

## 6. Zusammenfassung

Die Osteoarthritis (OA) ist eine chronische primär nicht entzündliche Gelenkerkrankung mit multifaktorieller Ätiologie. OA ist die Folge von abnormen Streß auf einen gesunden Gelenkknorpel, z.B. nach Trauma, Luxation, Fraktur, oder Folge einer physiologischen Kraftereinwirkung auf ein abnormales Gelenk, z.B. bei Hüftdysplasie (HD), Osteochondrosis dissecans (OCD), fragmentiertem Processus Coronoideus (FPC) oder isoliertem Processus anconaeus (IPA). Sekundäre entzündliche Reaktionen folgen und erklären so die Bezeichnung OA.

Untersucht wurde, ob die Myeloperoxidase (MPO)-Aktivität mit dem Grad der osteoarthritischen Veränderungen und der Ausprägung klinischer Symptome korreliert. Zusätzlich wurde die MPO-Aktivität in Synovia und Serum bestimmt.

Synovia- und Serumproben wurden von 137 an OA erkrankten Hunden gewonnen und ausgewertet. Die Hunde wurden in Patienten mit OCD/Schultergelenk (n = 12), OCD/Ellenbogengelenk (n = 10), FPC (n = 37), IPA (n = 3), HD (n = 13), Kreuzbandruptur (KBR/Lahmheitsdauer < 5 Tage, n = 23), KBR/Lahmheitsdauer > 5 Tage (n = 21), Patellaluxation (n = 5) sowie Kontrolltiere (n = 11) gruppiert.

Bei den Kontrolltieren konnten klinisch und röntgenologisch keine Hinweise einer orthopädischen Funktionsstörung oder Zeichen einer OA gefunden werden.

Untersucht wurden das klinische Allgemeinbefinden, die Lahmheitsdauer, speziell der Bewegungsapparat und röntgenologisch die erkrankten Gelenke.

Die gewonnene Synovia wurden makroskopisch beurteilt, die Zahl kernhaltiger Zellen ermittelt und differenziert. Eiweißgehalt, spezifisches Gewicht, Viskosität und MPO-Aktivität wurden bestimmt. Im zeitgleich abgenommenem Serum wurde ebenfalls die MPO-Aktivität gemessen. Die MPO-Werte wurde mittels eines O-Dianisidine-Assays in einer photometrischen Aktivitätsmessung bestimmt.

Sowohl klinische, als auch röntgenologische und operative Befunde wurden je nach Schweregrad in die Grade 0 (osteoarthritisfrei) bis 3 (hochgradige OA) eingeteilt.

Makroskopisch war die Synovia bei Patienten leicht eingetrübt und von geringgradig verminderter Viskosität. Die Zellzahl schwankte zwischen 250 – 4325/ $\mu\text{l}$  (Median: 1380/ $\mu\text{l}$ ), der Anteil mononukleärer Zellen betrug 95 – 99 %. Der Proteingehalt lag zwischen 2,0 – 4,8 g/dl (Median: 3,4 g/dl).

Die Synovia-MPO-Aktivität bei Patienten variierte zwischen 0,23 – 2,88  $\mu\text{U}/200\mu\text{l}$ , die Mediane lagen zwischen 0,74  $\mu\text{U}/200\mu\text{l}$  bis 1,49  $\mu\text{U}/200\mu\text{l}$ . Ein signifikanter Unterschied der MPO-Aktivität in Synovia von Patienten krankheitskorreliert wurde nicht entdeckt.

Kontrolltiere wiesen Synovia-MPO-Werte von 0,02 – 0,23  $\mu\text{U}/200 \mu\text{l}$  bei einem Median von 0,05  $\mu\text{U}/200\mu\text{l}$  auf. Somit bestand in der Synovia von Patienten im Vergleich zu den Kontrolltieren eine signifikant hohe MPO-Aktivität. Die Werte waren 15 bis 30 fach höher als die der Kontrolltiere.

Im Serum lagen MPO-Aktivitäten bei Patienten zwischen 0,88 - 2,26  $\mu\text{U}/200\mu\text{l}$  und bei Kontrolltieren zwischen 0,70 - 1,62  $\mu\text{U}/200\mu\text{l}$ . Eine Korrelation zwischen Synovia-MPO-Aktivität und der im Serum wurde nicht entdeckt.

Die Synovia-MPO-Aktivität korreliert mit einem Synovia-Viskositätsverlust. Ursache ist die Zerstörung von Hyaluronsäure durch Oxidationsprodukte der MPO.

Bei erhöhten Zellzahlen in der Synovia wurden auch höhere MPO-Werte gemessen, da die MPO in der Granula von neutrophilen Granulozyten und Monozyten gespeichert und Ausdruck ihrer Sekretionsaktivität ist.

Eine Korrelation zwischen röntgenologischen sowie intraoperativen makroskopischen Befunden und MPO-Aktivität bei Patienten bestand nicht. Ermittelt wurde ein Zusammenhang zwischen klinischem Erscheinungsbild und Synovia-MPO-Aktivität. Patienten mit klinischem OA Befund Grad 3 hatten eine deutlich höhere Synovia-MPO-Aktivität. Die Synovia-MPO-Aktivität kann als Gradmesser der klinischen Erscheinungsbilder, wie Schmerzhaftigkeit und Funktionsstörung angesehen werden.

## 7. Summary

### **Myeloperoxidase activity in serum and synovia in dogs with osteoarthritis. A prospective study.**

Osteoarthritis (OA) is a chronic primary non-inflammatory joint disease with varying etiologies. OA is caused by unphysiologically increased stress on healthy cartilage, e.g. trauma, luxation and fracture. Another cause is pressure exerted on an anatomically abnormal joint, e.g. hip dysplasia (HD), osteochondritis dissecans (OCD), fragmented coronoid process (FPC) or ununited anconeal process (UAP). Secondary reactions follow and so explain the term OA.

In this study the Myeloperoxidase (MPO) activity was examined and correlated to the degree of osteoarthritic changes and the severity of clinical symptoms. Furthermore the MPO activity of synovia and serum were determined.

Synovia and serum samples were collected and examined from 137 dogs suffering from OA. The dogs were divided into groups of patients suffering from either OCD/Shoulder (n = 12), OCD/Elbow (n = 10), FPC (n = 37), UPA (n = 3), HD (n = 13), Rupture of the cranial cruciate ligament (CCL)/duration of lameness < 5 d (n = 23), CCL/duration of lameness > 5 d (n = 21), Patella Luxation (n = 5) and control group (n = 11). As control group, dogs were used which did not show orthopedic disfunctions or signs of OA in clinical or X-ray examination.

The clinical examination comprised the general condition, duration of lameness, inspection of the musculoskeletal system and X-ray examination of the diseased joint.

The synovia was macroscopically examined, the nucleated cells counted and differentiated. Total protein, viscosity, specific weight and MPO activity were also determined. In the serum the MPO activity was also examined. The MPO activity was assessed by utilising the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-dependent oxidation of O-dianisidine.

Clinical, surgical and X-ray findings were scaled according to the severity of the case, ranging from grade 0 (free) to grade 3 (high-grade OA).

Macroscopically the synovia of all patients was slightly opaque and showed minimally reduced viscosity. The cell count ranged from 250 – 4325/ $\mu\text{l}$  (M: 1380/ $\mu\text{l}$ ), the fraction of mononuclear cells averaged around 97 – 99 %. The amount of total protein was between 2,0 – 4,8 g/dl (M: 3,4 g/dl).

The synovial MPO activity of the patients varied between 0,23 – 2,88  $\mu\text{U}/200\mu\text{l}$ , the median ranged from 0,74  $\mu\text{U}/200\mu\text{l}$  to 1,49  $\mu\text{U}/200\mu\text{l}$ . A significant difference in MPO activity of the synovia between patients with the different diseases could not be determined.

The MPO values of control animals were between 0,02 – 0,23  $\mu\text{U}/200\mu\text{l}$ , the median was 0,05  $\mu\text{U}/200\mu\text{l}$ . Therefore the MPO activity in the synovia of the patients was significantly higher than in the control animals. The values were 15-30 fold higher than those of the control groups.

The MPO activity of the patients in the serum ranged between 0,88 - 2,26  $\mu\text{U}/200\mu\text{l}$  and in the control group between 0,70 - 1,62  $\mu\text{U}/200\mu\text{l}$ . A correlation between MPO activity in the synovia and the serum could not be found.

The synovial MPO activity correlates with a loss of synovial viscosity, which is due to the destruction of hyaluronan by the oxidative products of MPO. Elevated MPO activity was detected during increased cell counts in the synovia. This is a sign of MPO secretion, as MPO is stored in granules of neutrophils or monocytes.

A correlation between X-ray and intraoperative macroscopic findings and MPO activity was not found. Correlations could be found between clinical OA signs and MPO activity in the synovia. Patients with a high grade OA had a strikingly increased synovial MPO activity. Therefore the MPO activity in the synovia can be used as a measurement of clinical features, such as pain and impaired function.