024-0,338	0,067	0,094
Grad 3				
Synovia	3	398,91-1337,11	973,09	903,04
Serum	3	0,081-0,327	0,138	0,182

Gelenkfüllung	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	15	897,61-2819,54	1522,51	1540,41
Serum	13	0,035-0,241	0,085	0,01
Grad 1				
Synovia	17	192,8-1915,77	772,94	930,68
Serum	16	0,017-0,501	0,076	0,101
Grad 2				
Synovia	23	212,18-1656	650,45	730,5
Serum	20	0,021-0,601	0,082	0,128
Grad 3				
Synovia	4	319,07-112,99	906,4	813,21
Serum	3	0,045-0,338	0,048	0,144

ANHANG

Krepitation	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	61	192,8-2819,54	978,09	1067,65
Serum	53	0,017-0,6	0,089	0,12
Grad 1				
Synovia	5	315,96-1474,07	662,45	782,99
Serum	5	0,052-0,18	0,083	0,098
Grad 2				
Synovia	1	1656	-	-
Serum	1	0,082	-	-
Grad 3				
Synovia	-	-	-	-
Serum	-	-	-	-

Röntgen	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	23	192,8-2819,54	1044,43	1210,66
Serum	19	0,017-0,501	0,082	0,117
Grad 1				
Synovia	24	308,52-1878	946,57	868,31
Serum	23	0,024-0,338	0,081	0,095
Grad 2				
Synovia	17	212,18-2000,9	984,94	1101,97
Serum	15	0,048-0,6	0,118	0,153
Grad 3				
Synovia	3	662,45-1580	1037,15	1093,2
Serum	2	0,045-0,18	0,112	0,112

Kapsel/ Synovialmembran	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	22	315,96-2819,54	1569,22	1363,4
Serum	19	0,024-0,6	0,083	0,147
Grad 1				
Synovia	17	192,8-1624,78	973,09	878,71
Serum	16	0,017-0,138	0,0817	0,077
Grad 2				
Synovia	14	319,07-1273,31	678,41	729,18
Serum	11	0,048-0,337	0,146	0,153
Grad 3				
Synovia	10	212,18-1474,07	859,8	818,51
Serum	10	0,021-0,12	0,085	0,08

ANHANG

Knorpel	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	20	212,18-2819,54	937,05	1047,39
Serum	18	0,021-0,6	0,082	0,127
Grad 1				
Synovia	13	489,37-2000,9	1226,15	1195,55
Serum	12	0,053-0,184	0,1	0,11
Grad 2				
Synovia	5	348,24-1878	1474,07	1212,39
Serum	5	0,024-0,095	0,091	0,076
Grad 3				
Synovia	3	568,62-984,93	780,31	777,95
Serum	2	0,118-0,227	0,173	0,173

Knochen	Anzahl Proben	Min-Max (µg/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	20	315,96-2819,54	849,5	1068,3
Serum	19	0,024-0,6	0,089	0,1363
Grad 1				
Synovia	16	192,8-2000,9	946,58	951,65
Serum	16	0,021-0,184	0,082	0,082
Grad 2				
Synovia	8	319,07-1337,11	1040,79	893,48
Serum	6	0,017-0,338	0,054	0,107
Grad 3				
Synovia	7	212,18-1474,07	753,92	866,06
Serum	7	0,076-0,18	0,095	0,109

**C2C**

SCHULTERGELENK				
	Anzahl	Min-Max (ng/ml)	Median	Mittelwert
Gesamt				
Synovia	6	116-272	161,5	180,33
Serum	5	251-412	301	322,6
OCD				
Synovia	5	116-272	148	181,4
Serum	4	251-412	295	313,25
Bizepstendinitis				
Synovia	1	175	-	-
Serum	1	360	-	-

ELLENBOGENGELLENK				
	Anzahl	Min-Max (ng/ml)	Median	Mittelwert
Gesamt				
Synovia	11	110-264	193	196,55
Serum	9	271-472	327	339,44
FPC				
Synovia	4	165-264	241	227,75
Serum	4	306-359	330	331,25
ED				
Synovia	4	117-239	189	183,5
Serum	3	271-472	359	367,33
OCD				
Synovia	2	110-149	129,5	129,5
Serum	1	301	-	-
IPA				
Synovia	1	258	-	-
Serum	1	327	-	-

KNIEGELENK				
	Anzahl	Min-Max (ng/ml)	Median	Mittelwert
Gesamt				
Synovia	48	63-401	259	256,15
Serum	45	178-501	293	298,67
Ruptur Lcc				
Synovia	42	63-401	260	260,52
Serum	40	178-501	291	298,8
Patellaluxation				
Synovia	5	104-292	252	231
Serum	4	267-352	315,5	312,5
Gonitis				
Synovia	1	198	-	-
Serum	1	247	-	-

ANHANG

Lahmheit	Anzahl Proben	Min-Max (ng/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	9	101-188	165	154,67
Serum	7	288-479	348	378,86
Grad 1				
Synovia	24	110-357	226,5	219,21
Serum	21	251-472	306	323,57
Grad 2				
Synovia	23	92-361	259	253
Serum	21	178-489	274	292,76
Grad 3				
Synovia	11	161-401	259	264,73
Serum	11	220-398	276	293,45
Grad 4				
Synovia	6	63-356	246,5	230,33
Serum	5	247-501	293	326,2

Gelenkschmerz	Anzahl Proben	Min-Max (ng/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	15	101-236	176	173,07
Serum	12	251-479	342	347,5
Grad 1				
Synovia	36	104-401	259	252,33
Serum	33	178-489	302	306,67
Grad 2				
Synovia	17	63-357	239	227,53
Serum	15	243-472	282	302,4
Grad 3				
Synovia	5	173-356	211	243,6
Serum	5	247-501	302	325,6

Gelenkfüllung	Anzahl Proben	Min-Max (ng/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	14	101-280	186,5	198,14
Serum	13	276-465	325	338,08
Grad 1				
Synovia	19	110-401	271	269,11
Serum	18	243-398	301,5	306,39
Grad 2				
Synovia	27	63-356	252	236,07
Serum	24	178-501	296,5	306,17
Grad 3				
Synovia	5	104-357	198	232,6
Serum	4	247-336	260,5	276

ANHANG

Krepitation	Anzahl Proben	Min-Max (ng/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	66	63-401	231	226,02
Serum	58	178-501	302	316,53
Grad 1				
Synovia	5	229-330	280	277,2
Serum	5	253-357	320	307,6
Grad 2				
Synovia	2	211-252	231,5	231,5
Serum	2	253-304	278,5	278,5
Grad 3				
Synovia	0	-	-	-
Serum	0	-	-	-

Röntgen	Anzahl Proben	Min-Max (ng/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	22	101-401	242	226,68
Serum	18	178-489	326	338,22
Grad 1				
Synovia	26	63-357	259	254,38
Serum	25	215-472	302	301,76
Grad 2				
Synovia	19	92-356	199	200,63
Serum	16	247-501	301,5	309,5
Grad 3				
Synovia	6	110-292	243,5	225,5
Serum	6	248-359	319,5	311,67

Kapsel/ Synovialmembran	Anzahl Proben	Min-Max (ng/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	16	110-330	234	219,31
Serum	15	215-489	306	323,93
Grad 1				
Synovia	21	104-401	264	262,05
Serum	19	231-412	307	314,95
Grad 2				
Synovia	17	63-357	228	227,53
Serum	14	247-501	301,5	309,79
Grad 3				
Synovia	11	161-355	258	241,73
Serum	11	178-322	276	266,18

ANHANG

Knorpel	Anzahl Proben	Min-Max (ng/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	15	161-356	258	264,2
Serum	15	178-501	282	288
Grad 1				
Synovia	15	110-352	233	221
Serum	13	251-360	301	301,62
Grad 2				
Synovia	5	138-297	229	217,6
Serum	5	283-472	359	373
Grad 3				
Synovia	5	117-272	223	215
Serum	4	289-359	322,5	323,25

Knochen	Anzahl Proben	Min-Max (ng/ml)	Median	Mittelwert
Grad 0				
Synovia	17	110-356	252	248,94
Serum	17	215-501	304	323,53
Grad 1				
Synovia	17	148-401	258	249,65
Serum	16	178-398	291	292,56
Grad 2				
Synovia	9	63-357	223	219,56
Serum	7	248-382	302	299,71
Grad 3				
Synovia	10	161-355	261	259,8
Serum	10	262-359	301,5	309,7

## Publikationsverzeichnis

- Plickert, H., Bondzio, A., Einspanier, R., Lotz, F., Brunnberg, L.  
C-reaktives Protein und Myeloperoxidase in Serum und Synovia bei Hunden mit Osteoarthritis  
2. Jahrestagung der DVG-Fachgruppe Chirurgie, 22.10.2010, Düsseldorf  
Proceedings in Kleintierpraxis 56 (2), 96; Vortrag
- Plickert, H.D., Bondzio, A., Einspanier, R., Brunnberg, L.  
Hyaluronsäure-Konzentrationen in Synovia bei unterschiedlicher Ausprägung der caninen Osteoarthritis  
57. Jahreskongress der DGK-DVG 10.-13.11.2011, Berlin  
Proceedings in Kleintierpraxis 57 (2), 99; Vortrag

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Leo Brunberg für die Überlassung des spannenden Themas, seine jederzeit gewährte freundliche Unterstützung und die sorgfältige Korrektur der Arbeit. Darüber hinaus möchte ich mich für die Ermöglichung verschiedener Projekte und die intensive und äußerst lehrreiche Zeit an der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere bedanken. Mein Dank gilt dabei auch Frau Prof. Dr. Barbara Kohn.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Dr. Ralf Einspanier bedanken, der die Kooperation mit dem Institut für Veterinär-Biochemie ermöglichte, und mir stets mit freundlicher Unterstützung begegnete. Ich danke allen Mitarbeitern der Veterinär-Biochemie, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, allen voran Frau Dr. Angelika Bondzio, die mir immer mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat.

Frau Dr. Marie-Luise Wippermann und den Mitarbeitern der TECOmedical GmbH gilt mein Dank für die Unterstützung bei der Bestimmung von C-reaktivem Protein, C2C und Hyaluronsäure.

Herrn Fabian Lotz vom Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung danke ich für die Einarbeitung in die statistischen Methoden und die Hilfestellung bei der Auswertung meiner Daten.

Für die Mithilfe bei der Probenentnahme und -aufbereitung bedanke ich mich herzlichst bei den OP-Tierpflegern Frau Godela von Krieger und Herrn Peter Potrykus, sowie den Mitarbeiterinnen des Labors Frau Hannelore Carow, Frau Gabriele Classe, Frau Anette Mittag und Frau Petra Schröder.

Ganz besonders möchte ich mich bei allen Tierärzten und Mitarbeitern der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere für die gute und freundschaftliche Zusammenarbeit bedanken.

Mein großer Dank gilt auch meinem Freundeskreis, insbesondere Kathrin, Nora, Maike, Kristina und Sara, für ihre stets offenen Ohren und motivierenden Worte.

Von ganzem Herzen danke ich schließlich meinen Eltern, meiner Schwester Julia und Piet für ihre liebevolle Unterstützung und Hilfe während der Zeit des Studiums und der Anfertigung der Dissertation.

Danke!

## Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, Hanna Dorothee Plickert, die vorliegende Dissertation selbständig, sowie nur mit den in dieser Arbeit aufgeführten Quellen und Hilfen verfasst zu haben. Diese Arbeit wurde noch in keinem früheren Promotionsverfahren angenommen oder abgelehnt.

Berlin, den 12.03.2012

Hanna Dorothee Plickert