

**Untersuchungen zur Visualisierung von Uratkristallen  
mittels Dunkelfeldradiographie am Tiermodell**

von Nathalie Isabelle Noémie Roiser

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der  
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

**Untersuchungen zur Visualisierung von Uratkristallen  
mittels Dunkelfeldradiographie am Tiermodell**

von Nathalie Isabelle Noémie Roiser

aus München

München 2022

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Lehrstuhl für aviäre Medizin und Chirurgie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. Rüdiger T. Korbel

Angefertigt am Institut für diagnostische und interventionelle Radiologie der  
Technischen Universität München

Mentor: Prof. Dr. Christine Baumgartner

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D .

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Rüdiger Korbel

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Roswitha Dorsch

Tag der Promotion: 30. Juli 2022

**Meiner Familie**



# INHALTSVERZEICHNIS

<b>I. EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>II. LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>3</b>
<b>1. Gicht .....</b>	<b>3</b>
1.1. Gicht in der Humanmedizin .....	3
1.1.1. Epidemiologie .....	3
1.1.2. Risikofaktoren.....	4
1.1.3. Klinisches Bild .....	5
1.2. Gicht in der Kleintiermedizin.....	6
1.2.1. Epidemiologie .....	6
1.2.2. Wirtschaftliche Bedeutung.....	7
1.2.3. Pathophysiologie .....	8
1.2.3.1. Nukleinsäurestoffwechsel.....	8
1.2.3.2. Harnsäureausscheidung.....	9
1.2.4. Ursachen und Risikofaktoren .....	10
1.2.5. Pathophysiologie der Gelenkgicht .....	12
1.2.6. Klinisches Bild .....	14
1.3. Diagnostik.....	14
1.3.1. Klinische Diagnose .....	14
1.3.2. Labordiagnostik .....	15
1.3.2.1. Hämatologie Vögel/Reptilien .....	15
1.3.2.2. Hämatologie Mensch.....	16
1.3.2.3. Direkter Nachweis von Mononatrium-Kristallen.....	16
1.3.2.4. Murexidprobe .....	17
1.3.3. Bildgebung .....	17
1.3.3.1. Viszeralgicht .....	17
1.3.3.2. Gelenkgicht.....	18
1.3.3.2.1. Konventionelles Röntgen.....	18
1.3.3.2.2. Ultraschall.....	19
1.3.3.2.3. Dual-Energy-Computertomographie.....	19
1.3.4. Pathologische Untersuchung in der Vogel- und Reptilienmedizin	20
1.3.4.1. Pathologische Veränderungen bei Gicht .....	20
1.3.4.2. Histopathologische Veränderungen .....	21

---

1.4.	Therapie .....	21
<b>2.</b>	<b>Einführung in die Dunkelfeldbildgebung .....</b>	<b>24</b>
2.1.	Physikalische Grundlagen .....	24
2.2.	Talbot-Lau-Gitterinterferometer .....	24
2.3.	Anwendungsbereiche .....	27
<b>3.</b>	<b>Zielsetzung und Fragestellungen .....</b>	<b>30</b>
<b>III. EXEMPLARISCHE DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE .....</b>		<b>31</b>
<b>IV. PUBLIKATIONEN.....</b>		<b>34</b>
1.	<b>X-ray dark-field radiography: potential for visualization of monosodium urate deposition .....</b>	<b>34</b>
2.	<b>X-ray dark-field radiography for in situ gout diagnosis by means of an ex vivo animal study .....</b>	<b>40</b>
3.	<b>Die Dunkelfeld-Radiographie - ein neuer Weg zur Diagnostik von Gichterkrankungen bei Vögeln und Reptilien? .....</b>	<b>52</b>
	<b>(X-ray dark-field radiography: potential for diagnosing gout in exotic pets?)</b>	<b>52</b>
<b>V. DISKUSSION.....</b>		<b>55</b>
1.	<b>Nachweis der Durchführbarkeit am Mausmodell .....</b>	<b>55</b>
1.1.	MNU-Kristall Herstellung .....	55
1.2.	MNU-Kristall Injektion .....	55
2.	<b>Etablierung eines Tiermodells .....</b>	<b>56</b>
2.1.	Tierzahl.....	56
2.2.	Studientiere .....	57
2.3.	Technischer Versuchsaufbau .....	58
3.	<b>Auswertung der Bilddatensätze.....</b>	<b>59</b>
4.	<b>Vorteile und Anwendbarkeit der gitterbasierten Dunkelfeldradiographie .....</b>	<b>60</b>
4.1.	Vergleich mit bisherigen diagnostischen Verfahren in Bezug auf die Gichtdiagnostik.....	60
4.2.	Potenzial der Dunkelfeldradiographie im Hinblick auf klinische Anwendungen .....	63

---

4.3.	Mögliche Anwendung in der Tiermedizin.....	63
<b>VI.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>65</b>
<b>VII.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>67</b>
<b>VIII.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>69</b>
<b>IX.</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>83</b>
1.	Zusatzmaterial zur Studie am Mausmodell .....	83
2.	Zusatzmaterial zur Studie an Vögeln und Reptilien .....	86
3.	Einzelergebnisse der Studientiere (Fallprotokolle) .....	88
3.1.	Übersichtstabelle über die Studientiere und ihre Befunde.....	107
4.	Abbildungsverzeichnis .....	111
5.	Tabellenverzeichnis .....	112
<b>X.</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>113</b>

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

ANV	Avian Nephritis Virus (aviäres Nephritisvirus)
COX-2	Cyclooxygenase 2
CT	Computertomographie
CAstV	Chicken Astrovirus (Astrovirus der Hühnervögel)
DECT	Dual Energy Computer Tomographie
DF	Dunkelfeld
DFR	Dunkelfeldradiographie
DCS	Double Contour Sign des Gelenkknorpels
EULAR	European League Against Rheumatism
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HK	Ration mit hohem Kalziumgehalt
HKHP	Ration mit hohem Kalzium- und hohem Proteingehalt
HP	Ration mit hohem Proteingehalt
IL-8	Interleukin 8
iNOS	Induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase
MNU	Mononatriumurat
MRT	Magnetresonanztomographie

NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
NSAID	Nicht steroidales Anti-phlogistikum
NET	Neutrophile extracellular traps (Neutrophile extrazelluläre Fallen)
RANK	Receptor Activator of nuclear factor- $\kappa$ B)
US	United States (Vereinigte Staaten von Amerika)

## I. EINLEITUNG

Erhöhte Serumharnsäurelevel (Hyperurikämie) können zur Ablagerung von Harnsäurekristallen auf viszeralen Häuten und in und um periphere Gelenke führen. Ist dies der Fall, spricht man von Viszeral- oder Gelenkgicht (Krautwald-Junghanns, 2011). In der Tiermedizin kommt dieses Krankheitsbild nur bei urikotelen Tieren vor. Diese scheiden ihre giftigen Stickstoffverbindungen des Stoffwechsels in Form von Harnsäure aus. Zu diesen Spezies gehören beispielsweise Reptilien, Vögel und Insekten (Mader, 2006). Auch Menschen bauen Nukleinsäuren zum Teil zu Harnsäure ab und können daher an Gicht erkranken. Sie wird in der Humanmedizin als entzündliche Arthritis, welche durch die Ablagerung von Kristallen aus Mononatriumurat entsteht, definiert (Perez-Ruiz et al., 2015). Am häufigsten ist das erste Metatarsophalangealgelenk betroffen, weswegen die Krankheit von den antiken Griechen *Podagra* (pous = Fuß, *ágra* = Fessel) genannt wurde (Porter & Rousseau, 2000). Gicht und die ursächliche Hyperurikämie spielen in der Humanmedizin eine wichtige Rolle, da sie mit einer Prävalenz von 0,1 % bis 10 % die häufigste Form der Arthritis darstellt und unbehandelt zu Gelenkszerstörung führen kann (Kuo et al., 2015). Außerdem stellt die Hyperurikämie wiederum einen Risikofaktor für Zivilisationskrankheiten wie Herz-Kreislauf-Erkrankungen, das metabolische Syndrom und Nierenerkrankungen dar (Kuo et al., 2015). In der Tiermedizin ist Gicht zumeist die Folge von fütterungsbedingten, bei verschiedenen Zier- und Greifvogelspezies jedoch auch erblich bedingten Nierenerkrankungen und Haltungsfehlern. Sie kann ein Begleitsymptom von chronischen Infektionserkrankungen (Mykobakteriose) u. a. bei Hühnervögeln sein und führt zu plötzlichen Todesfällen (Viszeralgicht) und schmerzhaften Malformationen der Gelenke, die meist nicht mehr reversibel sind (Lumeij, 1994; Mader, 2006; Siegmann & Neumann, 2012).

Aktuell ist der Goldstandard für die Diagnose einer gichtinduzierten Arthritis die Arthrozentese und die anschließende Identifizierung von Harnsäurekristallen unter dem Lichtmikroskop (Pascart & Lioté, 2018) oder die Durchführung einer Murexidprobe von Punktaten (Gylstorff & Grimm, 1998). Andere Methoden der Diagnostik sind bildgebende Verfahren, wie beispielsweise das konventionelle Röntgen, die Ultraschalluntersuchung, die Computer Tomographie

(CT) und die Dual Energy CT (DECT).

Ein noch relativ neues bildgebendes Verfahren ist die Dunkelfeldradiographie (DFR). Bei diesem Verfahren werden Schwankungen der Röntgenstrahlung durch ein Gitterinterferometer sichtbar gemacht. Da Röntgenstrahlen wie sichtbares Licht einen Wellencharakter besitzen, können diese an Faserstrukturen und Porositäten eine Streuung erfahren. Durch die Streuung verändern sich die periodischen Schwankungen der Röntgenstrahlen, was auf dem Dunkelfeldbild wiederum als Signalverlust sichtbar wird. Durch diese Methode können kleinste Strukturveränderungen im Mikrometerbereich detektiert werden (Malecki et al., 2012). Das Potential dieser Bildgebung wurde in den letzten Jahren in verschiedenen diagnostischen Bereichen untersucht. Vorteile zeigten sich insbesondere bei der Diagnostik von Lungenerkrankungen (Scherer et al., 2017), aber auch die Identifizierung und Unterscheidung von Nierensteinen konnte bereits gezeigt werden (Scherer et al., 2015).

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob Harnsäurekristalle aufgrund ihrer mikroskopischen Nadelstruktur ein Dunkelfeldsignal erzeugen und ob dieses Signal auch in biologischem Gewebe noch ausreichend stark ist. Im Anschluss daran wurde im Tiermodell untersucht, ob die Dunkelfeldradiographie zur Diagnostik der Gichtkrankung bei Vögeln und Reptilien angewendet werden kann und als neues, nicht invasives bildgebendes Verfahren für die klinische Gichtdiagnostik in der Humanmedizin geeignet ist.

## **II. LITERATURÜBERSICHT**

### **1. Gicht**

In der Humanmedizin versteht man unter Gicht eine entzündliche Arthritis, welche durch die Ablagerung von Kristallen aus Mononatriumurat (MNU) aufgrund einer Hyperurikämie entsteht (Perez-Ruiz et al., 2015).

Bei Vögeln und Reptilien spricht man von Gicht, wenn es aufgrund einer Hyperurikämie zur Ausfällung dieser Kristalle auf und in viszeralen Geweben und an Gelenken kommt (Krautwald-Junghanns, 2011). Dabei wird zwischen viszeraler Gicht und Gelenkgicht unterschieden. Nur bei letzterer kommt es, wie beim Menschen, zu einer Entzündungsreaktion (Gylstorff & Grimm, 1998; Siller, 1981). Eine Ausnahme stellt die Pericarditis urica dar, bei der es aufgrund einer Fremdkörperreaktion zu einer Entzündung im Epi- und Perikard und einer nachfolgenden Verdickung und Versteifung dieser Strukturen kommt (Wedel, 2004).

Als Gichttophi werden die lokalen, rundlichen Kristallablagerungen im Gewebe bezeichnet. Sie machen das klinisch sichtbare Bild der Gelenkgicht aus (Krenn & Mohr, 2016).

Neben der Gicht gibt es noch andere Kristallarthropathien, welche nach der Art der abgelagerten Kristalle unterschieden werden und wichtige Differentialdiagnosen darstellen. Hierzu zählen die Kalziumpyrophosphat-Arthritis, Erkrankung mit basischer Kalziumphosphat-Kristallablagerung (Milwaukee-Schulter-Syndrom und akute Pseudo-Podagra) und die Kalziumoxalat-Kristallarthropathie (Edwards, 2018). Weitere Differentialdiagnosen für Arthritiden stellen bakterielle Infektionen und rheumatische Erkrankungen dar (Hügler & Krenn, 2016).

#### **1.1. Gicht in der Humanmedizin**

##### **1.1.1. Epidemiologie**

Gicht ist die häufigste Ursache für eine entzündliche Arthritis beim Menschen (Kuo et al., 2015). Weltweit liegt die Gichtprävalenz zwischen 0,1 % und ca. 10 %. Die höchste Prävalenz kommt dabei bei bestimmten ethnischen Gruppen aus Ozeanien vor (Maori und indigene Völker Taiwans) und ist in den

Industrienationen tendenziell höher als in Entwicklungsländern. In Nordamerika und Westeuropa liegt die Prävalenz zwischen 1 % und 4 %. In den Jahren 2000 bis 2005 litten 1,4 % der deutschen Bevölkerung an Gicht (Kuo et al., 2015).

Nach der letzten Statistik des National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) liegt die Prävalenz für Gicht in der US-Bevölkerung für die Jahre 2015-2016 bei 3,9 %. Dies entspricht einer Anzahl von 9,2 Mio. Menschen mit einer Gichtdiagnose. Männer sind stärker betroffen als Frauen (5,2 % männlich, 2,7 % Prävalenz bei Frauen). Gleichzeitig lag die Prävalenz für eine Hyperurikämie bei 20,1 % (Chen-Xu et al., 2019). Während eine steigende Inzidenz zwischen den Jahren 1977-78 und 1995-96 verzeichnet wurde, blieben die Zahlen in den letzten 10 Jahren stabil (Arromdee et al., 2002).

Die Inzidenz liegt weltweit zwischen 0,3 bis 6 Fällen pro 1000 Personen/ Jahr. Sie steigt mit dem Alter zunehmend an und erreicht bei einem Alter von ca. 70 Jahren ein Plateau. Männer sind 2 bis 6 mal häufiger betroffen als Frauen (Kuo et al., 2015). Dieser Umstand wird damit begründet, dass Östrogen die Uratabsorption in den Nierentubuli reduziert (Hak et al., 2010).

#### **1.1.2. Risikofaktoren**

Zu den Risikofaktoren für die Entwicklung einer Gichtattacke zählen erhöhte Harnsäurespiegel im Serum (Hyperurikämie) und Gewebecharakteristika, die lokal die Formation und das Wachstum von Kristallen fördern (Kuo et al., 2015).

Es muss zwischen einer primären und einer sekundären Hyperurikämie unterschieden werden (Krenn & Mohr, 2016). Bei der primären Hyperurikämie liegen genetisch bedingte Stoffwechselstörungen vor, welche die Harnsäureausscheidung oder -bildung beeinträchtigen. In ca. 5 % der Fälle konnten die relevanten Gene bereits identifiziert werden (Dalbeth & So, 2010; Nath et al., 2007). Bei der sekundären Hyperurikämie ist die renale Harnsäureausscheidung durch eine bekannte Grunderkrankung reduziert oder es kommt zu einem vermehrten Anfall von Harnsäure aus exogenen oder endogenen Purinen (Krenn & Mohr, 2016). Zu letzterem kommt es beispielsweise bei einer chronischen myeloischen Leukämie, hämolytischen Anämien,

Osteomyelosklerose, der Glukosespeicherkrankheit Typ I und zytostatischer Therapie.

Exogene Purine werden durch eine purinreiche Ernährung zugeführt. Fleisch- und fischreiche Diäten sowie der Konsum von Alkohol, insbesondere von Bier, und fruktosehaltigen Getränken erhöhen nachgewiesenermaßen das Risiko, eine Hyperurikämie und nachfolgend Gicht zu entwickeln (Choi et al., 2004a, 2004b; Choi & Curhan, 2008). Des Weiteren können Medikamente Einfluss auf den Harnsäurehaushalt nehmen. Schleifen- und Thiaziddiuretika konnten mit einem erhöhten Gichtrisiko in Verbindung gebracht werden, kaliumsparende Diuretika dagegen nicht (Bruderer et al., 2014). Ciclosporin führte bei Transplantationspatienten zu einer erhöhten Gichtinzidenz (Lin et al., 1989).

### **1.1.3. Klinisches Bild**

Der Verlauf der Erkrankung und das klinische Bild werden klassischerweise in vier Stadien aufgeteilt:

- Asymptomatische Hyperurikämie. Dabei handelt es sich um eine asymptomatische Phase, in der der Patient lediglich erhöhte Serumuratlevel ( $> 7 \text{ mg/dl}$ ) zeigt. Diese werden meist als Zufallsbefund erhoben (Ragab et al., 2017).
- Akute Gichtarthritis. Diese, auch als Gichtattacke bezeichnet, tritt ein, wenn die Ablagerung von MNU-Kristallen im Gelenk eine Entzündungsreaktion auslöst. Klassischerweise ist ein einzelnes Gelenk betroffen, welches innerhalb weniger Stunden ( $< 24\text{h}$ ) starke Entzündungszeichen entwickelt und schmerzt. Die Prädilektionsstelle ist das erste Zehengrundgelenk. Das Tarsal-, die Metatarsalgelenke und das Knie können aber ebenso betroffen sein wie die Handgelenke und Ellenbogen (Roddy, 2011).
- Beschwerdefreie Phase zwischen zwei Anfällen. Die Hyperurikämie bleibt bestehen und ohne Therapie wird es zu weiteren Attacken kommen (Pascual et al., 1999).
- Chronische Gicht. Bleibt die Erkrankung unbehandelt und kommt es immer wieder zu Gichtattacken, treten Gelenksschädigungen und palpierbare Tophi an Gelenken und im subkutanen Gewebe auf (Ragab et al., 2017).

Durch die verbesserten Methoden der Diagnostik ist es nun möglich, mittels DECT und Ultraschall schon früh MNU-Kristalle in den Gelenken zu

detektieren. Es fiel auf, dass es auch Patienten mit Kristallablagerungen aber ohne klinische Symptomatik gibt. Dalbeth et al. (2014) und auch andere Autoren (Perez-Ruiz et al., 2014) schlagen daher eine neue Einteilung der Erkrankung vor, in der die asymptomatische Phase in eine Hyperurikämie mit und ohne MNU Ablagerungen eingeteilt wird, da dies auch Auswirkungen auf die angeratene Therapie hat.

## **1.2. Gicht in der Kleintiermedizin**

Im Gegensatz zum Menschen und den Primaten werden Purine bei unseren Haussäugetieren mit Ausnahme des Dalmatiners zu Allantoin verstoffwechselt, welches sie anschließend über den Urin ausscheiden (Nelson & Cox, 2011). Aus diesem Grund können Sie keine Gicht entwickeln.

Vögel und Reptilien hingegen scheiden giftige Stickstoffverbindungen des Stoffwechsels in Form von Harnsäure über den Urin aus. Diese Tatsache sowie das Fehlen des Enzyms Urikase, welches für die Spaltung von Urat zu Allantoin notwendig ist, führt dazu, dass diese beiden Spezies an verschiedenen Formen der Gicht erkranken können. Unterschieden werden hier die Gelenks- und die Viszeralgicht (Carretero et al., 2009). Der Vorteil, Stickstoff in Form von Harnsäure auszuschcheiden, besteht in der Möglichkeit der Ausscheidung und Lagerung hoher Mengen an Stickstoffabbauprodukten innerhalb kleiner Wasservolumina. Diese Fähigkeit ist essentiell für die Entwicklung des Embryos im Ei und für das Leben in extrem trockenen Lebensräumen (Lumeij, 1994) und ist daher insbesondere bei Spezies, welche in Aridzonen leben (z. B. Wellensittiche), sehr ausgeprägt.

### **1.2.1. Epidemiologie**

Die Erkrankung kommt bei allen Vogelarten vor und ist alters- und geschlechtsunabhängig. Auch Wildvögel, wie das Rebhuhn (*Perdix perdix*), das Auerhuhn (*Tetrao urogallus*), Greifvögel (*Falconiformes*) und Wildenten sind betroffen (Gylstorff & Grimm, 1998).

Eine retrospektive Studie aus Georgia wertete die pathologischen Befunde von 827 Vögeln aus, die aus privater Haltung oder zoologischen Einrichtungen eingeschendet wurden. Insgesamt litten 22 Tiere an Gicht, die sich durch eine tubulointerstitielle Nephrose und intratubuläre Harnsäuretophi manifestierte. 2,5 % der untersuchten Papageien (*Psittaciformes*), 16,6 % der Spechtvögel

(*Piciformes*), 11,1 % der Eulen (*Stigiformes*), 2,2 % der Sperlingsvögel (*Passeriformes*), 5,6 % der Falken (*Falconidae*) und 6,7 % der Gänsevögel (*Anseriformes*) waren betroffen (Nemeth et al., 2016). In einer Studie über die Krankheits- und Todesursachen von Greifvögeln (*Falconiformes*) in zoologischen Gärten in Deutschland und Österreich wurde Gicht in 5 % der Fälle als ätiologisch gesicherte Todesursache angegeben (Bertram, 2003). In den Vereinigten Arabischen Emiraten wird die chronische Viszeralgicht als Risikofaktor für die Entwicklung einer AA Amyloidose genannt, welche ursächlich für eine deutlich zunehmende Morbidität und Mortalität bei Jagdfalken ist (Hampel et al., 2009).

Bei den Reptilien ist die Häufigkeit der Nierengicht artabhängig. So scheiden aquatisch lebende Arten nur einen geringen Anteil ihres Stickstoffs als Harnsäure aus und sind so weniger prädisponiert, an einer Hyperurikämie zu leiden (O'Malley, 2008). Laut Scheinert et al. (1992) sind bestimmte Schlangenspezies prädisponiert für eine Viszeralgicht. In einer Studie, in der die Ergebnisse von insgesamt 1941 Reptiliensektionen in einem Zeitraum von 1990 bis 2000 ausgewertet wurden, konnte Gicht als Primärerkrankung mit Todesfolge bei 4,2 % der untersuchten Echsen (*Squamata*), bei 2,8 % der Schlangen (*Serpentes*) und 4,2 % der Landschildkröten (*Testudinidae*) festgestellt werden. Wasserschildkröten erkrankten zwar mit 1,8 % auch an Nierengicht, diese war aber nie als Todesursache aufgeführt. Insgesamt lag die Prävalenz der Nierengicht bei Echsen (*Squamata*) bei 13,9 %, bei den Schlangen bei 8,2 %, bei den Landschildkröten bei 10,6 % und bei den Wasserschildkröten bei lediglich 1,8 % (Sinn, 2004). Eine ältere Studie mit 4000 untersuchten Reptilien fand in 10,9 % der Sektionen Anzeichen für eine Viszeralgicht (Ippen & Schröder, 1977).

### **1.2.2. Wirtschaftliche Bedeutung**

Besonders in der Nutzgeflügelhaltung haben Viszeral- und Gelenkgicht auch eine wirtschaftliche Bedeutung. So verzeichnete die chinesische Industrie im Jahr 2016 beispielsweise einen Verlust von 10 %-50 % bei Gänseküken (*Anser cygnoides*), die im Alter zwischen einer und drei Wochen Symptome von Gelenks- und Vizeralgicht entwickelten und starben. Die Ursache ist noch unklar, aber es wird ein Zusammenhang mit Astrovirusinfektionen vermutet (Jin et al., 2018). In Indien wurden zu verschiedenen Zeitpunkten die Gichtinzidenz

und Prävalenz untersucht. In Kaschmir wurde eine Mortalität von 18,87 % bei Haushühnern (*Gallus gallus domesticus*, Rasse Faverolles) im Alter von 8 - 30 Wochen in den Herbst-Wintermonaten zwischen 2002 und 2003 aufgezeichnet. Es handelte sich um eine Intensivhaltung mit proteinreicher Fütterung (16,39 % Rohprotein) und einem ungünstigen Ca : P Verhältnis in der Ration. Unter Anpassung der Diät kam es zu einem signifikanten Rückgang der Mortalität (Mir et al., 2005). In Chhattisgarh herrschte 2013 eine Gichtprävalenz von 21,47 % in verschiedenen Broilerhaltungen. Die Futterrationen enthielten durchschnittlich einen Rohproteinanteil von 20,59 %. Auffällig war eine deutlich höhere Prävalenz in der kalten Jahreszeit. Die Autoren erklären dies mit der geringen Löslichkeit von Harnsäure bei niedrigeren Temperaturen und der geringen Wasseraufnahme durch die Küken, wenn sie eng beieinander stehen, um sich zu wärmen (Singh et al., 2013).

### **1.2.3. Pathophysiologie**

#### **1.2.3.1. Nukleinsäurestoffwechsel**

Grundvoraussetzung für die Entstehung von Viszeral- oder Gelenkgicht ist die Ablagerung von Harnsäurekristallen (Mononatriumurate). Da die Harnsäure ein Abbauprodukt des Nukleinsäurestoffwechsels ist, soll hier noch einmal kurz auf diesen eingegangen werden. Die Nukleinsäuren werden durch Nukleasen zu Nukleotiden abgebaut. Diese sind aus den Basen Adenin, Guanin, Cytosin, Thymin und Uracil, sowie einer Pentose und Phosphat aufgebaut. Die Basen stammen jeweils von den beiden Anfangsverbindungen Pyrimidin und Purin ab. Durch Hydrolyse werden schließlich Purin und Pyrimidin freigesetzt, die entweder bei der Synthese neuer Nukleotide wiederverwendet werden können oder weiter abgebaut und ausgeschieden werden müssen. Dabei werden Pyrimidine zu CO<sub>2</sub> und NH<sub>3</sub> abgebaut. Am Ende des Purinabbaus steht die Harnsäure, welche beim Menschen, den Primaten, dem Dalmatiner, den Vögeln und manchen Reptilien nicht weiter verstoffwechselt wird, wie es bei den meisten Säugetieren der Fall ist (Nelson & Cox, 2011). Die Abbildungen 1 und 2 veranschaulichen diesen Stoffwechselweg.

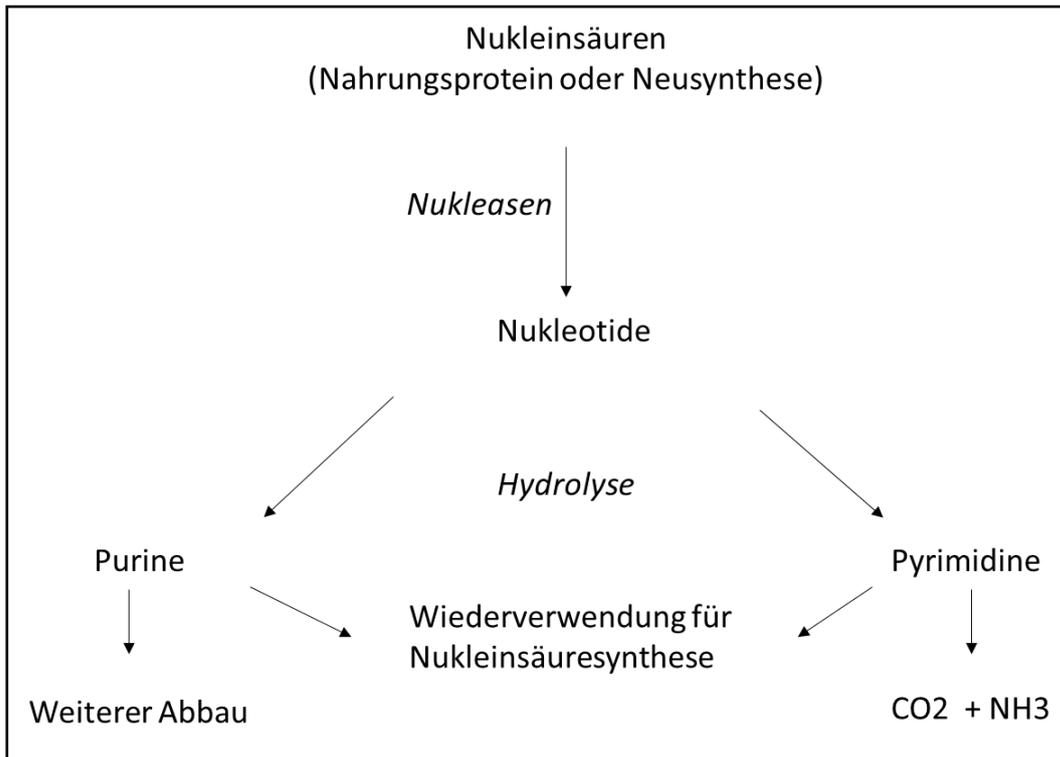


Abbildung 1: Wege des Nucleinsäureabbaus (modifiziert nach Mader, 2006)

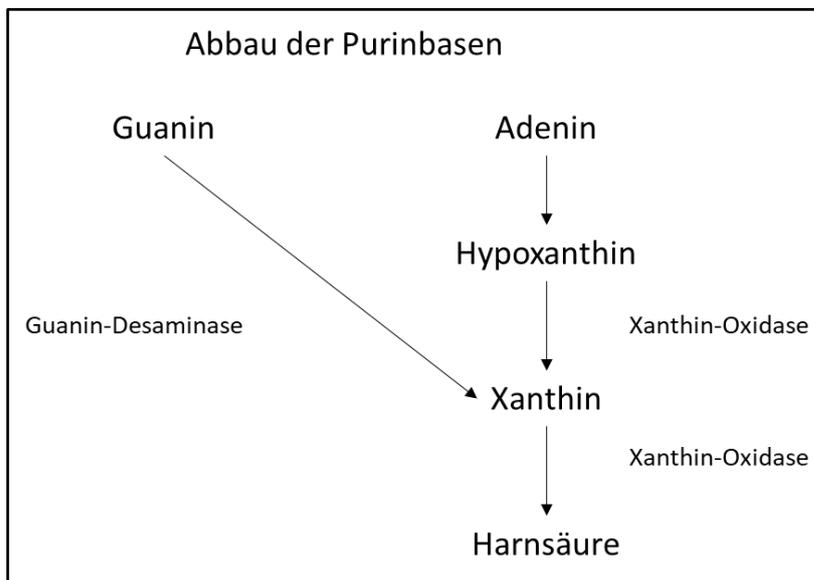


Abbildung 2: Purinbasenabbau (modifiziert nach Nelson & Cox, 2011)

### 1.2.3.2. Harnsäureausscheidung

Die Harnsäure wird in der Leber synthetisiert und zu 93 % über die proximalen Tubuli der Nieren aktiv ausgeschieden (Gylstorff & Grimm, 1998; Lumeij, 1994). Im Gegensatz dazu wird Harnstoff bei den Säugetieren durch Filtration

eliminiert. Die Harnsäure liegt im Blut zum Großteil als Mononatriumurat vor, welches nur schlecht wasserlöslich ist (Mader, 2006). Bei den Vögeln erfolgt die Harnsäuresekretion ausschließlich über die Nephrene des Reptilientyps und ist daher unabhängig von der glomerulären Filtrationsrate (GFR) und dem Hydratationszustand. Kommt es am Tubulus zu Epithelschädigungen, kann die Harnsäure nicht mehr adäquat ausgeschieden werden und es kommt zu einem Anstieg der Serumkonzentration an Harnsäure und Mononatriumurat. Dieser Zustand wird als Hyperurikämie bezeichnet. Wird ein bestimmter Grenzwert überschritten, bei dem die Harnsäure im Serum nicht mehr löslich ist, kommt es zu Ausfällungen in prädisponierten Geweben, wie Herzbeutel, serösen Häuten, Nierengewebe, Leber, Lunge und Gelenken. Warum insbesondere diese Gewebe betroffen sind, ist wissenschaftlich noch nicht gesichert belegt. Vermutet wird, dass es sich um stoffwechselträge Gewebe handelt und die niedrigere Temperatur an den Extremitäten eine Rolle für die Entwicklung einer Gelenkgicht spielt. Dort wo es bereits zu einem Ausfall der Harnsäure und zur Bildung von Kristallen gekommen ist, lagern sich weitere Kristalle an und es entsteht ein makroskopisch erkennbarer Tophus. Dieser besteht aus den zusammengelagerten Uratkristallen und einem Randsaum aus Makrophagen, Lymphozyten und Fibroblasten. Die Bildung von Kristallen in den Nierentubuli führt ihrerseits zu Obstruktionen der Harnwege und dadurch zu einer weiteren Störung der Harnsäureausscheidung (Fletcher et al., 2008; Lumeij, 1994; Mader, 2006; Zwart, 1997).

#### **1.2.4. Ursachen und Risikofaktoren**

Gicht darf demzufolge nicht als eigenständige Erkrankung gesehen werden, sondern stellt die Folge einer chronischen Hyperurikämie infolge einer chronischen Nierenerkrankung dar (Lumeij, 1994). Diese Form der Gicht wird als sekundäre Gicht bezeichnet und ist die häufigste Form der Gicht bei Vögeln und Reptilien. Weitere Ursachen für eine sekundäre Gicht sind Bluthochdruck, myeloproliferative Störungen und Krankheiten, die mit einem erhöhten Zelltod, bspw. einer Hämolyse, einhergehen, da es hier zu einer vermehrten Freisetzung von Nukleinsäuren kommt (Mader, 2006).

Alle Erkrankungen, welche zu einer Nierenschädigung führen, sind demzufolge auch Ursachen für eine Gichterkrankung. Hierunter fallen Intoxikationen, Infektionen, Entzündungen und Neoplasien der Nieren (Heidenreich, 1995;

Krautwald-Junghanns, 2011; Siegmann & Neumann, 2012). Bei Schildkröten ist zum Beispiel häufig eine Infektion mit Hexamiten Ursache für eine Nierenschädigung (Plenz, 2015). Im Zoovogelbereich tritt Gicht häufig in Zusammenhang mit Mykobakteriosen auf (Münch, 2006).

In der kommerziellen Geflügelhaltung spielen das infektiöse Vogelbronchitisvirus und Astroviren, wie das Chicken Astrovirus (CAstV) und das Avian Nephritis Virus (ANV), eine Rolle. Die Astroviren verursachen unter anderem eine Tubulonephrose und interstitielle Nephritis, welche ihrerseits zu Uratablagerungen und Gicht führt (Bulbule et al., 2013; Jin et al., 2018).

In Malaysia konnte zwischen 2014 und 2017 ein neues Orthobunyavirus nachgewiesen werden, welches eine schwere Nierenerkrankung bei Broilern auslöst und auch potenziell gefährlich für den Menschen werden kann (Palya et al., 2019).

Bei Gänseküken (*Anser cygnoides*) konnte ein Zusammenhang zwischen einer Dysbiose des Darms und einer Niereninfektion mit nachfolgender Viszeralgicht nachgewiesen werden (Xi et al., 2019).

Da eine Hypovitaminose A zur Verhornung des Drüsenepithels unter anderem auch im Bereich der Ureteren die Harnausscheidung behindern kann, kann es auch hierdurch zu einer Hyperurikämie kommen (Krautwald-Junghanns, 2011; Siegmann & Neumann, 2012).

Aminoglykoside und Sulfonamide können nierentoxisch sein, wenn nicht gleichzeitig der Hydratationsstatus des Patienten beachtet wird (Mader, 2006; Montali et al., 1979). Des Weiteren werden nicht steroidale Antiphlogistika (NSAIDs) mit Nierenschädigungen in Verbindung gebracht. Eine Studie aus Pakistan konnte Rückstände von Diclofenac in verstorbenen Nutztieren als Ursache für den dramatischen Rückgang der Weißrückengeierpopulation (*Gyps africanus*) ausmachen. Die Tiere starben an Nierenversagen und viszeraler Gicht, welche durch das Medikament ausgelöst wurden (Oaks et al., 2004).

Als weiterer Auslöser werden oft Haltungsfehler angegeben. Hierzu zählen sowohl in der Vogel- als auch in der Reptilienmedizin ein Wassermangel sowie eine zu geringe Luftfeuchtigkeit, was zu Dehydratation und sekundärer Nierenschädigung führt (Heidenreich, 1995; Lumeij, 1994; Plenz, 2015).

Viele Autoren gehen außerdem davon aus, dass eine zu proteinreiche Ernährung, insbesondere herbivorer Arten, die mit tierischem Protein ernährt

werden, zu Hyperurikämie führt, welche durch Übersteigen der renalen Clearance zu (Gelenks-)gicht führen kann (Lumeij, 1994; Mader, 2006; Plenz, 2015). Neuere Experimente mit verschiedenen Futterrationen an Wirtschaftsgeflügel lassen allerdings die Vermutung zu, dass der Kalziumgehalt einer Ration die größere Rolle spielt (Guo et al., 2005; Wideman Jr et al., 1985). So zeigt eine Studie von Guo et al. (2005), in der Legehennen mit einer normalen Ration, einer Ration mit deutlich erhöhtem Kalzium (HK), einer Ration mit deutlich erhöhtem Rohproteingehalt (HP) oder einer Ration mit erhöhtem Kalzium- und Rohproteingehalt (HKHP) aufgezogen wurden, dass es sowohl bei der HK-Diät als auch bei der HKHP-Diät zu einer schweren Nierenschädigung kam. Allerdings kam es nur bei der HKHP-Gruppe auch zur Ausbildung einer Viszeralgicht, während die HP-Gruppe lediglich erhöhte Serumharnsäurekonzentrationen aufwies, ohne eine Viszeralgicht zu entwickeln. Die Autoren vermuten, dass eine zu hohe Kalziumverfügbarkeit im Wachstum als Primärursache für viszerale Uratablagerungen fungiert und ein Überschuss an Protein lediglich sekundär dazu führt, dass sich mehr Harnsäure im Gewebe ablagern kann. Darüber hinaus könnte ein ungünstig hohes Kalzium : Phosphor Verhältnis in der Futterration zu einer metabolischen Alkalose führen, welche wiederum eine Ausfällung von Kalzium-Natrium-Uraten in den Eingeweiden und Gelenken begünstigt (Mir et al., 2005). Eine weitere Studie an Nymphensittichen zeigte, dass erhöhte Rohproteinmengen von bis zu 70 % der Futterration bei dieser Spezies keinen Einfluss auf die Nierenfunktion haben und weder zu Viszeral- noch zu Gelenksgicht führen (Koutsos et al., 2001). Da bei Greifvögeln eine Proteinübersversorgung unwahrscheinlich erscheint, wurde ein Zusammenhang mit einer einseitigen Ernährung und einem daraus resultierenden Aminosäurenmangel diskutiert. Da die fehlenden Aminosäuren aus körpereigenen Reserven gewonnen werden müssen, kommt es zu einem erhöhten Anfall von Stickstoffwechselprodukten und einer Hyperurikämie (Schoemaker & Redig, 1997). Bei Jagdfalken wird ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer gefährlichen Hyperurikämie und dem Fasten im Rahmen der gezielten Gewichtsreduktion vermutet (Heidenreich, 1995).

### **1.2.5. Pathophysiologie der Gelenksgicht**

Im Gegensatz zur viszeralen Form der Gicht, wird für die Entstehung der Gelenksgicht eine andere Pathophysiologie angenommen. Diese ist noch nicht

ganz aufgeklärt, aber eine dem Menschen ähnliche genetische Komponente, sowie exzessives tierisches Protein werden vermutet, bspw. bei Wellensittichen (Gylstorff & Grimm, 1998). Studien an Haushühnern zeigen, dass es bei einer erhöhten Proteinzufuhr über den üblichen 20 % der Futterration immer zu einem Anstieg des Plasmaharnsäurespiegels kommt, es aber nur bei bestimmten Rassen (Komiyama et al., 1977) oder Tieren mit einer Genmutation (Peterson et al., 1971) zur Ausbildung von Gichttophi an den Fußgelenken kommt. Cole und Austic (1980) konnten diese Annahme bestätigen, indem es ihnen gelungen ist, gezielt eine Haushuhn-Linie mit genetischer Prädisposition für Gelenkgicht zu züchten.

Die Aussage, dass Viszeral- und Gelenkgicht niemals gemeinsam auftreten und daher eine unterschiedliche Pathogenese aufweisen müssen (Siller, 1981), ist durch neuere Beobachtungen widerlegt worden (Mir et al., 2005).

Die Pathophysiologie der Arthritis wird, klinisch-empirisch basiert, aus der Humanmedizin hergeleitet. Auch hier ist diese jedoch noch nicht vollständig geklärt. In den Gelenken führt die Akkumulation von MNU-Kristallen zur Induktion pro-inflammatorischer Zytokine und Chemokine durch Phagozyten, was wiederum die akute Entzündung durch die weitere Einwanderung von neutrophilen Granulozyten und Monozyten auslöst. Diese akute Reaktion löst sich meist innerhalb weniger Tage wieder auf. Verantwortlich dafür sind ebenfalls neutrophile Granulozyten, die nun aber durch die Ausbildung sogenannter neutrophiler extrazellulärer Fallen (NET) die Immunreaktion abmildern. NETs entstehen, wenn Neutrophile oxidativen Stress erfahren und es zum Zelltod kommt (NETosis). Bei einer hohen Dichte an Neutrophilen im Gewebe induzieren die Uratkristalle die NETosis und es entstehen NET-Urat Aggregate. In diesen "Netzen" werden pro-inflammatorische Mediatoren nicht nur gebunden, sondern durch Serinproteasen auch aktiv abgebaut. Hierdurch kommt es zur Eindämmung der Entzündung (Buckland, 2014). Der Abbau der Uratkristalle wird weiterhin durch die Temperaturerhöhung im Gelenk gesteigert, da die Kristalle eine bessere Löslichkeit bei höheren Temperaturen aufweisen. Zudem wird der Abtransport durch die gesteigerte Durchblutung gefördert (Hügler & Krenn, 2016).

Bei der chronischen Gelenkgicht kommt es hingegen zu Knorpel- und Knorpelschädigungen. Die intraartikulären Kristalle erhöhen die Bildung an COX-

2, IL-8 und iNOS, was wiederum zu einer erhöhten Freisetzung von Stickoxid aus den Chondrozyten führt. Im Knochen werden Osteoklasten durch RANK (Receptor Activator of nuclear factor- $\kappa$ B) aktiviert und so die typischen Knochenläsionen induziert (Ragab et al., 2017).

### **1.2.6. Klinisches Bild**

Die klinischen Symptome der viszeralen Gicht entsprechen den unspezifischen Symptomen einer chronischen Nierenerkrankung. Dazu zählen Apathie, Anorexie, Polydipsie und Polyurie, bei Nierenversagen auch Oligurie bis hin zur Anurie (Gylstorff & Grimm, 1998; Lumeij, 1994; Plenz, 2015). Bei neoplastisch vergrößerten Nieren ist das Leitsymptom oftmals eine uni- oder bilaterale Lähmung der Hintergliedmaßen, welche durch eine Kompression der Nerven des Plexus lumbosacralis zustande kommt. Diese Tumore lassen sich bei erkrankten Vögeln in 50 % der Fälle ertasten (Lumeij, 1994).

Ebenso sind vergrößerte Nieren bei den üblicherweise gehaltenen Chamäleonarten (z.B. *Chamaeleo calypttratus*, *Trioceros jacksonii*, *Furcifer pardalis*) transabdominal palpierbar. Bei großen Echsenarten wie dem grünen Leguan (*Iguana iguana*) können die Nieren durch digitale kloakale Palpation evaluiert werden (Plenz, 2015). Schildkröten entwickeln aufgrund des gestörten Elektrolythaushalts Ödeme an den Augenliedern. Die vorgestellten Patienten zeigen oftmals Anzeichen für Dehydratation (Plenz, 2015).

Die Gelenkgicht hat spezifischere Symptome. So können bei Arten mit dünner Haut die weißlichen Tophi an den Gelenken durch die Haut durchscheinend gesehen werden. Insbesondere die Zehengelenke sind verdickt und verformt. Aufgrund der Schmerzhaftigkeit der betroffenen Gelenke zeigt sich eine Bewegungsunlust. Vögel sitzen vermehrt auf dem Boden oder nur noch auf breiten Stangen (Gylstorff & Grimm, 1998; Lumeij, 1994; Mader, 2006; Mir et al., 2005). Differentialdiagnostisch muss an Tuberkulose, gelenksnahe Frakturen, Abszesse, Fremdkörper, die sog. „Staphylokokken-Zehenendnekrose“ und anderweitige Arthritiden gedacht werden (Krautwald-Junghanns, 2011).

## **1.3. Diagnostik**

### **1.3.1. Klinische Diagnose**

In der Vogel- und Reptilienmedizin stützt sich die Gichtdiagnostik zumeist auf

das klinische Bild und die Anamneseerhebung. Ungünstige Haltungsbedingungen und Fütterungsfehler können erste Hinweise geben (Mader, 2006). Die klinischen Anzeichen einer Nierenerkrankung bzw. einer Viszeral- oder Gelenkgicht wurden an früherer Stelle bereits erläutert.

Auch in der Humanmedizin stützt sich die Diagnose häufig auf die Klinik der Erkrankung. In der primärärztlichen Versorgung, wo weiterführende Untersuchungen nicht oder nur eingeschränkt möglich sind, werden klinische Kriterien herangezogen, um zu einer Diagnose zu kommen (Neogi et al., 2015). Allerdings zeigen Studien, welche die klinische Diagnose mit der Untersuchung von Synovia auf MNU-Kristalle vergleichen, dass die Sensitivität und Spezifität gering ist (70 % und max. 88,5 %) (Malik et al., 2009). Eine prospektive Kohortenstudie zeigte, dass ca. 25 % der Patienten mit Monoarthritis im ersten Zehengrundgelenk, welche als pathognomonisch gilt, nicht wie erwartet an Gicht litten (Kienhorst et al., 2014). Die European League Against Rheumatism (EULAR) empfiehlt daher auch bei typischen klinischen Anzeichen immer eine Synovia-Analyse (Zhang et al., 2006).

### **1.3.2. Labordiagnostik**

#### **1.3.2.1. Hämatologie Vögel/Reptilien**

Ähnlich den Säugetieren steigen auch beim Vogel die harnpflichtigen Nicht-Protein-Stickstoffverbindungen im Blut erst an, wenn die Nierenfunktion bereits zu mehr als 70 % eingeschränkt ist. Bei physiologischen Harnsäure-, Harnstoff- oder Kreatininkonzentrationen kann daher eine Nieren-erkrankung nicht ausgeschlossen werden (Lumeij, 1994).

Da Gicht durch eine Präzipitation der Harnsäure (Natriumurate) zustande kommt, liegt der Gedanke nahe, dass ein Harnsäurespiegel über dem Niveau der Löslichkeitsgrenze zur Erkrankung führen muss. Dieser Zustand wird als Hyperurikämie bezeichnet. Lumeij und Remple (1991) gehen von einer Löslichkeit der Harnsäure beim Vogel bis ca. 600  $\mu\text{mol/l}$  aus. Harnsäurewerte über 1190-1785  $\mu\text{mol/l}$  werden beim Vogel als gichtverdächtig angesehen (Gylstorff & Grimm, 1998). Allerdings ist bei der Messung des Harnsäurespiegels im Blut zu beachten, dass es postprandial, insbesondere bei carnivoren Arten, zu einem physiologischen Anstieg der Harnsäureplasmakonzentration kommen kann, welcher bis zu 12 Stunden anhält. Lumeij und Remple (1991) konnten

eine signifikant erhöhte Serumharnsäurekonzentration bei Wanderfalken (*Falco peregrinus*) nachweisen, die den Konzentrationen beim Gichtpatienten entsprach. Daher sollte man vor Blutuntersuchungen eine 24-stündige Nüchternphase einhalten und die Untersuchung ggf. wiederholen. Weitere Faktoren, die zu erhöhten Harnsäurewerten führen, sind Nierenerkrankungen anderer Genese, massive Traumata und Hungerzustände (Gylstorff & Grimm, 1998).

Harnstoff und Kreatinin sind beim Reptilienpatienten ebenfalls keine verlässlichen Parameter für die Nierenfunktion. Besser geeignet sind Kalzium, Harnsäure und Phosphat (Divers et al., 1996). Allerdings variieren die Werte stark zwischen den Spezies und auch innerhalb einer Art sind die Werte von Geschlecht und Reproduktionsstatus abhängig (Harr et al., 2001). Für grüne Leguane (*Iguana iguana*) wurden normale Harnsäurewerte von 40-400 µmol/l ermittelt (Divers et al., 1996; Harr et al., 2001). Ein Anstieg der Harnsäure im Blut tritt aber genau wie bei Vögeln meist erst nach weit fortgeschrittenem Nierenschaden auf (Hernandez-Divers, 2003). Als Grenzwert für eine Ausfällung von Harnsäurekristallen werden 1457 µmol/l bei Reptilien angegeben (Zwart nach (Hernandez-Divers, 2003).

### **1.3.2.2. Hämatologie Mensch**

Beim Menschen liegt der Grenzwert für Kristallablagerungen im Gewebe bei 6,8 mg/dl (404,6 µmol/l) bei 37 °C Körpertemperatur (Loeb, 1972). Auch hier sind aber hohe Serumharnsäurekonzentrationen kein zuverlässiger Marker für die Diagnose einer Gichterkrankung. Nur etwa 5 % der Patienten mit Hyperurikämie, die Werte über 9 mg/dl (535,5 µmol/l) aufweisen, werden innerhalb des folgenden Jahres eine akute Gichtattacke entwickeln (Dincer et al., 2002). Hinzu kommt, dass die Serumharnsäurewerte während einer akuten Gichtattacke auf Normalwerte sinken können (Badulescu et al., 2014).

Um differentialdiagnostisch eine septische Arthritis ausschließen zu können, sollte immer ein Blutbild angefertigt werden (Underwood, 2006).

### **1.3.2.3. Direkter Nachweis von Mononatrium-Kristallen**

Der Goldstandard für die Gichtdiagnose ist die Identifikation von MNU-Kristallen in der Synovia oder einem palpierbaren Tophus mittels Lichtmikroskopie. Dort können sie in jedem Krankheitsstadium gefunden werden (Kienhorst et

al., 2015; Underwood, 2006). Unter dem Lichtmikroskop sind die nadelförmigen Kristalle bei 600-facher Vergrößerung gut zu sehen. Bei größerer Vergrößerung können diese auch von anderen Kristallen, beispielsweise Kalziumpyrophosphaten, unterschieden werden. Unter polarisierendem Licht sind sie stark negativ-doppelbrechend (Krenn & Mohr, 2016; Pascual et al., 1989) und weisen eine Größe von 3  $\mu\text{m}$  bis 30  $\mu\text{m}$  auf (Omoumi et al., 2016). Zu bedenken ist, dass die Probenanalyse viel Erfahrung und ein spezielles Training erfordert, weswegen es vom Untersucher abhängt, ob Kristalle erkannt und richtig identifiziert werden können. Eine Fehlerquelle für falsch negative Ergebnisse kann beispielsweise eine sehr niedrige Konzentration an Kristallen in der Probe sein (Dieppe & Swan, 1999). Außerdem kann die Arthrozentese unangenehm für den Patienten sein und birgt das Risiko eine Keimverschleppung (Geirsson et al., 2008). Obwohl die Arthrozentese als Goldstandard für die Gichtdiagnose gilt, wird sie in primärärztlichen Einrichtungen nur sehr selten angewandt (3 %) (Owens et al., 2008; Pascart & Lioté, 2018).

Bei Vögeln kann es bei hochgradiger Störung der Nierenfunktion zu Uratausscheidungen über die Kropfschleimhaut kommen. Das Krankheitsbild der urikämischen Inguveitis entsteht durch das Absinken des pH-Wertes und führt zu Vomitus. In diesem Fall können Harnsäurekristalle in Kropfausstrichen nachgewiesen werden (Carretero et al., 2009).

#### **1.3.2.4. Murexidprobe**

Alternativ kann eine Diagnose anhand der Gewinnung von Tophusmaterial und anschließender Murexidprobe gestellt werden. Bei der Murexidprobe wird das Probenmaterial mit 10 %iger Salpetersäure versetzt und nach Trocknung mit Ammoniak bedampft. Bei Anwesenheit von Harnsäure färbt sich die Probe rot (Gylstorff & Grimm, 1998).

### **1.3.3. Bildgebung**

#### **1.3.3.1. Viszeralgicht**

Pathologische Ausfällungen von Harnsäurekristallen im Nierengewebe (Nierengicht) können röntgenologisch nicht nachgewiesen werden (Krautwald-Junghanns et al., 2010). Urolithen und Nephrolithen, die aus Mononatriumurat bestehen, sind röntgenologisch nicht erkennbar, können es aber werden,

wenn sich zusätzlich Kalzium einlagert (Mader, 2006). Laterolaterale Röntgenbilder können bei Vogel- und Reptilienpatienten dazu genutzt werden, die Größe der Nieren zu evaluieren und so beispielsweise Nierentumore oder Abszesse differentialdiagnostisch auszuschließen (Lumeij, 1994). Um die Aussagekraft solcher Röntgenbilder zu verstärken, können intravenöse Urographien durchgeführt werden (Hernandez-Divers, 2003). Ein durch die flächenhafte Auflagerung von Uratkristallen verdicktes Perikard kann auf Röntgenaufnahmen einen unregelmäßigen und röntgendichteren Herzschatten hervorrufen (Krautwald-Junghanns & Kummerfeld, 2011). Dieses Röntgenzeichen ist jedoch nicht spezifisch und kann bei jeglicher Art von Perikarditis oder Hypertrophie des Herzens auftreten.

Durch endoskopische Untersuchungen können die Uratablagerungen auf den serösen Häuten dargestellt und eine eventuelle Nierenbiopsie zur weiteren Abklärung der zugrunde liegenden Erkrankung entnommen werden. Bei der Ultraschalluntersuchung kann die Morphologie der Nieren insbesondere im Hinblick auf Nierensteine, Zysten oder Massen beurteilt werden (Hernandez-Divers, 2003; Plenz, 2015). Typische Parenchymveränderungen der Nieren entsprechend spezifischer Erkrankungen sind jedoch bisher nicht bekannt (Silverman, 2006). Beim Ziervogel ist die ultrasonographische Darstellung der Nieren nicht möglich, wenn diese nicht vergrößert sind (Krautwald-Junghanns & Pees, 2010). Eine Perikarditis kann ultrasonographisch durch eine erhöhte Echogenität des Perikards erkennbar sein (Krautwald-Junghanns et al., 2010).

### **1.3.3.2. Gelenkgicht**

#### **1.3.3.2.1. Konventionelles Röntgen**

Konventionelle Röntgenbilder sind für die Diagnose einer ersten akuten Gichtattacke nicht geeignet. Hier können lediglich die das Gelenk umgebende Weichteilschwellung und ggf. ein Gelenkerguss erkannt werden (Omoumi et al., 2016). In der symptomlosen interkritischen Phase sind die Bilder ohne besonderen Befund. Spezifische Veränderungen sind erst bei jahrelang bestehender tophöser Gicht zu erkennen. Dazu zählen in der Humanmedizin

- asymmetrische weichteildichte Knoten, die den Tophi entsprechen
- typische Knochenläsionen, welche sich als klar definierte intra- oder juxtaartikuläre Läsionen mit überhängenden Rändern darstellen

- kalzifizierte MNU Ablagerungen, die den Knochen penetrieren können
- normalerweise keine Minderung der Knochendichte im angrenzenden Knochen
- im weit vorgeschrittenen Stadium eine Verengung des Gelenkspalts (Omoumi et al., 2016).

Die durch die Tophi verursachten Umfangsvermehrungen sind röntgenologisch nicht von Abszessen zu unterscheiden, da es in beiden Fällen auch zu Kalzifikationen kommen kann (Hoffmann and Pees, 2010).

Da das konventionelle Röntgen erst sehr weit fortgeschrittene Fälle der Gelenksgicht aufzeigen kann, erlangen andere bildgebende Verfahren wie die Computertomographie (CT), insbesondere die Dual-Energy-CT (DECT), und die Ultraschalldiagnostik mehr an Bedeutung.

#### **1.3.3.2.2. Ultraschall**

Durch die kontinuierliche technische Weiterentwicklung der Ultrasonographie ist diese neben der Radiographie ein beliebtes Mittel zur Diagnose von Kristallarthropathien geworden (Omoumi et al., 2016). Spezifische Veränderungen treten bereits bei geringen Ablagerungen von MNU-Kristallen noch vor der ersten Gichtattacke, während der asymptomatisch Phase auf (Puig et al., 2016). Dies hatte zur Folge, dass eine neue Klassifizierung der Gichtstadien vorgeschlagen wurde, in der die asymptomatische Phase weiter unterteilt wird (Dalbeth & Stamp, 2014).

Spezifische Ultraschallzeichen für Gicht sind das Double Contour Sign des Gelenkknorpels (DCS), Tophi, Aggregate und Knochenläsionen. Das DCS wird definiert als abnormale hyperechogene Linie auf der Oberfläche des hyalinen Gelenkknorpels. Diese Linie bleibt dabei auch bei Veränderung des Eindringwinkels bestehen (Omoumi et al., 2016). Allerdings sind Ergebnisse zur Sensitivität und Urteilerübereinstimmung je nach untersuchtem Gelenk und bewertetem Ultraschallzeichen noch sehr heterogen (Girish et al., 2013; Terslev et al., 2015).

#### **1.3.3.2.3. Dual-Energy-Computertomographie**

Die Dual-Energy-Computertomographie (DECT) ist eine erweiterte Computertomographie, bei der mit zwei Röntgenquellen Strahlung unterschiedlicher

Energien (150 kV und 80 kV) erzeugt werden. Durch das unterschiedliche Absorptionsverhalten von Gewebe und insbesondere Mineralen können Rückschlüsse auf deren physikalische und chemische Eigenschaften gezogen werden. So kann beispielsweise Kalzium im Knochen von Harnsäure unterschieden und eine farblich kodierte Rekonstruktion erstellt werden. Das DECT ist auch geeignet, zwischen unterschiedlichen Kristallarthropathien zu unterscheiden und kann durch die Quantifizierbarkeit der Befunde auch zur Überwachung des Therapieerfolgs genutzt werden (Jayakumar et al., 2017). Sensitivität und Spezifität sind sehr gut (90 % und 83 %), wenn die Bilder durch einen erfahrenen Radiologen ausgewertet werden (Bongartz et al., 2015). Falsch positive Ergebnisse treten auf, wenn eine fortgeschrittene Osteoarthritis vorliegt. Da Keratin ähnliche Absorptionseigenschaften wie MNU-Kristalle aufweisen, können auch um das Nagelbett herum falsch positive Ergebnisse auftreten. Falsch negative Ergebnisse werden durch eine zu geringe Kristallmenge oder Tophusgrößen unter 2 mm bedingt (Omoumi et al., 2016). Insgesamt ist die DECT hilfreich bei der Diagnose komplizierter Fälle und wird aufgrund seiner eingeschränkten Verfügbarkeit vorerst auch diesen vorbehalten bleiben (Pascart & Lioté, 2018).

#### **1.3.4. Pathologische Untersuchung in der Vogel- und Reptilienmedizin**

Die pathologische Untersuchung ist unerlässlich in der Vogel- und Reptilienmedizin. Sie dient nicht nur der Aufklärung plötzlicher Todesfälle, sondern auch der Bestätigung oder Berichtigung klinischer Diagnosen sowie der Aufklärung eines scheinbaren Therapieversagens. So kann der Kliniker durch jede pathologische Untersuchung neue Erkenntnisse für die tägliche Praxis gewinnen und seine diagnostischen Fertigkeiten verbessern. Da nur wenige Krankheiten pathognomonische makroskopische Veränderungen zeigen, sollte die makroskopische pathologische Untersuchung von einer bakteriologischen, virologischen, parasitologischen und auch histologischen Untersuchung begleitet sein. Um keine Befunde zu übersehen und forensischen Vorgaben zu genügen, ist es wichtig, stets einem standardisierten schriftlichen Protokoll zu folgen (Latimer & Rakich, 1994).

##### **1.3.4.1. Pathologische Veränderungen bei Gicht**

Da es in dieser Arbeit um die pathologische Untersuchung im Hinblick auf die

Erkennung einer Gicht geht, soll hier auch nur auf die besonderen Organveränderungen eingegangen werden, die typischerweise bei dieser Erkrankung vorzufinden sind. Je nach Ausprägung der Gicht werden weißliche Verschattungen der serösen Häute beschrieben (Mir et al., 2005). Besonders betroffen sind hier die Leberkapsel und das Perikard, in dem sich kreideähnliche Massen ablagern können (Guo et al., 2005). Die Uratkristalle können dabei in Folge einer Fremdkörperreaktion eine Perikarditis auslösen. Eine mögliche Folge dieser Pericarditis urica ist eine Verdickung und Verkalkung des Herzbeutels, welcher die Ausdehnung des Herzens in der Diastole einschränkt (sog. „Panzerherz“) (Dommer, 1991). Veränderungen an den Nieren präsentieren sich als stecknadelkopfgroße Tophi, die das gesamte Organ überziehen (Cooper, 1997). Aufhellungen und eine Schwellung des Organs sowie durch Uratablagerungen gestaute und erweiterte Ureteren können vorkommen (Guo et al., 2005; Mir et al., 2005). Bei der Gelenkgicht werden weiße, kreideähnliche Ablagerungen in und um die Gelenke herum beschrieben. Diese stellen sich unter dem Mikroskop als polarisierende Nadeln dar (Latimer & Rakich, 1994; Mir et al., 2005). Jones und Fitzgerald (2009) beschreiben einen Fall, in dem allein weiche bis halbfeste Knötchen von gelber bis bräunlicher Farbe in den periartikulären Faszien und der Muskulatur, sowie weißliches Material auf den Gelenkflächen vorkamen. Andere Organe waren nicht betroffen.

#### **1.3.4.2. Histopathologische Veränderungen**

Harnsäure löst sich in wässrigen Fixationslösungen aus dem Gewebe und hinterlässt eine azelluläre eosinophile Matrix. Die Tophi haben einen Randsaum aus Riesenzellen, welche wiederum von einer Zone aus Makrophagen, Lymphozyten und Fibroblasten umgeben sind. Typische Veränderungen einer Nierengicht sind Tubulusnekrose, eine Infiltration mit Lymphozyten, interstitielle Fibrose sowie das Vorhandensein von Harnsäurekristallen und Tophi (Abdul-Aziz et al., 2008).

#### **1.4. Therapie**

In der Humanmedizin setzt sich die Behandlung der Gicht aus verschiedenen Ansätzen zusammen. Der akute schmerzhafte Gichtanfall wird mit nichtsteroidalen Antiphlogistika (NSAIDs), Steroiden und Colchizin behandelt. Die Behandlung der chronischen Erkrankung hat die Reduktion der Hyperurikämie

zum Ziel. Der Ansatz ist multimodal. Wichtig ist die Aufklärung der Patienten und eine Umstellung des Lebensstils hin zu einer purinarmen Diät und einer Stärkung des Herzkreislaufsystems, sodass blutdrucksenkende Medikamente und Diuretika unnötig werden. Zusätzlich können Urat-senkende Medikamente (Allopurinol, Febuxostat) und Medikamente zur Förderung der Uratausscheidung (urikosurische Medikamente) verwendet werden (Ragab et al., 2017).

Die Tiermedizin kann sich an diesen Ansätzen orientieren. Am wichtigsten ist hier die Optimierung der Haltungsbedingungen, wie eine artgerechte Fütterung und Haltung mit einer Erhöhung der Luftfeuchtigkeit und ausreichender Wasserversorgung (Mader, 2006). Damit diese Maßnahmen eine Wirkung erzielen können, ist jedoch eine ausreichend frühe Diagnosestellung notwendig. Die Wirksamkeit von Allopurinol wird kontrovers diskutiert. Studien an Rotschwanzbussarden (*Buteo jamaicensis*) haben gezeigt, dass es nach der Applikation von Allopurinol (50 mg/kg) eher noch zu einem Anstieg der Serumuratkonzentration, Erbrechen und Nierenschädigungen kam (Lumeij et al., 1998). Eine Dosisreduktion auf 25 mg/kg zeigte gar keine Effekte mehr (Poffers et al., 2002). Uratoxidase wurde hier als das vielversprechendere Medikament getestet (Poffers et al., 2002). In der Reptilienmedizin scheint Allopurinol eine bessere Wirksamkeit zu haben. Tabelle 1 zeigt eine Übersicht über Fallstudien an Schildkröten und Grünen Leguanen, bei denen eine Reduktion der Serumuratkonzentration und der Gelenkentzündungsreaktion gezeigt werden konnten. Ist das Tier schmerzhaft, ist der Einsatz von Analgetika angezeigt. Betroffene Gelenke können in Narkose ausgeräumt werden (Plenz, 2015). Zusätzlich wird die Supplementation von Vitamin A und das Verabreichen von Natriumbikarbonat über das Trinkwasser empfohlen (Krautwald-Junghanns, 2011; Siegmann & Neumann, 2012).

Insgesamt ist die Prognose jedoch als ungünstig einzustufen. Insbesondere bei der Viszeralgicht wird die Erkrankung oft erst post mortem festgestellt.

**Tabelle 1: Literaturübersicht über Allopurinolanwendungen bei Reptilien**

Dosierung	Tierart	Tierzahl	Ergebnis	Referenz
50 mg/kg SID 30 Tage, anschließend 50 mg/kg alle 72h 3 Jahre lang	Europäische Landschildkröten ( <i>Testudo hermanni</i> )	73	97.3% der Tiere zeigten eine Senkung des Serumuratlevels bis zum 7. Tag	Kolle, 2001 nach Mader, 2006
9,93 mg/kg SID über 30 Tage, anschließend 3,31 mg/kg SID 90 Tage lang	Maurische Bachschildkröte ( <i>Testudo graeca</i> )	1	Verschwinden der Gelenkentzündung nach 5 Monaten, alle klinischen Zeichen verschwunden nach weiteren 7 Monaten	Figueres & Veterinarians, 1997
24,2 mg/kg SID über 7 Tage	Grüner Leguan ( <i>Iguana iguana</i> )	19	signifikant niedrigere Serumuratlevel als bei der Placebogruppe	S. Hernandez-Divers et al., 2008
20 mg/kg, SID und Hills u/d Diätfutter	Rotwangenschmuckschildkröte ( <i>Trachemys scripta elegans</i> )	1	Verbesserung der Klinik nach einem Monat	Lee, Kim & Park, 2011

## **2. Einführung in die Dunkelfeldbildung**

### **2.1. Physikalische Grundlagen**

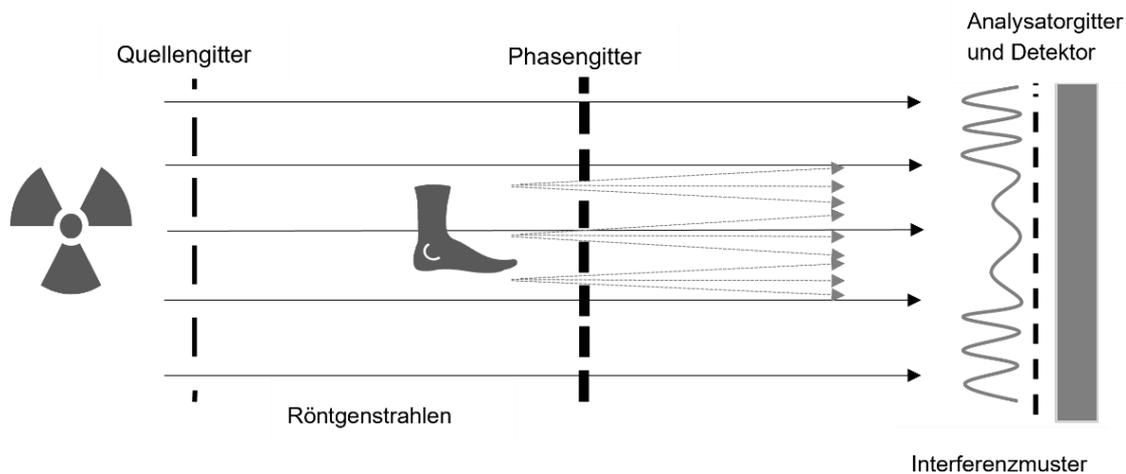
Phasen- und Dunkelfeldkontrast entstehen, wenn Lichtwellen an einer Struktur gebrochen oder gestreut werden. Der Phasenkontrast beruht dabei auf dem physikalischen Effekt der Brechung des Lichts an Gewebeübergängen, während der Dunkelfeldkontrast durch Kleinwinkelstreuung entsteht. Letzterer tritt vor allem an Grenzflächen und kleinsten Faserstrukturen im Mikrometerbereich auf. Da Röntgenstrahlung ebenfalls einen Wellencharakter hat, können durch Messung der Winkeländerung der Röntgenstrahlen, die aufgrund der Streuung und Brechung an einem Objekt im Strahlengang entstehen, Phasen- und Dunkelfeldkontrast in der Röntgenbildgebung genutzt werden (Pfeiffer et al., 2018).

Dafür werden Gitterinterferometer verwendet. Die Gitterinterferometrie basiert auf zwei optischen Effekten, dem Moirée-Effekt und dem Talbot-Lau-Effekt. Ersterer tritt auf, wenn sich regelmäßige Muster ungleichmäßig überlagern. Auf diese Weise können kleinste Unterschiede übereinanderliegender, gleicher Gitter sichtbar gemacht werden. Solche Unregelmäßigkeiten können auch dann entstehen, wenn zwischen zwei optischen Gittern ein strahlenbrechendes Objekt platziert wird. Die Gitterschatten hinter dem ersten Gitter  $G_1$  werden um den entsprechenden Refraktionsgradienten verformt und auch die Moirée-Linien hinter dem zweiten Gitter  $G_2$  zeigen die gleiche Ablenkung. Auf diese Weise kann der Beugungswinkel bestimmt werden. Je kleiner dieser Winkel ist, desto größer muss der Abstand zwischen den beiden Gittern werden. Deshalb nutzt man den Talbot-Lau-Effekt. Dieser bewirkt, dass ein durch monochromatisches Licht beleuchtetes optisches Gitter in bestimmten Talbot-Abständen immer wieder abgebildet wird. Stellt man nun  $G_2$  in die Ebene eines solchen „Talbot“-Bildes und rotiert es leicht im Vergleich zur Achse von  $G_1$ , entstehen hinter  $G_2$  Moirée Linien. Diese Linien werden, wie anfangs beschrieben, durch ein hinter  $G_1$  platziertes Objekt abgelenkt (Lohmann & Silva, 1971).

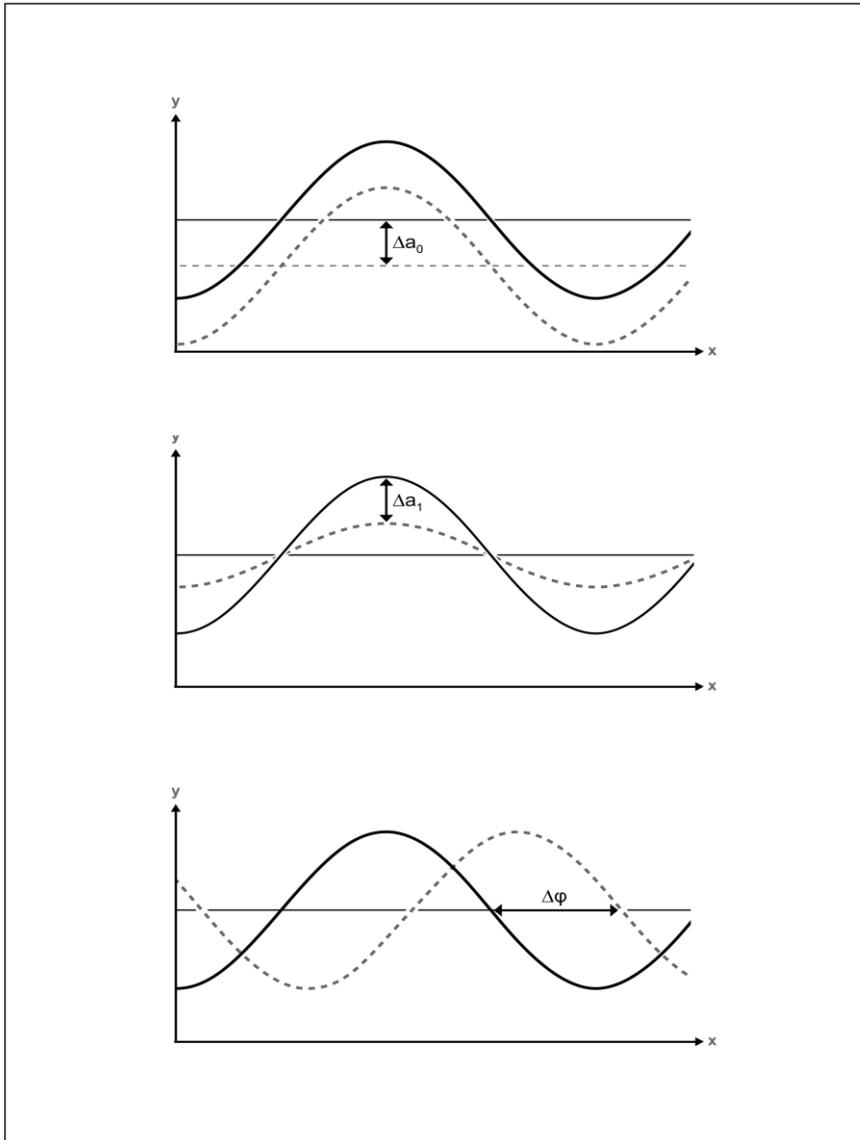
### **2.2. Talbot-Lau-Gitterinterferometer**

Die für die Röntgen-Dunkelfeldbildung verwendeten optischen Gitter haben einen sehr kleinen Abstand von nur 5-20  $\mu\text{m}$ -zwischen ihren Lamellen. Sie bestehen aus Silizium- und Goldstrukturen (David et al., 2007). Zur

Nutzung der oben beschriebenen Effekte wird monochromatische Strahlung benötigt. Um die DFR mit herkömmlichen Röntgenröhren, welche polychromatische Strahlung erzeugen, durchführen zu können, werden Interferometer mit 3 Gittern verwendet. Das erste Gitter ist ein Quellengitter  $G_0$ , das zweite ein Phasengitter  $G_1$  und das dritte ein Analysatorgitter  $G_2$ . Abbildung 3 zeigt schematisch einen solchen Aufbau. Das Quellengitter, welches meist nah an der Röntgenquelle platziert wird, ist eine Lochmaske mit weiterleitenden Schlitzen. Es erzeugt ein feines periodisches Muster von Röntgenstrahlen und ermöglicht dadurch die Nutzung großer Röntgenquellen. Der Bildkontrast wird durch  $G_1$  und  $G_2$  gebildet. Das Phasengitter  $G_1$  erzeugt ein Interferenzmuster an den Talbot-Abständen und erzeugt durch den Talbot-Lau-Effekt ein lineares Gittermuster hinter  $G_2$ . Das Analysatorgitter  $G_2$  besteht aus hochabsorbierenden Goldlinien und wird deshalb auch Absorptionsgitter genannt. Es steht direkt vor dem Detektor. Wird nun eines der Gitter  $G_1$  oder  $G_2$  entlang der Transversalachse der optischen Achse um eine Periodenlänge verschoben, erhält man für jedes Pixel eine sinusoidale Intensitätskurve. Wird ein Gegenstand zwischen  $G_0$  und die beiden anderen Gitter platziert, verändert sich diese Kurve entsprechend der Eigenschaften des Objekts. Vergleicht man die Referenzkurve mit der neu entstandenen Kurve, erhält man gleichzeitig Informationen über die Attenuation, die Phasenverschiebung und den Dunkelfeldkontrast für jeden Detektorpixel (siehe Abbildung 4). Beim Dunkelfeldkontrast wird die durch Streuung der Röntgenstrahlung verursachte Verkleinerung der Amplitude im Vergleich zur Referenzkurve gemessen. Dieser Signalverlust wird durch Kleinwinkelstreuung der Strahlung an Porositäten und Strukturveränderungen im Mikrometerbereich verursacht. Beim Phasenkontrast kommt es zu einer Verschiebung der Kurve in transversaler Richtung entlang der Achse  $x$ . Bei absorbierenden Gegenständen kommt es zu einer Schwankung der Kurve mit einer Verkleinerung des Mittelwertes  $a_0$  (Schwächung/Attenuation) (Pfeiffer et al., 2008; Pfeiffer et al., 2018; Pfeiffer et al., 2006).



**Abbildung 3: Schematischer Aufbau eines Gitter-Interferometers mit Röntgenquelle, Quellengitter, Phasengitter, Probe, Analysatorgitter und Detektor. Das erzeugte Interferenzmuster wird durch die Streuung der Röntgenstrahlen an der Probe verbreitert (modifiziert nach Pfeiffer et al., 2008).**



**Abbildung 4:** Schematische Abbildung der sinusoidalen Intensitätskurve, welche bei der Verschiebung der Gitter G1 oder G2 um eine Periodenlänge für jedes Pixel am Detektor entsteht. Die gestrichelte Kurve zeigt die Veränderung, welche die Kurve durch Platzierung eines Objektes in den Strahlengang erfährt. Absorption erzeugt eine Verkleinerung des Mittelwertes  $a_0$ , Streuung erzeugt eine Verkleinerung der Amplitude  $a_1$  (Dunkelfeldkontrast) und beim Phasenkontrast kommt es zu einer Verschiebung der Kurve in transversaler Richtung ( $\Delta\phi$ ).

### 2.3. Anwendungsbereiche

Die Nutzung des Dunkelfeldkontrasts in der Röntgenbildgebung kann den Informationsgehalt eines Bildes enorm steigern. Da in der konventionellen Röntgenbildgebung nur Absorptionsunterschiede in Gewebe gemessen werden können, diese innerhalb des Weichteilgewebes aber gering sind, ist der

Informationsgehalt, den ein Röntgenbild liefern kann, meist beschränkt. Gewebe, welche nur kleine Absorptionsunterschiede hervorrufen oder kaum absorbieren, können aber strahlenstreuende oder –brechende Eigenschaften haben, welche, wenn sie zusätzlich ausgewertet werden können, den Informationsgehalt eines Röntgenbildes enorm steigern können. Das Ergebnis ist ein höherer Kontrast, der erlaubt kleinere Details zu erkennen. Die Anwendungsgebiete für die Phasen- und Dunkelfeldkontrastradiographie umfassen neben der technischen Materialuntersuchung, beispielsweise bei der zerstörungsfreien Werkstoffprüfung (Shashev et al., 2017), bei der Lebensmittelprüfung oder der Sicherheitstechnik am Flughafen (Gaizsch, 2020) auch die Radiologie. Forschungsergebnisse der letzten Dekade zeigen das Potential dieser Methode als Ergänzung zur herkömmlichen Röntgenbildgebung in der Medizin.

Die Lunge ist mit ihren zahlreichen Grenzflächen an den Alveolen ein Organ, welches einen starken Phasen- und Dunkelfeldkontrast bietet. Insbesondere Strukturveränderungen, wie sie bei der Lungenfibrose oder Emphysemen auftreten, werden auf diese Weise deutlich sichtbar. Yaroshenko et al. (2015) verglichen in einer in vivo Mäusestudie konventionelles und Dunkelfeldröntgen der Lungen nach Induktion einer Fibrose mittels orotrachealer Bleomycingabe. Es zeigte sich, dass der Dunkelfeldkontrast eine signifikant höhere Sensitivität, vor allem bei der Detektion früher Stadien der Erkrankung (noch vor signifikanter Veränderungen in den durchgeführten Lungenfunktionstests), besaß. Der Vorteil der Methode wird hier auch in der geringeren Strahlendosis im Vergleich zu einer CT gesehen. Hellbach et al. (2017) bestätigen diese Aussage, indem zusätzlich eine Reader Studie durchgeführt wurde. Selbiges konnte für die Diagnose von Lungentumoren bei Mäusen gezeigt werden. Hier besteht die Herausforderung vor allem darin, kleine Knötchen im frühen Stadium der Erkrankung rechtzeitig zu erkennen (Scherer et al., 2017). Weitere Untersuchungen schließen die Diagnostik von Emphysemen (Hellbach et al., 2015; Meinel et al., 2014; Yaroshenko et al., 2013) und akuten Entzündungen der Lunge (Hellbach et al., 2018) mit ein. Grundlage der Detektierbarkeit dieser Erkrankungen ist, dass die Grenzflächen von Luft zu Gewebe in der Lunge eine starke Streuung der Röntgenstrahlen verursachen. Eine gesunde Lunge erzeugt demnach ein starkes Dunkelfeldsignal auf dem generierten Bild. Dort

wo funktionales Lungengewebe zerstört oder verdrängt wurde, bleibt die Streuung aus und es kommt nur noch zu einem abgeschwächten Dunkelfeldsignal. Untersuchungen an Schweinen (Gromann et al., 2017; Hellbach et al., 2018) und die Messung einer menschlichen Lunge im Leichnam (Willer et al., 2018) konnten die Anwendbarkeit der Methode mit größeren Sichtfeldern und Schichtdicken, wie sie für die klinische Anwendung bei Menschen notwendig sein werden, zeigen.

Die strahlenstreuenden Eigenschaften von Kristallen und Kalzifikationen machen den Dunkelfeldkontrast auch im Bereich der Materialcharakterisierung zu einem interessanten Werkzeug. Mehrere Studien konnten zeigen, dass mittels Dunkelfeldbildgebung die Mikrokalzifikationen in Mammakarzinomen detektiert werden können (Scherer et al., 2016; Stampanoni et al., 2011). Gleiches gilt für Nierensteine. Scherer et al. (2015) zeigen in ihrer Studie, dass Kalziumoxalat- von Harnsäuresteinen unterschieden werden können, wenn Dunkelfeld- und Absorptionsbild miteinander verglichen werden.

Ein weiteres strahlenstreuendes Gewebe ist der trabekuläre Knochen. Thüning et al (2013) konnten in einer Machbarkeitsstudie zeigen, dass Dunkelfeld- und Phasenkontrastradiographie die Bildqualität für die Gelenksbeurteilung verbessern können. Dabei erhöht der Dunkelfeldkontrast insbesondere an Knochengrenzen und -kanten die Bildqualität, sodass die Mikroarchitektur des Knochens und der Gelenkspalt besser beurteilt werden können (insbesondere im Hinblick auf periartikuläre Kalzifikationen). Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass dies an einer kompletten menschlichen Hand machbar ist. Die Autoren sehen ein Potential für die Methode in der täglichen Anwendung in der Klinik, um rheumatoide und degenerative Gelenkserkrankungen früher diagnostizieren und überwachen zu können. Diese Beobachtung konnte durch weitere Studien bestätigt und weiterverfolgt werden (Jud et al., 2017; Tanaka et al., 2013).

### 3. Zielsetzung und Fragestellungen

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob Harnsäurekristalle aufgrund ihrer mikroskopischen Nadelstruktur ein Dunkelfeldsignal erzeugen und ob dieses Signal auch in biologischem Gewebe noch ausreichend stark ist, um es mit der Dunkelfeldbildgebung zu detektieren. Im Anschluss daran wurde untersucht, ob die Dunkelfeldradiographie zur Diagnostik der Gichterkrankung bei Vögeln und Reptilien angewendet werden kann und als neues, nicht invasives bildgebendes Verfahren für die klinische Gichtdiagnostik geeignet ist.

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

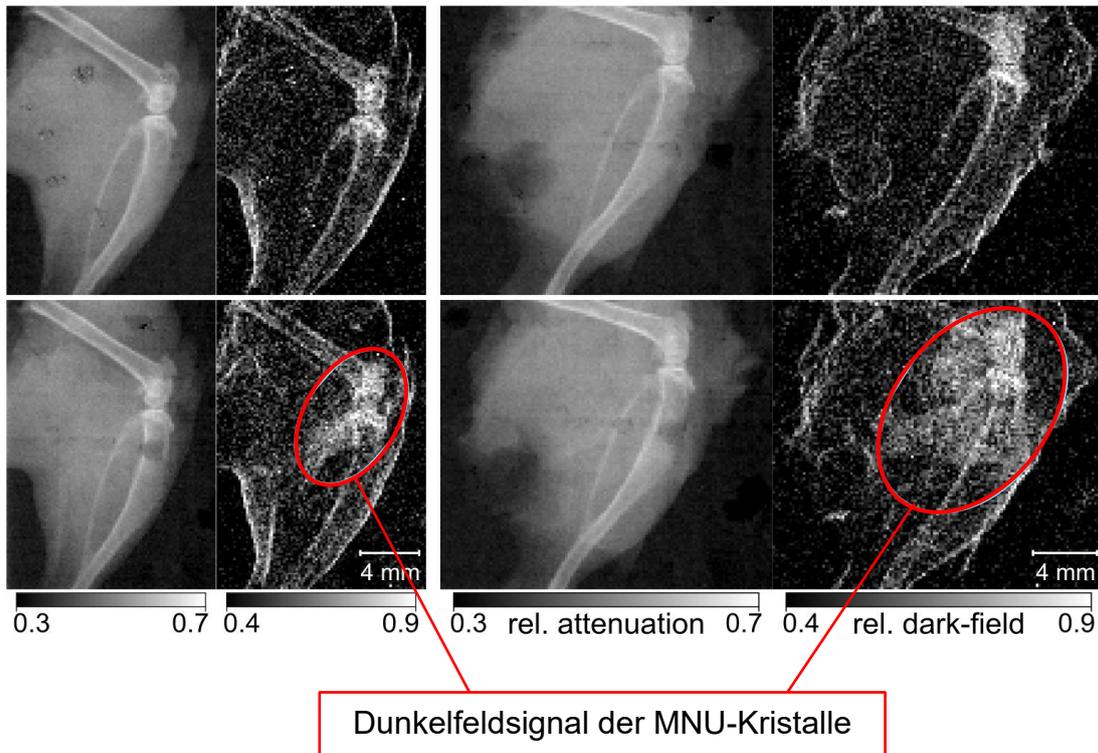
**Roiser N\***, Braig EM\*, N., Kimm MA., Busse M, Andrejewski J, Scholz J, Petrich C, Gustschin A, Sauter A, Bodden J, Meurer F, Korbel R, Pfeiffer F, Herzen J, Pfeiffer D. (2020). X-ray Dark-Field Radiography: Potential for Visualization of Monosodium Urate Deposition. *Investigative Radiology*. 2020 Aug;55(8):494-498.

Scholz J, **Roiser N**, Braig EM, Petrich C, Birnbacher L, Andrejewski J, Kimm MA, Sauter A, Busse M, Korbel R, Herzen J, Pfeiffer D. (2021). X-ray dark-field radiography for in situ gout diagnosis by means of an ex vivo animal study. *Scientific Reports*. 2021 Sep 24;11(1):19021. doi: 10.1038/s41598-021-98151-0.

**Roiser N**, Scholz J, Kimm MA, Andrejewski J, Baumgartner C, Braig E, Herzen J, Pfeiffer D, Korbel R (2022). Die Dunkelfeld-Radiographie - ein neuer Weg zur Diagnostik von Gichterkrankungen bei Vögeln und Reptilien? *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere/Heimtiere*. 2022 Jul; 50(03): 185-196.

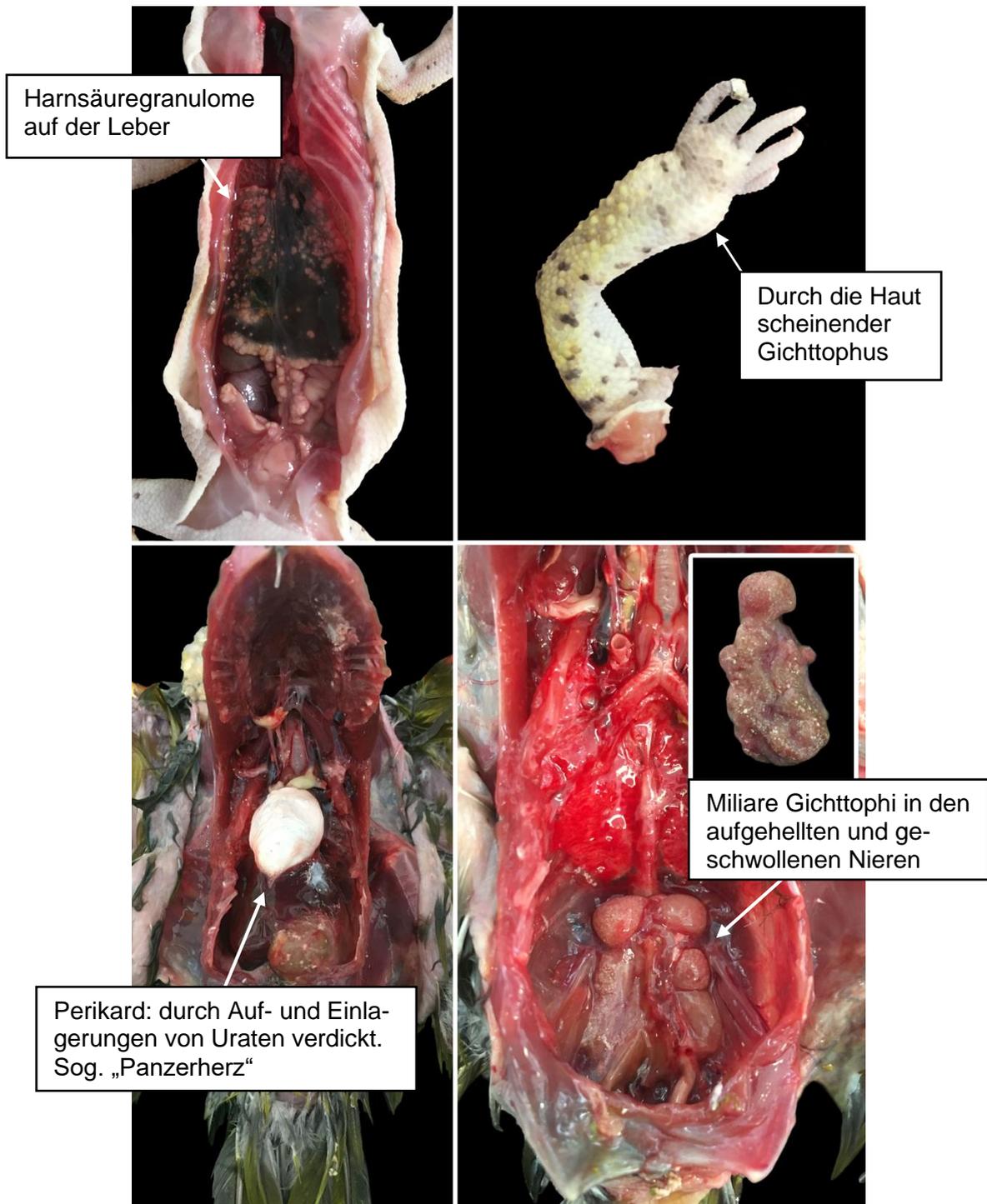
### III. EXEMPLARISCHE DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE

Die folgenden drei Grafiken werden den Publikationen vorangestellt, um dem Leser die gewonnenen Ergebnisse zu verbildlichen.

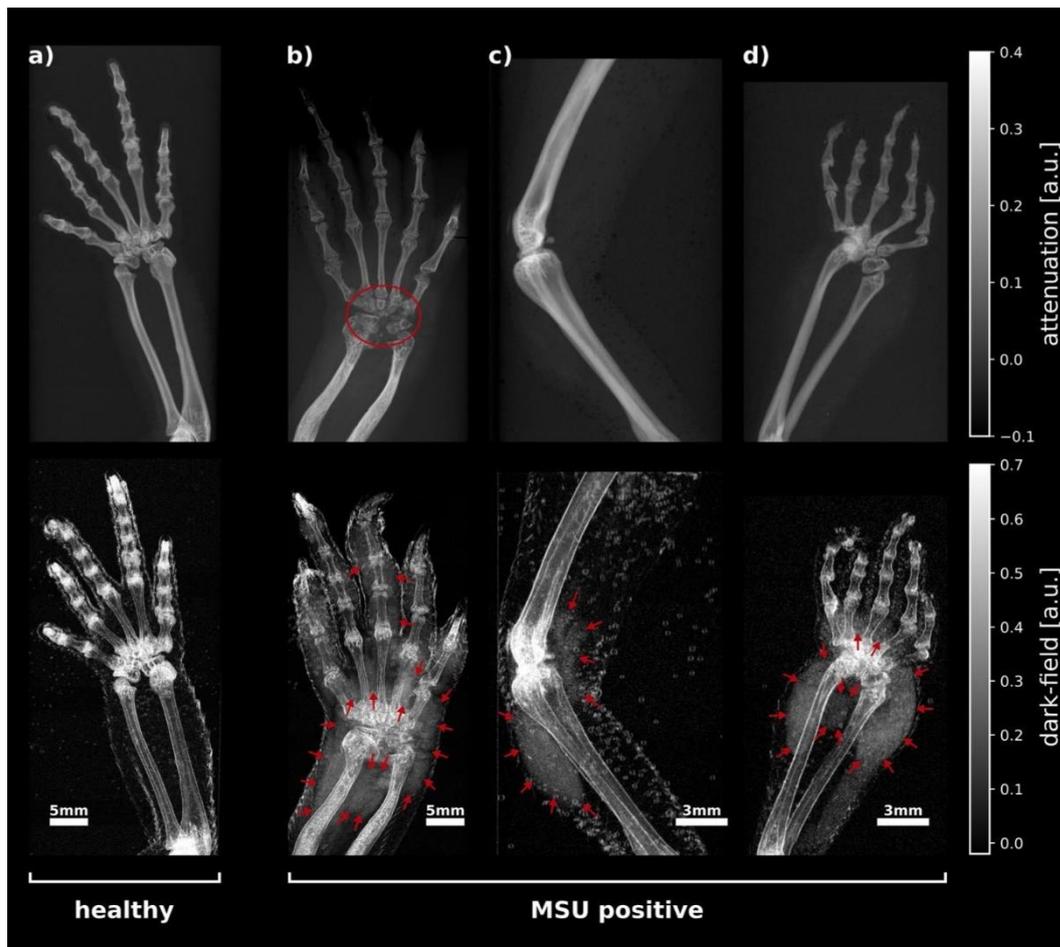


**Abbildung 5: Dunkelfeldsignal von subkutan injizierten MNU-Kristallen am Beispiel zweier Mäusehintergliedmaßen (Braig et al., 2020).**

Die obere Reihe zeigt die Gliedmaßen vor der Kristallinjektion, die untere Reihe nach der Injektion. Links im Bild ist jeweils das Absorptionsröntgenbild, rechts das Bild mit Dunkelfeldkontrast zu sehen.



**Abbildung 5: Beispielhafte Befunde aus der Sektion. Obere Reihe: Leopardgecko mit Gelenks- und Viszeralgicht. Untere Reihe: Grünsittich mit Gelenks- und Viszeralgicht (modifiziert nach Roiser et al., 2022).**



**Abbildung 6:** Darstellung von drei Gelenken mit Gichttophi im Vergleich mit einer gesunden Kontrolle (Scholz et al., 2021).

Zu sehen sind von links nach rechts: Karpus einer Bartagame, Karpus einer Wasseragame, Knie eines Leopardgeckos, Karpus desselben Leopardgeckos. In der oberen Reihe ist jeweils das Absorptionsröntgenbild, in der unteren Reihe das Bild mit Dunkelfeldkontrast zu sehen. Das durch die MNU-Kristalle verursachte Dunkelfeldsignal wird durch rote Pfeile markiert. Bei der Wasseragame ist außerdem eine Knochenlyse im Karpalgelenk (roter Kreis) zu sehen.

## **IV. PUBLIKATIONEN**

### **1. X-ray dark-field radiography: potential for visualization of monosodium urate deposition**

**Nathalie Roiser<sup>2\*</sup>, Eva Braig<sup>1\*</sup>,**

Melanie A. Kimm<sup>3</sup>, Madleen Busse<sup>1</sup>, Jana Andrejewski<sup>1</sup>, Josef Scholz<sup>1</sup>, Christian Petrich<sup>1</sup>, Alex Gustschin<sup>1</sup>, Andreas Sauter<sup>3</sup>, Jannis Bodden<sup>3</sup>, Felix Meurer<sup>3</sup>, Rüdiger Korbel<sup>2</sup>, Franz Pfeiffer<sup>1,3</sup>, Julia Herzen<sup>1</sup>, Daniela Pfeiffer<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Chair of Biomedical Physics, Department of Physics and Munich School of BioEngineering, Technical University of Munich, 85748 Garching, Germany;

<sup>2</sup>Clinic for Birds, Small Mammals, Reptiles and Ornamental Fish, Center for Clinical Veterinary Medicine, LMU University of Munich, 85764 Oberschleißheim, Germany

<sup>3</sup>Department of Diagnostic and Interventional Radiology, School of Medicine & Klinikum rechts der Isar, Technical University of Munich, 81675 München, Germany;

\* These authors contributed equally to this work

**doi: 10.1097/RLI.0000000000000671**

## ORIGINAL ARTICLE

## X-ray Dark-Field Radiography Potential for Visualization of Monosodium Urate Deposition

Eva-Maria Braig, MSc,\* Nathalie Roiser, DVM,† Melanie A. Kimm, PhD,‡ Madleen Busse, PhD,\*  
Jana Andrejewski, MSc,\* Josef Scholz, MSc,\* Christian Petrich, BSc,\* Alex Gustschin, MSc,\*  
Andreas Sauter, MD,‡ Jannis Bodden, MD,‡ Felix Meurer, MD,‡ Rüdiger Korbel, PhD,†  
Franz Pfeiffer, PhD,\*‡ Julia Herzen, PhD,\* and Daniela Pfeiffer, MD‡

**Objective:** The aim of this study was to evaluate the potential of x-ray dark-field radiography for the noninvasive detection of monosodium urate (MSU) crystals as a novel diagnostic tool for gout.

**Materials and Methods:** Contrast-to-noise ratios of MSU crystals in conventional radiography and dark-field radiography have been compared in a proof of principle measurement. Monosodium urate crystals have been injected into mouse legs in an ex vivo experimental gout setup. Three radiologists independently evaluated the images for the occurrence of crystal deposits in a blinded study for attenuation images only, dark-field images only, and with both images available for a comprehensive diagnosis. All imaging experiments have been performed at an experimental x-ray dark-field setup with a 3-grating interferometer, a rotating anode tube (50 kVp), and a photon-counting detector (effective pixel size, 166  $\mu\text{m}$ ).

**Results:** X-ray dark-field radiography provided a strong signal increase for MSU crystals in a physiological buffer solution compared with conventional attenuation radiography with a contrast-to-noise ratio increase from 0.8 to 19.3. Based on conventional attenuation images only, the reader study revealed insufficient diagnostic performance (sensitivity, 11%; specificity, 92%) with poor interrater agreement (Cohen's coefficient  $\kappa = 0.031$ ). Based on dark-field images, the sensitivity increased to 100%, specificity remained at 92%, and the interrater agreement increased to  $\kappa = 0.904$ . Combined diagnosis based on both image modalities maximized both sensitivity and specificity to 100% with absolute interrater agreement ( $\kappa = 1.000$ ).

**Conclusions:** X-ray dark-field radiography enables the detection of MSU crystals in a mouse-based gout model. The simultaneous availability of a conventional attenuation image together with the dark-field image provides excellent detection rates of gout deposits with high specificity.

**Key Words:** x-ray dark-field radiography, mono sodium urate crystals, gout, grating interferometry

(Invest Radiol 2020;00: 00–00)

Gout is one of the most common inflammatory arthritides with a worldwide prevalence ranging between 0.1% and 10%. Due to severe pain and danger of joint destruction, early diagnosis and treatment is crucial for patients.<sup>1</sup> The inflammation is caused by the deposition of monosodium urate (MSU) crystals in tissue and around joints when a certain threshold of serum urate is surpassed.<sup>2</sup>

It is important for primary care facilities to be able to confidently diagnose gout and rule out other conditions with similar symptoms such as septic arthritis because insufficient treatment can have severe consequences for the patient.

At present, MSU crystal analysis from synovial fluid (arthrocentesis) is considered the criterion standard for diagnosing gout.<sup>3</sup> However, different studies have shown that this technique requires specialized knowledge and training in reliably assessing synovia samples because recognition and identification of crystals vary extremely between different examiners.<sup>4,5</sup> Sensitivity, specificity, and reproducibility of crystal analysis was estimated as poor by a systematic review.<sup>6</sup> Furthermore, the arthrocentesis can be painful for the patient and bears the risk of joint infection.<sup>7</sup>

Other diagnostic methods include conventional radiography, ultrasonography, conventional computed tomography (CT), and dual-energy CT (DECT). Although conventional radiography is not suited to detect early stages of gout and ultrasonography is time-consuming and requires a well-trained examiner,<sup>8</sup> CT has been established as the best imaging technique for the assessment and characterization of crystal arthropathies in the past. Specifically, DECT has been reported to be able to identify MSU crystals with a specificity of 75% to 100%. False-negatives occur when crystal amounts are low or the size of tophi/crystals is less than 2 mm.<sup>9</sup>

The potential of x-ray dark-field radiography has been investigated in a variety of diagnostic fields: lung imaging, mammography, or kidney stone characterization, among others.<sup>10–17</sup> Most recently, it has been implemented into a prototype x-ray system close to routine human applications.<sup>18,19</sup> Hereby, the use of a grating interferometer makes subresolution refractive index fluctuations visible in terms of signal loss in the dark-field image channel. This signal loss is evoked by small angle scattering at porosities or fiber structures within the micrometer range.<sup>20</sup>

The purpose of this study was to investigate whether MSU crystals with microscopic needle structure elicit a signal in x-ray dark-field radiography. In addition, the noninvasive detection of crystals within biological tissue exhibiting the background of bones and soft tissue was evaluated. To this aim, an ex vivo mouse-based gout model was used.

### MATERIALS AND METHODS

#### X-ray Dark-Field Imaging With a Talbot-Lau Interferometer

X-ray dark-field radiography at conventional x-ray sources can be realized by using a 3-grating interferometer as illustrated in Figure 1. The highly absorbing source grating guarantees the necessary lateral beam-coherence for interference effects by serving as a series of line sources if placed in front of a conventional x-ray tube. The phase-grating produces a periodic intensity modulation at specific distances, known as Talbot distances. The phase shift of a sample causes then a slight transverse displacement of this intensity pattern, much smaller than the spatial resolution of the detector. To resolve the small shift, another absorbing grating is used. By moving one of the gratings in discrete steps over one period, a sinusoidal intensity curve is obtained for every

Received for publication January 7, 2020; and accepted for publication, after revision, February 9, 2020.

From the \*Chair of Biomedical Physics, Department of Physics and Munich School of BioEngineering, Technical University of Munich, Garching; †Clinic for Birds, Small Mammals, Reptiles, and Ornamental Fish, Center for Clinical Veterinary Medicine, LMU University of Munich, Oberschleißheim; and ‡Department of Diagnostic and Interventional Radiology, School of Medicine and Klinikum rechts der Isar, Technical University of Munich, München, Germany.

Eva-Maria Braig and Nathalie Roiser contributed equally to this work.

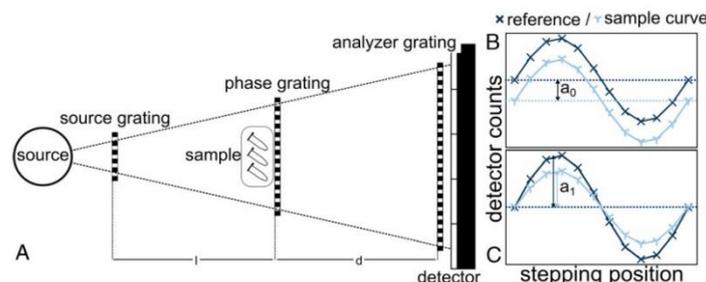
Conflicts of interest and sources of funding: none declared.

Correspondence to: Eva-Maria Braig, MSc, Chair of Biomedical Physics, Department of Physics and Munich School of BioEngineering, Technical University of Munich, James-Frank Str. 1, 85748 Garching, Germany. E-mail: eva.braig@mytum.de.

Copyright © 2020 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

ISSN: 0020-9996/20/0000-0000

DOI: 10.1097/RLI.0000000000000671



**FIGURE 1.** Schematic principle of a Talbot-Lau interferometer. A, The source grating splits the extended source into a series of line sources, providing the necessary beam coherence. The phase-grating produces a periodic interference pattern, which is scanned in discrete steps by an analyzer grating, leading to the so-called stepping curve (B and C). Inserting a sample into the beam path causes attenuation and scattering of the x-ray beam, causing a lowering of the mean value  $a_0$  of the stepping curve (B) and a decrease of its amplitude  $a_1$  (C). Subsequent postprocessing then yields the conventional attenuation image and the dark-field image.

pixel. Comparison with the undisturbed reference curve yields simultaneously the attenuation (from the mean value  $a_0$ ), the phase shift, and the loss of visibility (decrease of the amplitude  $a_1$ ) for every detector pixel. The latter is related to small angle scattering caused by subresolution refractive index fluctuations in the imaged object. A more detailed description of the method can be found in Pfeiffer et al.<sup>17,21</sup>

### Technical Parameters of the Imaging System

The measurements were conducted at a laboratory rotating anode tube (MicroMax HF007, Rigaku Inc, USA) operated at 50 kVp with a photon-counting detector (Eiger 500k, DECTRIS Ltd, Switzerland) with a pixel size of  $75 \times 75 \mu\text{m}^2$  and a 450- $\mu\text{m}$ -thick Si sensor. The detector was used in a 4-time binning mode such that, together with the geometric magnification, the effective pixel size was  $166 \times 166 \mu\text{m}^2$ .

The grating interferometer consists of a symmetric 3-grating setup with periods of 5.4  $\mu\text{m}$  and gold-filling heights of 70, 5.2, and 65  $\mu\text{m}$ , respectively. For every image, 11-phase steps were conducted with an exposure time of 1 second per step.

### Preparation of MSU Crystals

Monosodium urate crystals were prepared as previously described.<sup>22,23</sup> Briefly, equimolar quantities (10 mM) of uric acid sodium salt (Merck, Germany) and NaOH (Merck, Germany) were dissolved by heating the solution to 90°C. Subsequently, the solution was filtered and incubated at 40°C until MSU crystal precipitation was complete. Size and structure of the crystals were inspected by light microscopy (Axio Imager Z1, Zeiss, Germany) and found to be needle shaped and approximately 50 $\mu\text{m}$  long, which is consistent with the appearance of crystals described in the literature.<sup>23-25</sup> Crystals were air dried and stored at room temperature until usage.

### Animals

This study was approved by the government of Upper Bavaria, Germany, and followed the 3Rs guiding principles. Thirteen- to 14-week-old female C57B6/N mice (Janvier Laboratories) were euthanized with an injectable anesthetic overdose of ketamine-xylazine, and hind legs ( $n = 7$ ) were removed post mortem. Legs were chosen based on similar size, muscular mass, and the amount of skin left on the lateral thigh, fixated in 4% neutral-buffered formalin and stored at 4°C until usage.

### In Vitro and Ex Vivo X-ray Dark-Field Radiography Measurements

For in vitro studies, 10mg MSU crystals were resuspended in 100  $\mu\text{L}$  1  $\times$  phosphate-buffered saline (PBS) and imaged in a 1.5-mL reaction tube (Eppendorf, Germany). The contrast-to-noise ratio (CNR) was measured in the obtained x-ray dark-field and attenuation image

in 2 representative regions of interest of 50 pixels. For ex vivo imaging, formalin-fixed mouse hind legs were attached on a rubber board to avoid moving artifacts during scanning. Twenty to 80 mg of MSU crystals in 50  $\mu\text{L}$  1  $\times$  PBS were carefully injected subcutaneously with a 22-G cannula (Braun, Germany) into 3 hind legs, caudal of the knee joint. Images of each leg were taken before and immediately after crystal injection. Each image acquisition provides the conventional attenuation image simultaneously with the dark-field image.x

### Reader Study

Images were evaluated by 3 experienced radiologists (with 2, 3, and 6 years of experience, respectively). In addition, the readers had received a short introduction to x-ray dark-field imaging (by an experienced radiologist with additionally more than 8 years of experience in grating-based x-ray imaging research) by demonstrating 2 test images, which were not included into the image set of the reader study. Within the study, 3 of 7 cases contained MSU crystals (positive samples) and 4 of 7 cases did not contain MSU crystals (negative control).

All image sets were evaluated for the appearance of MSU crystals in the form of a yes/no decision. The evaluation was divided into 3 reading sessions, which were conducted with a time delay of 2 weeks and a randomized order to minimize recall bias. In the first sequence, only the attenuation images were evaluated, in the second sequence, only the dark-field images were analyzed, and in the last sequence, both images together were available for the readers. The readers were asked whether they could detect crystals on the x-ray images and how confident they were about their statement on a 4-point scale from 0 to 3 (0, not confident; 1, moderately confident; 2, quite confident; and 3, highly confident).

### Statistical Analysis

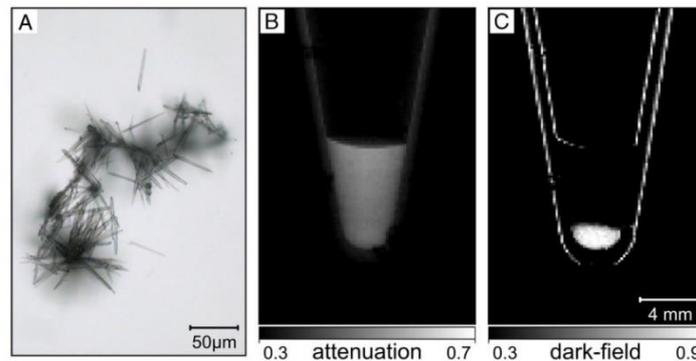
The sensitivity and specificity were determined for detecting the MSU crystals in the attenuation image, in the dark-field image and when evaluating both images simultaneously.

The interrater agreement between the 3 readers was quantified via the Cohen's kappa coefficient ( $\kappa$ ). To compare the reader's confidence between the 3 viewing sessions, the nonparametrical Friedman test was used. Pairwise post hoc comparisons were Bonferroni corrected (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0; IBM Corp, USA). The level of significance was set at  $P < 0.05$ .

## RESULTS

### X-ray Dark-Field Imaging of MSU Crystals In Vitro

To assess the ability to target MSU crystals with x-ray dark-field radiography, we imaged MSU crystals dispersed in a physiological buffer



**FIGURE 2.** Microscope image and x-ray images of plain monosodium urate (MSU) crystals. A, Light microscopy image of the needle-like shaped MSU crystals. B, X-ray attenuation image, where 10 mg MSU crystals in a physiological buffer solution (PBS) show no visible contrast between the 2 components. C, X-ray dark-field image, where the sedimented MSU crystals can clearly be separated from the PBS solution. The fluid level can be slightly seen as a subtle line without further contrast from the background.

solution. Monosodium urate crystal formation and shape was controlled by light microscopy imaging (Fig. 2A). The attenuation x-ray image of the MSU crystals demonstrated a homogeneous attenuation (Fig. 2B) throughout the suspension. The x-ray dark-field image, however, showed a strong signal increase at the bottom of the reaction tube where the MSU crystals were sedimented (Fig. 2C). The increase in the CNR confirms the visual impression. The CNR between the MSU crystals and the PBS solution was 0.8 in the attenuation image and 19.3 in the dark-field image.

#### Visual Ex Vivo Dark-Field Signal Detection of MSU Crystals

Figure 3 presents the attenuation (Figs. 3A–C, left column) and dark-field images (Figs. 3A–C, right column) of 3 hind legs before and after MSU crystal application, respectively. There was no visual signal correlation detected in the attenuation images (Figs. 3A–C, left columns) verifying the results of the in vitro analysis. Visual differences within the attenuation images can be related to static grating imperfections, which appear as more or less round radiolucent spots. Comparison of the dark-field images before and after the injection of MSU crystals demonstrated a strong signal increase in the soft tissue ventral of the proximal fibula (Figs. 3A–C, bottom row, right columns, circles). The signal was strongest at the head of the fibula (Fig. 3A),

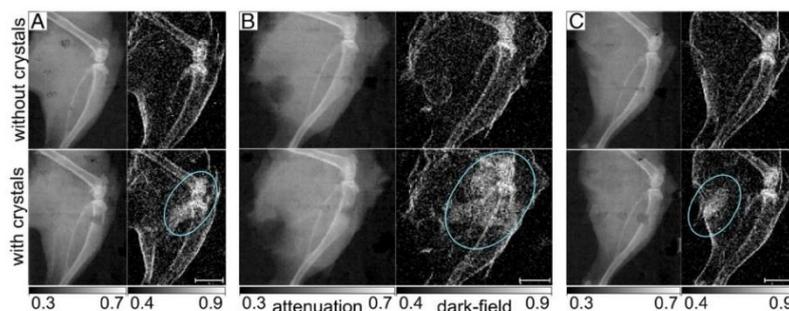
the regio poplitei with extension into the tuberositas tibiae (Fig. 3B), and in the soft tissue of the regio genus posterior (Fig. 3C). In all cases, the signal extended with blurred margins into the periphery due to the injection technique. The corresponding attenuation images did not show any density changes in the described areas. Therefore, the signal can unambiguously be attributed to the refractive index fluctuations caused by the injected MSU crystals.

#### Reader Study Evaluation

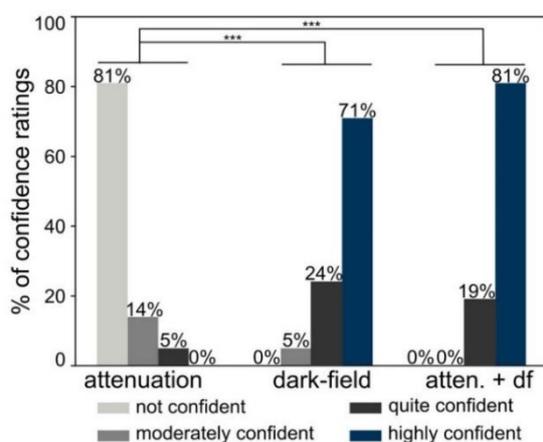
The interrater agreement for assessment of attenuation images (7 test cases, 3 with MSU crystals, and 4 without) alone was poor ( $\kappa = 0.031$ ). In contrast, there was strong agreement for the assessment of the dark-field images ( $\kappa = 0.904$ ) and absolute agreement when both images were assessed together ( $\kappa = 1.000$ ). Based on the conventional attenuation image, a reliable diagnosis was not possible (sensitivity, 11%; specificity, 92%), and the readers indicated a confidence level of 0 in 81% of the cases.

The assessment of the dark-field images yielded a 100% sensitive and 92% specific diagnosis and a confidence level of 3 was indicated in 71% of the cases (24% indicated a level of 2).

The comparative diagnosis with both images available resulted in sensitivity and specificity of 100%, respectively. Eighty-one percent of confidence ratings had a level of 3, 19% a level of 2. Figure 4 shows an overview of the confidence ratings during the 3 reading sessions.



**FIGURE 3.** Ex vivo detection of MSU crystals using dark-field imaging. X-ray attenuation (left column) and dark-field images (right column) of 3 mouse legs before (top row) and after MSU crystal injection (bottom row). Crystals were injected into the popliteal region close to the knee joint (circles) to reflect the pathophysiological situation in vivo. The scale bar corresponds to 4 mm.



**FIGURE 4.** Results of a reader study, showing the distribution of confidence ratings between 3 viewing sessions. The attenuation images, the dark-field images, and both images together have been examined in 3 rounds with a time delay by 3 readers. Every image was examined for the appearance of crystal deposition and every diagnosis was assigned with a confidence level. Distribution of confidence ratings between the 3 viewing sessions are displayed in bar charts. Significance (\*\*\*)  $P \leq 0.001$ .

Confidence ratings differed highly significant between the evaluation of attenuation and dark-field images ( $z = -4.629$ ,  $P_{\text{corrected}} \leq 0.001$ ). They also differed highly significant between attenuation and combined dark-field and attenuation images ( $z = -5.092$ ,  $P_{\text{corrected}} \leq 0.001$ ). These results indicate that the signal increase in the dark-field imaging technique improves the radiographic sensitivity of MSU crystals significantly, and the combined simultaneous availability of attenuation and dark-field minimizes the risk of false-positive diagnosis.

## DISCUSSION

The present study demonstrates the ability of MSU crystal detection with x-ray dark-field radiography in a mouse-based gout model. The simultaneous availability of the conventional attenuation image together with the dark-field image provides excellent detection rates of gout deposits with high specificity.

Monosodium urate crystals in PBS solution led to a significant increase of dark-field signal compared with standard attenuation radiography, which has been quantified by calculation of the CNR value. The crystal suspension has been injected post mortem into mouse hind legs to simulate gout-crystal deposition. Additional to qualitative description and demonstration of the noninvasive detectability of the crystals ex vivo, a blinded reader study has confirmed the highly beneficial effect of dark-field imaging for detecting MSU crystals in radiography. Particularly, the simultaneous presentation of the attenuation and dark-field image allows for comparative diagnostics and maximizes the diagnostic reliability.

The potential diagnostic benefit from the x-ray dark-field signal in addition to the conventional attenuation signal has been widely investigated during the last decade. Especially the strong visibility of structural changes in the lung was demonstrated in many animal studies, which showed how dark-field imaging can significantly improve the diagnostic of pulmonary diseases such as fibrosis,<sup>26,27</sup> lung cancer,<sup>28</sup> emphysema,<sup>10,29,30</sup> and pneumothorax<sup>31</sup> as well as acute inflammation of the lung.<sup>11</sup> The latter has not only been examined in murine models but also in pigs and human corpses.<sup>32-34</sup> These results show that x-ray dark-field imaging has a high potential as a novel diagnostic tool in the clinics.

Beside the high potential in lung imaging, first studies evaluated the impact of x-ray dark-field imaging for advanced material characterization based on the structure of crystals and calcifications in nanoscale. It has been shown that kidney stones and breast microcalcifications can be detected and differentiated when comparing dark-field and absorption signal strength in x-ray dark-field radiography.<sup>14,15,35,36</sup>

As a first proof of concept, the current study contains some limitations that should be addressed in subsequent studies. Due to the anatomical small size of the mouse leg, an injection directly into the joint was not reliably feasible and should be realized in a follow-up study with larger animals. Besides, the sensitivity and signal strength at higher energies as necessary for x-ray imaging of larger animals must be analyzed.

No clear cutoff regarding the critical MSU amount for joint inflammation is known so far. Faires and Mccarty<sup>25</sup> reported an amount of 6 mg MSU crystals causing inflammation in dogs' knees. In the study, the amount of injected MSU crystals was 20 to 80 mg. However, regarding the strong signal increase compared with conventional attenuation radiography, it is expected that dark-field imaging can contribute to more reliable, less invasive, and clearly simplified gout detection. Future studies should focus on different crystal concentrations to determine the lowest detectable MSU crystal deposition close to the bone as the dark-field signal arising from structural variations of bone structures around the joint may limit the detectability of small amounts of crystal deposition.

At last, it should be mentioned that the amount of test cases for the statistical analysis was relatively low. Still, the clear signal improvement demonstrates the potential of the method for noninvasive crystal detection, and it can serve as a first prove of principle to encourage further investigation on this approach.

Especially in context of the current state of the art in gout detection, which relies mostly on invasive joint puncture, the noninvasive character of x-ray dark-field imaging makes the technique promising for gout diagnosis and monitoring. As mentioned earlier, joint puncture can lead to infections, and crystal analysis of the synovial fluid is not always reliable. Ultrasound as a diagnostic method is suitable to detect joint effusions and synovitis, and to study cartilage, tendons, and bone contour.<sup>37</sup> However, ultrasound is a time-consuming procedure, which requires specialized examiners. Conventional radiography can show typical changes in late state gout patients, such as erosions and deformities of the bones as well as soft tissue and intraosseous tophi. However, in early state gout, conventional radiography is not suitable to make the diagnosis. Therefore, ultrasound and conventional radiography are both examinations important to stage and monitor the destruction that has already been inflicted on the joint and periarthral structures. Dual-energy CT can help to differentiate between different materials, and thus, detection of MSU crystals is possible. Today, DECT is mainly used to establish the diagnosis of gout in difficult cases.<sup>38</sup> However, the restricted availability prevents DECT from being the method of choice. Furthermore, it may not detect small amounts of MSU crystals.

The main advantage of x-ray dark-field radiography is its noninvasiveness with potentially lower x-ray dose levels than CT being a single projection technique. X-ray dark-field imaging always comes with a conventional attenuation-based radiograph, and an additional dark-field image, which adds information on the scattering characteristics of the examined object. Therefore, x-ray dark-field radiography reveals the anatomical changes in bones and soft tissue as it is known from conventional radiography but adds the complementary information of material-dependent x-ray scattering. Thus, x-ray dark-field radiography provides information on the microstructure, which helps to detect crystals because of their scattering properties, despite the only weak attenuation contrast due to the low density of MSU crystals.

The next step must be to evaluate x-ray dark-field radiography for early detection of gout in patients. The occurrence of tophi in chronic gout affects most frequently the joints and especially the metatarsal-phalangeal joint of the first toe but also the fingers, the knees, or the wrists. These body parts can already be examined with existing x-ray

dark-field scanners, for example, a system which is approved for pre-clinical examinations of cartilage in joints.<sup>19</sup> Most recently, a technical realization of a Talbot-Lau scanner has been presented, which fulfills even the strict dose requirements for mammography.<sup>39</sup> Therefore, we believe that this technique has a strong potential to complement present imaging tools, soon. Accordingly, the further probing of the clinical relevance of x-ray dark-field gout detection must be forwarded to make the advantages of the new technique accessible for a broad range of patients.

#### ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Dr Sven Reese from the Department of Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, LMU Munich, for statistical analysis. We acknowledge financial support through the European Research Council (AdG 695045). This work was carried out with the support of the Karlsruhe Nano Micro Facility ([www.kit.edu/knmf](http://www.kit.edu/knmf)), a Helmholtz Research Infrastructure at Karlsruhe Institute of Technology. We acknowledge financial support through the European Research Council (AdG 695045) and the DFG (GRK 2274).

#### REFERENCES

- Kuo CF, Grainge MJ, Zhang W, et al. Global epidemiology of gout: prevalence, incidence and risk factors. *Nat Rev Rheumatol*. 2015;11:649–662.
- Perez-Ruiz F, Dalbeth N, Bardin T. A review of uric acid, crystal deposition disease, and gout. *Adv Ther*. 2015;32:31–41.
- Hamburger M, Baraf HS, Adamson TC, et al. European League Against Rheumatism. 2011 Recommendations for the diagnosis and management of gout and hyperuricemia. *Postgrad Med*. 2011;123(6 suppl 1):3–36.
- McGill N, York H. Reproducibility of synovial fluid examination for crystals. *Aust N Z J Med*. 1991;21:710–713.
- Graf S, Buchbinder R, Zochling J, et al. The accuracy of methods for urate crystal detection in synovial fluid and the effect of sample handling: a systematic review. *Clin Rheumatol*. 2013;32:225–232.
- Segal JB, Albert D. Diagnosis of crystal-induced arthritis by synovial fluid examination for crystals: lessons from an imperfect test. *Arthritis Care Res*. 1999;12:376–380.
- Geirsson AJ, Statkevicius S, Vikingson A. Septic arthritis in Iceland 1990–2002: increasing incidence due to iatrogenic infections. *Ann Rheum Dis*. 2008;67:638–643.
- Ragab G, Elshahaly M, Bardin T. Gout: an old disease in new perspective - a review. *J Adv Res*. 2017;8:495–511.
- Omoumi P, Zufferey P, Malghem J, et al. Imaging in gout and other crystal-related arthropathies. *Rheum Dis Clin North Am*. 2016;42:621–644.
- Yaroshenko A, Meinel FG, Bech M, et al. Pulmonary emphysema diagnosis with a preclinical small-animal x-ray dark-field scatter-contrast scanner. *Radiology*. 2013;269:427–433.
- Hellbach K, Meinel FG, Conlon TM, et al. X-ray dark-field imaging to depict acute lung inflammation in mice. *Sci Rep*. 2018;8:2096.
- Thüring T, Guggenberger R, Alkadi H, et al. Human hand radiography using x-ray differential phase contrast combined with dark-field imaging. *Skeletal Radiol*. 2013;42:827–835.
- Braig EM, Birmbacher L, Schaff F, et al. Simultaneous wood and metal particle detection on dark-field radiography. *Eur Radiol Exp*. 2018;2:1.
- Scherer K, Braig E, Ehn S, et al. Improved diagnostics by assessing the micromorphology of breast calcifications via x-ray dark-field radiography. *Sci Rep*. 2016;6:36991.
- Scherer K, Braig E, Willer K, et al. Non-invasive differentiation of kidney stone types using x-ray dark-field radiography. *Sci Rep*. 2015;5:9527.
- Michel T, Rieger J, Anton G, et al. On a dark-field signal generated by micrometer-sized calcifications in phase-contrast mammography. *Phys Med Biol*. 2013;58:2713–2732.
- Pfeiffer F, Bech M, Bunk O, et al. Hard-x-ray dark-field imaging using a grating interferometer. *Nat Mater*. 2008;7:134–137.
- Kochler T, Daerr H, Martens G, et al. Slit-scanning differential x-ray phase-contrast mammography: proof-of-concept experimental studies. *Med Phys*. 2015;42:1959–1965.
- Momose A, Yashiro W, Kido K, et al. X-ray phase imaging: from synchrotron to hospital. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*. 2014;372:20130023.
- Malecki A, Potdevin G, Pfeiffer F. Quantitative wave-optical numerical analysis of the dark-field signal in grating-based x-ray interferometry. *EPL*. 2012;99:48001.
- Pfeiffer F, Weitkamp T, Bunk O, et al. Phase retrieval and differential phase-contrast imaging with low-brilliance x-ray sources. *Nature Phys*. 2006;2:258–261.
- Perrin CM, Dobish MA, Van Keuren E, et al. Monosodium urate monohydrate crystallization. *Cryst Eng Comm*. 2011;13:1111–1117.
- Pouliot M, James MJ, McColl SR, et al. Monosodium urate microcrystals induce cyclooxygenase-2 in human monocytes. *Blood*. 1998;91:1769–1776.
- Cheng X, Haggins DG, York RH, et al. Analysis of crystals leading to joint arthropathies by Raman spectroscopy: comparison with compensated polarized imaging. *Appl Spectrosc*. 2009;63:381–386.
- Faires J, Mccarty D Jr. Acute arthritis in man and dog after intrasynovial injection of sodium urate crystals. *Lancet*. 1962;280:682–685.
- Yaroshenko A, Hellbach K, Yıldırım AÖ, et al. Improved in vivo assessment of pulmonary fibrosis in mice using x-ray dark-field radiography. *Sci Rep*. 2015;5:17492.
- Hellbach K, Yaroshenko A, Willer K, et al. X-ray dark-field radiography facilitates the diagnosis of pulmonary fibrosis in a mouse model. *Sci Rep*. 2017;7:340.
- Scherer K, Yaroshenko A, Bölükbas DA, et al. X-ray dark-field radiography - in vivo diagnosis of lung cancer in mice. *Sci Rep*. 2017;7:402.
- Hellbach K, Yaroshenko A, Meinel FG, et al. In vivo dark-field radiography for early diagnosis and staging of pulmonary emphysema. *Invest Radiol*. 2015;50:430–435.
- Meinel FG, Yaroshenko A, Hellbach K, et al. Improved diagnosis of pulmonary emphysema using in vivo dark-field radiography. *Invest Radiol*. 2014;49:653–658.
- Hellbach K, Yaroshenko A, Willer K, et al. Facilitated diagnosis of pneumothoraces in newborn mice using x-ray dark-field radiography. *Invest Radiol*. 2016;51:597–601.
- Hellbach K, Baehr A, De Marco F, et al. Depiction of pneumothoraces in a large animal model using x-ray dark-field radiography. *Sci Rep*. 2018;8:2602.
- Gromann LB, De Marco F, Willer K, et al. In-vivo x-ray dark-field chest radiography of a pig. *Sci Rep*. 2017;7:4807.
- Willer K, Fingerle AA, Gromann LB, et al. X-ray dark-field imaging of the human lung-a feasibility study on a deceased body. *PLOS One*. 2018;13:e0204565.
- Stampanoni M, Wang Z, Thüring T, et al. The first analysis and clinical evaluation of native breast tissue using differential phase-contrast mammography. *Invest Radiol*. 2011;46:801–806.
- Hauser N, Wang Z, Kubik-Huch RA, et al. A study on mastectomy samples to evaluate breast imaging quality and potential clinical relevance of differential phase contrast mammography. *Invest Radiol*. 2014;49:131–137.
- Durcan L, Grainger R, Keen HI, et al. Imaging as a potential outcome measure in gout studies: a systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum*. 2016;45:570–579.
- Pascart T, Lioté F. Gout: state of the art after a decade of developments. *Rheumatology (Oxford)*. 2018;58:27–44.
- Arboleda C, Wang Z, Jefimovs K, et al. Towards clinical grating-interferometry mammography. *Eur Radiol*. 2020;30:1419–1425.

## **2. X-ray dark-field radiography for in situ gout diagnosis by means of an ex vivo animal study**

Josef Scholz<sup>\*a</sup>, **Nathalie Roiser**<sup>b</sup>, Eva-Maria Braig<sup>a</sup>, Christian Petrich<sup>a</sup>, Lorenz Birnbacher<sup>c</sup>, Jana Andrejewski<sup>a</sup>, Melanie A. Kimm<sup>c</sup>, Andreas Sauter<sup>c</sup>, Madleen Busse<sup>a</sup>, Rüdiger Korbel<sup>b</sup>, Julia Herzen<sup>1,a</sup>, and Daniela Pfeiffer<sup>1,c,d</sup>.

<sup>1</sup> These authors are joint senior authors

<sup>a</sup> Chair of Biomedical Physics, Department of Physics and Munich School of BioEngineering, Technical University of Munich, 85748 Garching, Germany

<sup>b</sup> Clinic for Birds, Small Mammals, Reptiles and Ornamental Fish, Centre for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, 85764 Oberschleißheim, Germany

<sup>c</sup> Department of Diagnostic and Interventional Radiology, School of Medicine & Klinikum rechts der Isar, Technical University of Munich, 81675 München, Germany

<sup>d</sup> Institute for Advanced Study, Technical University of Munich, 85748 Garching, Germany

**doi: 10.1038/s41598-021-98151-0**

## scientific reports

**OPEN** X-ray dark-field radiography for in situ gout diagnosis by means of an ex vivo animal study

Josef Scholz<sup>1,✉</sup>, Nathalie Roiser<sup>2</sup>, Eva-Maria Braig<sup>1</sup>, Christian Petrich<sup>1</sup>, Lorenz Birnbacher<sup>3</sup>, Jana Andrejewski<sup>1</sup>, Melanie A. Kimm<sup>3,4</sup>, Andreas Sauter<sup>3</sup>, Madleen Busse<sup>1</sup>, Rüdiger Korbel<sup>2</sup>, Julia Herzen<sup>1,6</sup> & Daniela Pfeiffer<sup>3,5,6</sup>

Gout is the most common form of inflammatory arthritis, caused by the deposition of monosodium urate (MSU) crystals in peripheral joints and tissue. Detection of MSU crystals is essential for definitive diagnosis, however the gold standard is an invasive process which is rarely utilized. In fact, most patients are diagnosed or even misdiagnosed based on manifested clinical signs, as indicated by the unchanged premature mortality among gout patients over the past decade, although effective treatment is now available. An alternative, non-invasive approach for the detection of MSU crystals is X-ray dark-field radiography. In our work, we demonstrate that dark-field X-ray radiography can detect naturally developed gout in animals with high diagnostic sensitivity and specificity based on the in situ measurement of MSU crystals. With the results of this study as a potential basis for further research, we believe that X-ray dark-field radiography has the potential to substantially improve gout diagnostics.

Gout is a form of arthritis caused by the deposition of monosodium urate (MSU) crystals at peripheral joints<sup>1</sup>. The crystal deposition is caused by hyperuricemia defined by an elevated level of serum uric acid. Causes of hyperuricemia can be of primary or secondary nature including reduced tubular urate excretion<sup>2</sup>, endogenous overproduction of purines (tissue decay, chemotherapy, leukemia)<sup>3</sup>, or an excessive purine intake (purine rich diet, consumption of alcohol)<sup>4,5</sup>. Gout can lead to severe joint damage if left untreated and is often accompanied with cardiovascular, metabolic, or renal syndromes<sup>6</sup>. Therefore, a quick and reliable diagnosis is essential to prevent extending damage.

To date, the analysis of synovial fluid and the identification of MSU crystals using polarized light microscopy is the diagnostic standard of reference, however studies have shown that this method is rarely used in primary care facilities<sup>7</sup>. In addition, however, synovial fluid extraction is an invasive procedure that requires joint aspiration (arthrocentesis). Only chronic joint lesions caused by gout can be detected via conventional radiography, which is thus not suitable for the diagnosis of an acute gout arthritis<sup>8</sup>. Further imaging techniques such as ultrasound and dual-energy CT (DECT) have shown their potential in early diagnosis of gout and have been integrated into the new American College of Rheumatology (ACR) and European League Against Rheumatism (EULAR) classification criteria together with clinical characteristics<sup>9</sup>. Sonography is a time consuming examination which requires a well-trained examiner<sup>10</sup>. DECT is reported to have specificity rates of 75% to 100% in detecting MSU crystals<sup>8</sup>, but it is only available in specialized clinics so far and causes radiation exposure<sup>10</sup>.

Grating-based X-ray dark-field radiography is an advanced X-ray imaging technique that utilizes X-ray scattering to reveal microstructural information far below image resolution<sup>11</sup>. The origin of contrast of this imaging technique is small-angle scattering induced by micrometer-scale fluctuations in electron density. The potential of X-ray dark-field radiography has been investigated in different diagnostic fields over the last decade. Previous studies in animals have confirmed high diagnostic sensitivity of pulmonary emphysema and fibrosis, lung cancer, and pneumothorax<sup>12–15</sup>. Furthermore, human ex vivo studies have shown that dark-field radiography can be used to visualize otherwise non-resolvable microcalcifications and to assess the morphology of

<sup>1</sup>Chair of Biomedical Physics, Department of Physics and Munich School of BioEngineering, Technical University of Munich, James-Frank Str. 1, 85748 Garching, Germany. <sup>2</sup>Clinic for Birds, Small Mammals, Reptiles and Ornamental Fish, Centre for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, 85764 Oberschleißheim, Germany. <sup>3</sup>Department of Diagnostic and Interventional Radiology, School of Medicine & Klinikum rechts der Isar, Technical University of Munich, 81675 Munich, Germany. <sup>4</sup>Department of Radiology, University Hospital, LMU Munich, 81377 Munich, Germany. <sup>5</sup>Institute for Advanced Study, Technical University of Munich, 85748 Garching, Germany. <sup>6</sup>These authors jointly supervised this work: Julia Herzen and Daniela Pfeiffer. ✉email: josef.scholz@tum.de



**Figure 1.** Hind limb of a water dragon with an opened metatarsophalangeal joint (red circle) containing chalky, white material.

Animal no.	Limb	MSU positive	MSU crystal location
Animal #1	Right hind	No	N/a
Animal #1	Left front	No	N/a
Animal #2	Right front	Yes	Elbow, carpus
Animal #2	Right hind	Yes	Metatarsophalangeal joint, tarsus, toe joints
Animal #3	Left front	No	N/a
Animal #4	Right front	No	N/a
Animal #5	Left front	Yes	Elbow, carpus
Animal #5	Left hind	Yes	Hip, metatarsophalangeal joint, knee

**Table 1.** Overview of the MSU crystal analysis findings and crystal deposition sites of all excised animal limbs.

microcalcifications. In atherosclerosis, the presence of microcalcifications is considered an indicator of plaque stability, whereas the morphological characteristics provide information about the malignancy of the observed lesions in mammography<sup>16–18</sup>. A recent orientation study has demonstrated that X-ray dark-field radiography is able to detect MSU crystals in a murine gout model based on the injection of synthetic crystals<sup>19</sup>. To date, there is only sparse information available on the concentration of MSU at which inflammatory reactions are to be expected. Faires and McCarthy<sup>20</sup> reported an amount of 6 mg MSU crystals above which inflammatory reactions were observed after injection into dog knees. Whether gout can be diagnosed by dark-field radiography is therefore difficult to answer by *in vitro* experiments.

In contrast to humans and primates, most other mammals metabolize purines to urea, which is then excreted in the urine<sup>21</sup>. The latter cannot develop gout naturally, so in classical animal experiments with mice, rats and rabbits, gouty arthritis needs to be artificially induced by injection of exogenous MSU crystals. To date, there are no environmentally or genetically induced animal models targeting the development of gouty arthritis<sup>22</sup>. Birds and reptiles on the other hand have a similar purine break down into uric acid and are therefore able to develop gout by MSU crystal deposition causing an inflammatory reaction corresponding to gouty arthritis<sup>23</sup>. This makes these animals a suitable model for *in situ* gout studies.

This work aims to evaluate the diagnostic value of X-ray dark-field radiography for the detection of MSU crystals *in situ* in animals with naturally developed gout by means of an explorative *ex vivo* animal study. In detail, we measured several different reptile joints with X-ray dark-field radiography and corresponding X-ray attenuation radiography, assessed the data in a reader study, and compared our results with polarized microscopy being the ground truth.

## Results

**Necropsy findings.** Three of five animals had a history of suspected gout, which in two cases (one leopard gecko and one water dragon) could be confirmed by pathological examination and arthrocentesis. Both animals had severely deformed limbs. Especially the carpus, tarsus and the metatarsophalangeal joints were swollen and contained a chalky, white material. Figure 1 shows a hind limb of a water dragon with the described articular deposits in an opened proximal interphalangeal joint indicated by a red circle. In further pathological examination, the kidneys were swollen and lightened in color. The leopard gecko also showed multiple yellowish to white granulomas covering its serosa, especially the liver capsule.

**Arthrocentesis.** Microscopically, MSU crystals were found in the joints of two animals. Table 1 indicates whether needle shaped MSU crystals were detected at all and the location of MSU crystals. The crystals were



**Figure 2.** Microscope image of needle shaped MSU crystals, which were extracted from the knee of a leopard gecko.

found to range in size from 2.5 to 56  $\mu\text{m}$ , and the average size of the crystals varied between the different localizations (i.e. leopard gecko hip: 25  $\mu\text{m}$ , tarsus: 8  $\mu\text{m}$ , internal granuloma: 46  $\mu\text{m}$ ).

Figure 2 shows a microscope image of needle shaped MSU crystals extracted from the knee of the leopard gecko.

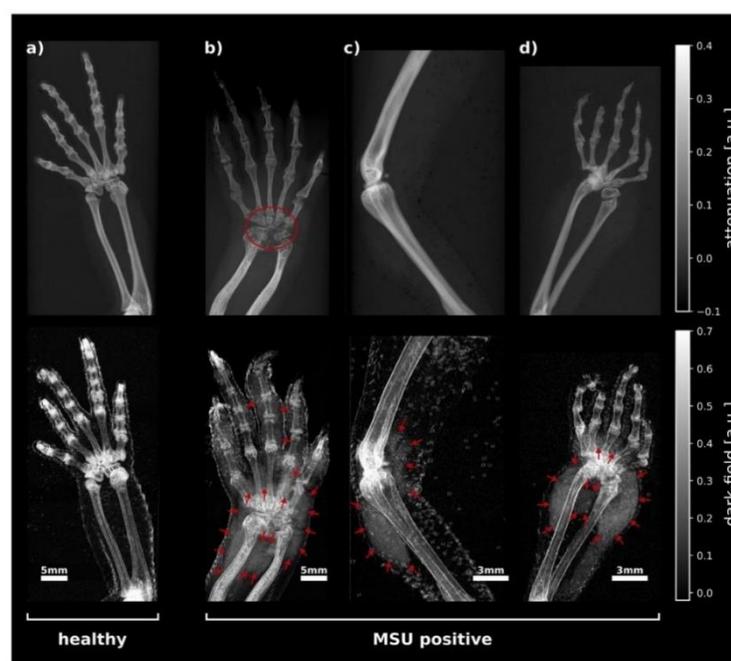
**Dark-field measurements.** Prior to arthrocentesis, X-ray dark-field and attenuation radiographies of the excised animal limbs were taken. Figure 3 shows attenuation contrast (ATC) and dark-field contrast (DFC) radiographs of one healthy (Fig. 3a) and three proven MSU positive (Fig. 3b–d) excised animal limbs. In the attenuation radiography of the healthy sample a strong signal from bones can be measured, but no visible signs of bone deformation or crystal deposition. In the dark-field radiography there is also a signal from the bones and a stronger signal at the joints of the fingers as well as at the elbow. Further, a slight signal at the soft-tissue borders can be observed. The ATC radiographs of the MSU positive samples also show a signal originating from the bone. However, in contrast to the healthy specimen, bone deformations on the carpus in one of the MSU positive samples are visible (Fig. 3b, red circle). No ATC signal can be detected in the MSU positive samples indicating the presence of no MSU deposits. In contrast to the healthy sample, the dark-field radiographs of MSU positive samples show a strong signal in the soft tissue around joints and bones. In Fig. 3b–d the corresponding regions are indicated by red arrows. Figure 3b shows an extended dark-field signal in the soft tissue surrounding the carpus, metacarpals and finger joints. In the specimen shown in Fig. 3c, two areas with a strong dark-field signal are visible around the knee. Inside the third MSU positive sample (Fig. 3d), an increased dark-field signal can be observed in the soft tissue surrounding the carpus and the metacarpalia.

In all dark-field radiographs, a signal emanating from the bones is visible and more pronounced in the area of the joints. The visibility of bone in dark-field radiographs is attributable to the bone microstructure, but also partly to beam-hardening effects<sup>24</sup>. Accordingly, the beam-hardening induced dark-field signal correlates with the corresponding ATC radiographs. The increased signal from bone in areas close to joints originates from the microstructure in trabecular bone<sup>25</sup>. The slight dark-field signal occurring at soft tissue transitions is an artifact caused by strong electron density gradients<sup>26,27</sup>. Due to the same effect, small air bubbles adhering to the skin surface of the samples are also visible in the dark-field signal (cf. Fig. 3c). In contrast to these features, which occur in all dark-field images, extensive signals in peripheral soft tissue around joints occur only in the MSU positive samples and are not visible in the corresponding attenuation images. The locations of these areal dark-field signals are consistent with regions in which MSU crystals were detected during pathological examinations. The image impressions for the remaining samples were similar to the examples shown in Fig. 3. Radiographs of all animal samples as listed in Table 1 are available as supplementary digital content (Supplemental Digital Content 1, Figure SI 1 and Figure SI 2).

**Reader study.** A reader study was conducted to evaluate the potential of dark-field imaging compared to standard absorption-based imaging for the detection of gout *in situ*.

The detection of MSU crystals was not possible based on attenuation radiographs alone (sensitivity = 0%, specificity = 87.5%). In contrast, evaluation based on dark-field data only (sensitivity = 60%, specificity = 100%) as well as the combination of dark-field and attenuation images (sensitivity = 60%, specificity = 100%) provided a much better diagnostic value. Each MSU-positive sample in this study had multiple regions of MSU deposits, which could not all be identified by the radiologists. However, at least one region was detected in each of the MSU-positive samples. For this purpose, if only the general presence of MSU crystals in the examined samples is taken into account, independent of a specification of certain regions, the sensitivity reaches a value of 100% with a specificity of 100% if dark-field images alone or dark-field in combination with attenuation data are provided.

Regarding the assessment of the dark-field data alone and the combined data of attenuation and dark-field data, there is a perfect agreement ( $\kappa = 1.000$ ) between the individual readers in both cases. The calculation of



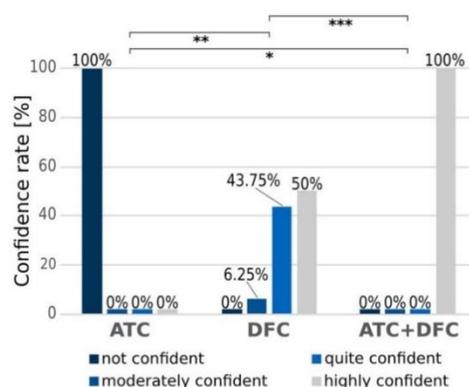
**Figure 3.** Attenuation (upper row) and dark-field (bottom row) radiographs of an MSU negative ('healthy') (a) and three MSU positive (b)–(d) reptile limbs. The attenuation images do not show any signs of MSU deposits. In (b) however, osseous destruction of the carpus are visible (red circle), which are a sign but do not explicitly indicate gout. In contrast to the healthy specimen, the X-ray dark-field radiographs of the MSU-positive samples show areas with increased signal in the peripheral soft tissue around joints and bones (red arrows), which indicate the presence of MSU crystals. The locations of these areal dark-field signals are consistent with regions in which MSU crystals were detected during pathological examinations. In all cases, the dark-field radiographs show a signal emanating from bones and joints and also from the water-soft tissue boundaries.

a Cohen's Kappa was not possible in the case of attenuation images only because the assessment of one reader showed zero variance (no sample was given a positive diagnosis of gout by this reader).

Figure 4 shows the distribution of confidence scores for all three scenarios, where either only attenuation images, only dark-field images, or both attenuation and dark-field images are available simultaneously. In the assessment of attenuation images alone the readers reported a confidence level of 1 ('not confident') in 100% of cases, in the assessment of dark-field images alone a confidence level of 3 ('quite confident') in 43.75% and 4 ('highly confident') in 50% of all cases. For the evaluation of the combined attenuation and dark-field data, the confidence level was 4 ('highly confident') in 100% of all cases. The confidence ratings differed significantly between attenuation only and the combined dark-field and attenuation data assessment ( $z$ -score =  $-4.950$ ,  $p_{\text{corr}} \leq 0.001$ ) and the attenuation only and the dark-field only data assessment ( $z$ -score =  $-3.536$ ,  $p_{\text{corr}} = 0.001$ ). No significant difference was observed between the dark-field only and the combined attenuation and dark-field data assessment ( $z$ -score =  $-1.414$ ,  $p_{\text{corr}} = 0.157$ ).

### Discussion

In total, MSU crystals distributed over ten separate regions could be identified in four of the eight excised limbs via crystal analysis using light microscopy, and the presence of a dark-field signal could be visually observed in MSU-positive regions. The reader study showed that based on attenuation images alone, the detection of MSU crystals is not possible (sensitivity = 0%). Although the attenuation image in Fig. 3b already displays bone deformities, this is not explicitly a sign of gout and therefore was not labeled as gout positive by the readers. Based on the dark-field and combined dark-field and attenuation data, overall MSU positivity within the excised limbs could be diagnosed with a specificity and sensitivity of 100%. However, several samples contained multiple MSU positive regions, of which not all could be identified by the readers. The sensitivity under consideration of individual crystal deposits was 60% for the dark-field only as well as the combined dark-field and attenuation data. This can be caused by a variety of factors, such as the dependence of the strength of the dark field signal on the structure size and concentration of the crystals<sup>28,29</sup>, as well as the properties of the measured samples per se.



**Figure 4.** Summary of the confidence ratings given by the readers based on attenuation only (ATC), dark-field only (DFC) and the combination of attenuation and dark-field data (ATC+DFC). There was a significant difference in the confidence scores between the attenuation only and dark-field only (\*\* $p=0.001$ ) as well as the attenuation only and the combined attenuation and dark-field data (\* $p=0.001$ ). Between the dark-field only and the combined attenuation and dark-field data, there was no significant difference (\*\* $p=0.157$ ).

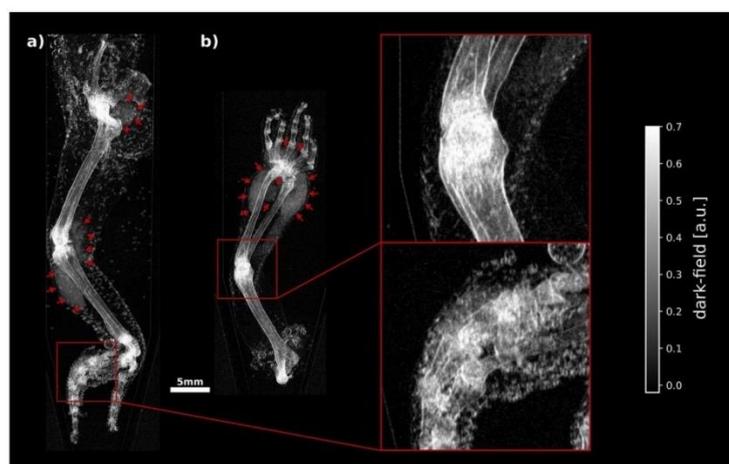
A correlation between the structural size of the extracted crystals and false negatives was not observed within this study. Since the crystals were not artificially injected and the extracted crystals do not allow conclusions to be drawn about the concentrations in the tissue and synovial fluid, correlation with any concentrations was not possible. Dark-field signals originating from the squamulose skin structure or adhered air bubbles can further complicate the detection of MSU crystals in squamata. The necessity to measure the samples submerged in water inside Falcon™ tubes and the rigid condition of the ex-vivo samples have further complicated an accurate positioning of the samples, so that in some cases overlapping of individual fingers in the corresponding radiographs could not be avoided. For example, the hind limb of animal #5 (Fig. 5a) contained MSU deposits at the hip, knee, and metatarsophalangeal joints, but of these, the metatarsophalangeal joints could not be identified as MSU-positive by the radiologists. All corresponding regions show extended dark-field signals, indicated by red arrows and, in the case of the metatarsophalangeal joints, by a red box. It is noticeable that a particularly large number of air bubbles have accumulated in the area of the metatarsophalangeal joints, which could presumably have made it more difficult for the radiologists to detect MSU crystals in this area. Another possible reason for the reduced sensitivity may be the difficulty of detecting small amounts of MSU crystals that are confined to the intra-articular space. Figure 5b shows a forelimb specimen from animal #5. In this specimen MSU crystals could be extracted from the carpus as well as the elbow. As in the area of the carpus, a broad dark-field signal is visible, this cannot be observed in the area of the elbow. MSU crystals located exclusively in the synovial fluid cannot be detected with the experimental setup of this study because the image resolution is not sufficient to resolve the intra-articular space of the animals used. Although the aforementioned limitations were readily observed in the dark-field radiographs, the influence of low crystal concentrations on the detectability of MSU deposits still cannot be excluded.

In terms of confidence ratings, confidence was higher based on the combined dark-field and attenuation data than on the dark-field-only data, although there was no difference in sensitivity and specificity. By incorporating attenuation radiographs, dark-field contrast signals that do not arise explicitly from scattering can be identified. Hence, MSU deposits can be recognized more reliably.

Besides gouty arthritis, there are other crystal-related arthropathies caused by the deposition of calcium pyrophosphate dihydrate (CPPD) or basic calcium phosphate (BCP). So far, there are no dark-field studies on CPPD and BCP crystals. However, CPPD and BCP deposits are detectable and can even be distinguished from each other by conventional radiography<sup>30</sup>. Because of the multimodality of dark-field imaging, it should be possible to rule out confusion with other crystal-related arthropathies on the basis of the attenuation contrast images that are simultaneously available.

Due to the intent of this explorative study to evaluate the diagnostic value of dark-field imaging for the detection of gout in situ by means of animal samples with naturally developed gout, the scope of the statistics is limited by the availability of animal specimens with suspected gout. The occurrence of gout among animals is mainly restricted to birds and reptiles. Further, pathological examination revealed that in the animals with proven gout show that the disease was already well progressed. The extraction of white chalky material indicates high MSU crystal concentrations in the measured limbs. The question whether dark-field imaging can be used to detect early gout cannot be answered within this work.

To date, the standard of reference for a definite diagnosis of gout is the synovial fluid analysis using polarized light microscopy<sup>31,32</sup>. Although the identification of MSU crystals is crucial for a definite diagnosis of gout, synovial fluid analysis is rarely used in clinical routine<sup>33</sup>. The extraction of synovial fluid is an invaluable but



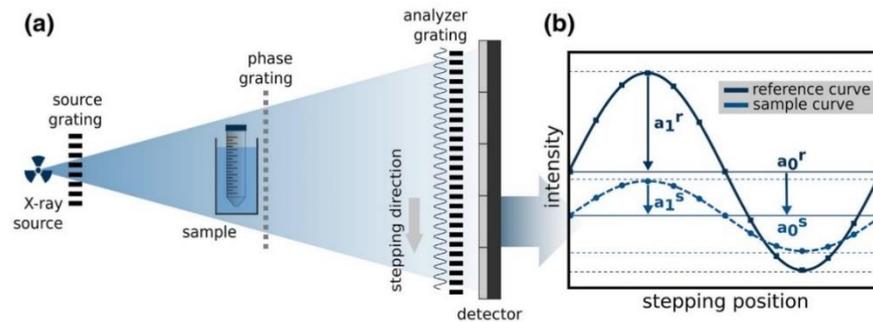
**Figure 5.** Exemplary darkfield image of two sample in which not all MSU deposits could be detected by the radiologists. The hind limb of animal #5 (a) contained MSU deposits in three different regions: Hip, knee (indicated by red arrows) and the metatarsophalangeal joints (red box). All regions show a more or less increased dark-field signal. From the zoom-in box it is clear that the detection of such areas can be made significantly more difficult by the increased presence of adhering air bubbles. The front limb (b) of the same animal contained MSU deposits around the carpus (indicated by red arrows) and the elbow (red box). As in the area of the carpus, a widely extending dark field signal can be seen, this cannot be observed in the area of the elbow.

invasive procedure, which can be associated with risk of infection and discomfort depending on the patient<sup>34</sup>. Sensitivity and specificity of synovial fluid analysis are furthermore strongly dependent on the training level of the respective observer<sup>35</sup>. Various studies have demonstrated poor consistency among different observers in the identification of MSU crystals using polarized light microscopy<sup>35,36</sup>. In addition, non-invasive imaging methods with equally high or higher specificity exist for gout diagnostics. Ultrasound (US) is a widely used imaging technique in clinical routine and has a high specificity for crystal depositions in the form of tophi, on the articular surface of hyaline cartilage and within the joint space. However, ultrasound has a modest to low sensitivity in the diagnosis of gout and the performance is strongly influenced by the equipment used and the experience of the sonographer<sup>37,38</sup>. Plain X-ray radiography is suitable for supporting diagnosis in progressed or late stages of gout which are associated with irreversible joint damage but has only limited value for the detection of MSU crystals<sup>39</sup>. A more advanced X-ray imaging technique is DECT. DECT offers high sensitivity and specificity and also allows the detection of extra-articular gout, which otherwise may result in a false negative after joint aspiration<sup>40</sup>.

X-ray dark-field radiography is a non-invasive imaging technique that offers high sensitivity and—unlike existing methods such as the synovial fluid analysis or ultrasound—a high specificity for the detection of MSU crystals. In addition, X-ray dark-field imaging is a multimodal imaging technique, which simultaneously provides conventional X-ray attenuation data<sup>41</sup>. This additional source of contrast can thus be used to visualize further features of progressed gout such as bone erosion or joint narrowing<sup>8</sup>, as well as potentially distinguish MSU from CPPD and BCP deposits<sup>40</sup>.

Medical applications of dark-field imaging have been intensively investigated, but the technique is not yet used in clinical routine. Initial clinical prototypes for lung imaging<sup>42</sup> and mammography<sup>43,44</sup> already have been developed, and some are already in pilot operation as part of clinical trials<sup>45–47</sup>. One of these studies is focused on cartilage imaging for the diagnosis of rheumatoid arthritis<sup>45</sup>. The imaging device described here was developed for imaging human hands and is hence potentially suitable for the diagnosis of gouty arthritis. The dark-field images from the first patient study with this device show that the intra articular space can be resolved in human joints and artifacts emanating from the skin surface are not to be observed<sup>46</sup>. This suggests that, with regard to human application, it will not be necessary to immerse joints in fluid. However, it cannot be excluded that effects originating from the skin surface may still occur with a dark-field setup sensitive enough to detect MSU crystals. This can only be answered conclusively by future studies. In the context of radiation exposure, it has already been demonstrated that dark-field radiography is feasible even at dose levels below low-dose CT<sup>47</sup>.

Certainly, prior to clinical studies, pending issues such as dose, technical requirements of a dark-field imaging setup dedicated to the diagnosis of gouty arthritis, as well as a lower detection limit still need to be addressed within future studies. This involves determining what minimum requirements a Talbot-Lau interferometer must meet in order to be as sensitive as possible to MSU crystals as well as determining a lower detection limit for low MSU concentrations, which is essential to establish comparability with other methods for gout diagnosis.



**Figure 6.** Schematic overview of the experimental X-ray dark-field setup (a) and the signal extraction mechanism (b). Downstream of the X-ray source the individual gratings (source-, phase-, and analyzer-grating) are arranged. The sample is positioned in front of the phase-grating. The source grating is used to split an extended source spot into mutually coherent line sources to provide sufficient beam coherence. The interference pattern, induced by the phase grating, is sampled via a stepwise lateral movement of the analyzer grating. From the resulting stepping curves (b) each pixel attenuation and dark-field contrast data can be extracted. The attenuation of X-ray results in a mean intensity ( $a_0$ ) decrease of this curve. Scattered X-rays reduce the interference pattern visibility, which is related to a mean amplitude ( $a_1$ ) decrease and the origin of the dark-field contrast.

Furthermore, especially with regard to clinical applications, it is necessary to assess the diagnostic value of X-ray dark-field radiography for the detection of MSU crystals in the context of clinical doses. To address these issues in advance of any clinical trials, a study design should be chosen that provides a higher degree of control and statistics compared with our study. Studies based on the injection of exogenous MSU crystals seem to be the most suitable option for this purpose.

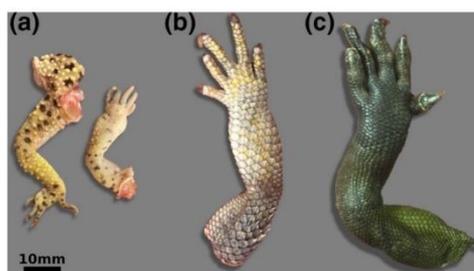
In summary, we have demonstrated that X-ray dark-field imaging can visualize MSU crystal deposits and offers a high diagnostic value for the detection of gout in situ in animals with naturally developed gout. The results of this proof-of-concept study represent the first demonstration that gouty arthritis can be detected in situ using dark-field radiography. Certainly, future studies dedicated to the detectability of MSU crystals within a clinical context are necessary. Based on our results and the fact that dark-field radiography is already feasible in a clinical context we believe that X-ray dark-field radiography has the potential to substantially improve gout diagnostics.

## Materials and methods

**Grating-based X-ray dark-field imaging.** Grating-based X-ray dark-field imaging is an interference-based imaging technique, which utilizes X-ray small angle scattering arising from subresolution refractive index fluctuations to visualize otherwise inaccessible structural information beyond the actual image resolution<sup>41</sup>. For conventional laboratory setups with low brilliance X-ray sources, the use of a Talbot-Lau interferometer (TLI) is essential for this technique. In general, a total of three X-ray gratings are necessary to form a TLI. Figure 6a shows an example of the configuration of such a grating-based X-ray setup. As a central component of such an interferometer, a phase-grating is employed to generate a periodic interference pattern. This interference pattern can usually not directly be resolved by conventional X-ray detectors, so an additional absorption grating (analyzer grating) is used for sampling the interference pattern. A second absorption grating (source grating) is used to create an array of individually coherent but mutually incoherent line sources from an extended X-ray source, since the spatial coherence requirements necessary for interference effects are not met with conventional laboratory X-ray sources<sup>48</sup>.

The stepwise lateral movement of one of the three gratings over one grating period yields an image series, which is combined to obtain a sinusoidal intensity curve for each detector pixel (cf. Figure 6b). This technique is referred to as phase-stepping, more detailed information can be found in<sup>49</sup>. From this intensity curve the parameters necessary for attenuation and dark-field contrast can be extracted simultaneously. The origin of the dark-field signal is an X-ray scattering induced degradation of the interference pattern, which leads to an amplitude reduction of the sinusoidal stepping curve. The attenuation signal is simultaneously accessible via the mean value of the stepping curve. To measure the effects on the interference pattern induced by a sample, an additional reference scan without sample must be acquired. From the stepping curve parameters of the sample and the reference scan, the dark-field contrast (DFC) and attenuation contrast (ATC) can be calculated as follows:

$$DFC = 1 - \frac{a_1^s a_0^r}{a_1^r a_0^s}$$



**Figure 7.** Exemplary selection of the animal limbs examined within this study. Excised limbs of a leopard gecko (a), a bearded dragon (b), and a water dragon (c).

$$ATC = 1 - \frac{a_0^s}{a_0^r}$$

where  $a_1^s, a_1^r$  denote the amplitudes and  $a_0^s, a_0^r$  denote the mean values of the sample and the reference scan, respectively.

**Experimental Talbot-Lau setup.** The X-ray source used in the experimental setup is a RA-Micro7 HFMR tabletop rotating anode X-ray generator (Rigaku Inc., USA) equipped with a molybdenum target. The Talbot-Lau interferometer is implemented in a symmetrical configuration with an overall length of 1.7 m. The structuring elements of the gratings are made of gold with a period of 5.4  $\mu\text{m}$ . The phase grating produces a phase-shift of  $\pi$  for the design energy of 27 keV with a structure height of 5.2  $\mu\text{m}$ . The source- and the analyzer grating have a structure height of 65  $\mu\text{m}$  and 70  $\mu\text{m}$  respectively. The X-ray camera used in this experimental setup is a SANTIS photon-counting detector (DECTRIS Ltd., Baden, Switzerland) with a 750  $\mu\text{m}$  thick cadmium telluride (CdTe) sensor and a pixel size of 75  $\mu\text{m}$ . For one measurement a gallium arsenide (GaAs) sensor with 450  $\mu\text{m}$  thickness was used<sup>50</sup>.

**Animals.** All animals examined in this study were collected from a veterinary clinic and not specifically bred in a laboratory. Since the collected animals already perished in a natural way or were put to sleep for animal protection reasons, this is by definition not an animal experiment requiring ethical approval. By means of a study call freshly deceased reptiles with suspected gout or chronic kidney disease were collected. For each animal a negative control animal of the same species was looked for. Simultaneously animals of the study facility (companion and wild animals) showing the fitting phenotype were examined and integrated into the study. A total of five animals from the zoological group of Squamata were examined within this study: Three bearded dragons (*Pogona vitticeps*), one water dragon (*Physignathus cocincinus*), and one leopard gecko (*Eublepharis macularius*).

Each animal was examined pathologically following an established protocol. Firstly, the animal was identified and labelled. Particular attention was paid to abnormalities in the joints. The animal body was opened, and all organs were assessed according to their size, shape and color. Particular attention was paid to abnormalities of the abdominal serosae, the pericardium, the liver capsule, and kidneys. After the examination, the limbs were separated and stored at  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  until further use. The excised limbs of one leopard gecko, one bearded dragon and one water dragon are shown in Fig. 7. Fixation in formalin was not possible as uric acid crystals dissolve from the tissue in aqueous solutions. A total of  $n = 8$  limbs was used for the present animal study.

**X-ray dark-field measurement parameters.** During the radiography measurement the respective samples were immersed in water inside Falcon™ tubes (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA) of 17 to 30 mm diameter for only a short time to prevent X-ray scattering effects arising from the tissue surface. Additionally, the Falcon™ tubes also were immersed in water using PMMA containers to minimize the influence of spectral effects. Depending on the size of the used Falcon™ tube, water containers with thicknesses of 2 cm or 4 cm were used. Note that the reference scans were also conducted with the respective water container in the beam path.

For the measurements the samples were placed directly in front of the phase grating. This geometrical arrangement results in an effective pixel size of  $(36 \times 36)\ \mu\text{m}^2$  for the acquired radiographs. During the measurements the rotating anode X-ray source was operated at a voltage of 50 kVp and a tube current of 24 mA. The individual sample measurements were conducted by moving the source grating over one grating period in eleven equidistant steps. The exposure time for each step was set to 10 s (30 s in one single case). The reference scans were recorded with the threefold exposure time compared to the sample scan. For the processing of the stepping data, an expectation maximization algorithm as described in<sup>51</sup> was applied.

**Arthrocentesis.** Following the measurements in the dark field scanner, adapted arthrocentesis was performed. In order to obtain as much sample material as possible the joints were opened with a section knife. Imprints were made from the opened joints and the surrounding soft tissue and examined under the microscope

(Aristoplan, Leica, Germany) by a veterinarian for the presence of needle-shaped crystals. Images were taken with a camera (Leica MC 190 HD, Leica, Germany) and edited with the Leica Application Suite program.

**Reader study.** A reader study was conducted to evaluate the potential benefit of X-ray dark-field imaging for the detection of gout *in situ*. For the study, attenuation and dark-field images of eight limbs from the five animals were presented to two radiologists with seven and more than 10 years of experience. Four of the eight cases contained proven MSU crystals (positive samples), the remaining four cases did not contain proven MSU crystals (negative control). The study was divided into three separate sessions. In the first session the radiologists were shown only attenuation and in the second session only dark-field contrast images. In the third session the radiologists were simultaneously provided with attenuation and dark-field contrast data. The three consecutive sessions were performed with a time delay and randomized image order to minimize recall bias. One healthy animal (bearded dragon) was excluded from the actual reader study and was used as a training example for the readers. Prior to the first reader session, readers were given a brief overview of the measurement procedure and a short introduction to dark-field imaging using a healthy test sample not included in the reader study and a sample consisting of isolated MSU crystals in water. Although the readers already have experience with dark-field images as they have participated in previous studies, they received an introduction into reading dark-field images. For each session, the radiologists were asked to indicate if they could detect the presence of MSU crystals and if so, to specify the corresponding location. They were further asked to indicate how confident they were in their assessment of each case using a 4-point scale ranging from 1 to 4 (1 = 'not confident', 2 = 'moderately confident', 3 = 'quite confident', 4 = 'highly confident').

**Statistical analysis.** To assess the performance of the individual imaging modalities, sensitivity and specificity were used as statistical measures. The inter-rater reliability between the individual readers was quantified using Cohen's Kappa ( $\kappa$ ). To analyze how significantly the confidence levels of the readers differ between the individual imaging modalities, a non-parametric Friedman test for related samples was conducted and a Bonferroni correction was calculated for the pairwise comparisons (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 27.0, IBM Corp, USA). The significance level for this comparison was set at  $p=0.05$ .

#### Data availability

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Received: 1 June 2021; Accepted: 1 September 2021

Published online: 24 September 2021

#### References

- Porter, R. & Rousseau, G. S. I. *Gout: The Patrician Malady* (Yale University Press, 2000).
- Pascart, T. & Lioté, F. Gout: State of the art after a decade of developments. *Rheumatology* **58**, 27–44 (2018).
- Schöffel, D. Gicht ist mehr als nur Podagra. *Orthopädie Rheuma* **16**, 30–36 (2013).
- Choi, H. K., Atkinson, K., Karlson, E. W., Willett, W. & Curhan, G. Purine-rich foods, dairy and protein intake, and the risk of gout in men. *N. Engl. J. Med.* **350**, 1093–1103 (2004).
- Choi, H. K., Atkinson, K., Karlson, E. W., Willett, W. & Curhan, G. Alcohol intake and risk of incident gout in men: A prospective study. *Lancet* **363**, 1277–1281 (2004).
- Kuo, C.-F., Grainge, M. J., Zhang, W. & Doherty, M. Global epidemiology of gout: Prevalence, incidence and risk factors. *Nat. Rev. Rheumatol.* **11**, 649–662 (2015).
- Owens, D., Whelan, B. & McCarthy, G. A survey of the management of gout in primary care. *Irish Med. J.* **101**, 147–149 (2008).
- Omoumi, P., Zufferey, P., Malghem, J. & So, A. Imaging in gout and other crystal-related arthropathies. *Rheum. Dis. Clin.* **42**, 621–644 (2016).
- Neogi, T. *et al.* 2015 gout classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheumatol.* **67**, 2557–2568 (2015).
- Ragab, G., Elshahaly, M. & Bardin, T. Gout: An old disease in new perspective—A review. *J. Adv. Res.* **8**, 495–511 (2017).
- Malecki, A., Potdevin, G. & Pfeiffer, F. Quantitative wave-optical numerical analysis of the dark-field signal in grating-based X-ray interferometry. *EPL Europhys. Lett.* **99**, 48001 (2012).
- Schleede, S. *et al.* Emphysema diagnosis using X-ray dark-field imaging at a laser-driven compact synchrotron light source. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 17880–17885 (2012).
- Yaroshenko, A. *et al.* Improved *in vivo* assessment of pulmonary fibrosis in mice using X-ray dark-field radiography. *Sci. Rep.* **5**, 17492 (2015).
- Scherer, K. *et al.* X-ray dark-field radiography—*In vivo* diagnosis of lung cancer in mice. *Sci. Rep.* **7**, 402 (2017).
- Hellbach, K. *et al.* Depiction of pneumothoraces in a large animal model using x-ray dark-field radiography. *Sci. Rep.* **8**, 2602 (2018).
- Hetterich, H. *et al.* Dark-field imaging in coronary atherosclerosis. *Eur. J. Radiol.* **94**, 38–45 (2017).
- Grandl, S. *et al.* Improved visualization of breast cancer features in multifocal carcinoma using phase-contrast and dark-field mammography: An *ex vivo* study. *Eur. Radiol.* **25**, 3659–3668 (2015).
- Scherer, K. *et al.* Improved diagnostics by assessing the micromorphology of breast calcifications via X-ray dark-field radiography. *Sci. Rep.* **6**, 36991 (2016).
- Braig, E.-M. *et al.* X-ray Dark-Field Radiography: Potential for Visualization of Monosodium Urate Deposition. *Investig. Radiol.* **55**, 494–498 (2020).
- Faires, J. & McCarty, D. Acute arthritis in man and dog after intrasynovial injection of sodium urate crystals. *Lancet* **280**, 682–685 (1962).
- Nelson, D. & Cox, M. *Lehninger Biochemie* (Springer, 2011).
- Lu, J. *et al.* Mouse models for human hyperuricaemia: A critical review. *Nat. Rev. Rheumatol.* **15**, 413–426 (2019).
- Carretero, A., König, H. E., Liebich, H.-G., Hinterseher, C. & Korb, R. Harnorgane (Organa urinaria). In *Anatomie der Vögel* Vol. 2 (eds König, H. E. *et al.*) 141–148 (Schattauer, 2009).

24. Yashiro, W., Vagovic, P. & Momose, A. Effect of beam hardening on a visibility-contrast image obtained by X-ray grating interferometry. *Opt. Express* **23**, 23462–23471 (2015).
25. Jud, C. *et al.* Trabecular bone anisotropy imaging with a compact laser-undulator synchrotron x-ray source. *Sci. Rep.* **7**, 14477 (2017).
26. Yang, Y. & Tang, X. The second-order differential phase contrast and its retrieval for imaging with x-ray Talbot interferometry. *Med. Phys.* **39**, 7237–7253 (2012).
27. Yashiro, W. & Momose, A. Effects of unresolvable edges in grating-based X-ray differential phase imaging. *Opt. Express* **23**, 9233–9251 (2015).
28. Bech, M. *et al.* Experimental validation of image contrast correlation between ultra-small-angle X-ray scattering and grating-based dark-field imaging using a laser-driven compact X-ray source. *Photon. Lasers Med.* **1**, 47–50 (2012).
29. Prade, F., Yaroshenko, A., Herzen, J. & Pfeiffer, F. Short-range order in mesoscale systems probed by X-ray grating interferometry. *EPL Europhys. Lett.* **112**, 68002 (2015).
30. Omoumi, P., Zufferey, P., Malghem, J. & So, A. Imaging in gout and other crystal-related arthropathies. *Rheum. Dis. Clin. N. Am.* **42**, 621–644 (2016).
31. Pascual, E., Sivera, F. & Andres, M. Synovial fluid analysis for crystals. *Curr. Opin. Rheumatol.* **23**, 161–169 (2011).
32. Malik, A., Schumacher, H. R., Dinnella, J. E. & Clayburne, G. M. Clinical diagnostic criteria for gout: Comparison with the gold standard of synovial fluid crystal analysis. *J. Clin. Rheumatol.* **15**, 22–24 (2009).
33. Petersel, D. & Schlesinger, N. Treatment of acute gout in hospitalized patients. *J. Rheumatol.* **34**, 1566–1568 (2007).
34. Courtney, P. & Doherty, M. Joint aspiration and injection and synovial fluid analysis. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* **27**, 137–169 (2013).
35. Lumbreras, B. *et al.* Analysis for crystals in synovial fluid: Training of the analysts results in high consistency. *Ann. Rheum. Dis.* **64**, 612–615 (2005).
36. Graf, S. W., Buchbinder, R., Zochling, J. & Whittle, S. L. The accuracy of methods for urate crystal detection in synovial fluid and the effect of sample handling: A systematic review. *Clin. Rheumatol.* **32**, 225–232 (2013).
37. Lee, Y. H. & Song, G. G. Diagnostic accuracy of ultrasound in patients with gout: A meta-analysis. *Semin. Arthritis Rheum.* **47**, 703–709 (2018).
38. Zhang, Q. *et al.* The diagnostic performance of musculoskeletal ultrasound in gout: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* **13**, e0199672 (2018).
39. Richette, P. *et al.* 2018 updated European League Against Rheumatism evidence-based recommendations for the diagnosis of gout. *Ann. Rheum. Dis.* **79**, 31–38 (2020).
40. Chou, H., Chin, T. Y. & Peh, W. C. Dual-energy CT in gout—A review of current concepts and applications. *J. Med. Radiat. Sci.* **64**, 41–51 (2017).
41. Pfeiffer, F. *et al.* Hard-X-ray dark-field imaging using a grating interferometer. *Nat. Mater.* **7**, 134–137 (2008).
42. Willer, K. *et al.* X-ray dark-field imaging of the human lung—A feasibility study on a deceased body. *PLoS ONE* **13**, e0204565 (2018).
43. Koehler, T. *et al.* Slit-scanning differential x-ray phase-contrast mammography: Proof-of-concept experimental studies. *Med. Phys.* **42**, 1959–1965 (2015).
44. Arboleda, C. *et al.* Towards clinical grating-interferometry mammography. *Eur. Radiol.* **30**, 1419–1425 (2020).
45. Momose, A. *et al.* X-ray phase imaging: From synchrotron to hospital. *Philos. Trans. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.* **372**, 20130023 (2014).
46. Yoshioka, H. *et al.* Imaging evaluation of the cartilage in rheumatoid arthritis patients with an x-ray phase imaging apparatus based on Talbot-Lau interferometry. *Sci. Rep.* **10**, 6561 (2020).
47. Willer, K., *et al.* X-ray dark-field chest imaging can detect and quantify emphysema in COPD patients. *SSRN Electron. J.* (2021).
48. Pfeiffer, F., Weitkamp, T., Bunk, O. & David, C. Phase retrieval and differential phase-contrast imaging with low-brilliance X-ray sources. *Nat. Phys.* **2**, 258 (2006).
49. Weitkamp, T. *et al.* X-ray phase imaging with a grating interferometer. *Opt. Express* **13**, 6296–6304 (2005).
50. Scholz, J. *et al.* Biomedical x-ray imaging with a GaAs photon-counting detector: A comparative study. *APL Photonics* **5**, 106108 (2020).
51. Marschner, M. *et al.* Helical X-ray phase-contrast computed tomography without phase stepping. *Sci. Rep.* **6**, 23953 (2016).

### Acknowledgements

We acknowledge the financial support through the European Research Council (AdG 695045) and the DFG (Research Training Group GRK2274). This work was carried out with the support of the Karlsruhe Nano Micro Facility (KNMF, <http://www.kit.edu/knmf>), a Helmholtz Infrastructure at Karlsruhe Institute of Technology (KIT). Funded by the Federal Ministry of Education and Research (BMBF) and the Free State of Bavaria under the Excellence Strategy of the Federal Government and the Länder, as well as by the Technical University of Munich—Institute for Advanced Study.

### Author contributions

J.S., N.R. contributed conception of the work, acquisition and analysis of data, and drafted the work; E.B. contributed conception of the work, interpretation of data, and substantially revised the work; C.P. contributed acquisition of data; L.B. contributed interpretation of data, and substantially revised the work; J.A., M.A.K., A.S., M.B., R.K. contributed design of the work; J.H. contributed conception of the work, interpretation of data, and revised the work; D.P. contributed design of the work, analysis and interpretation of data, and revised the work.

### Funding

Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

### Competing interests

The authors declare no competing interests.

### Additional information

**Supplementary Information** The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98151-0>.

**Correspondence** and requests for materials should be addressed to J.S.

**Reprints and permissions information** is available at [www.nature.com/reprints](http://www.nature.com/reprints).

www.nature.com/scientificreports/

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2021

**3. Die Dunkelfeld-Radiographie - ein neuer Weg zur Diagnostik von Gichterkrankungen bei Vögeln und Reptilien?**

**(X-ray dark-field radiography: potential for diagnosing gout in exotic pets?)**

**Nathalie Roiser**<sup>1</sup>, Josef Scholz<sup>2</sup>, Melanie A. Kimm<sup>3</sup>, Jana Andrejewski<sup>2</sup>, Christine Baumgartner<sup>4</sup>, Eva Braig<sup>2</sup>, Julia Herzen<sup>2</sup>, Daniela Pfeiffer<sup>3</sup>, Rüdiger Korbel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zentrum für klinische Tiermedizin, Klinik für Vögel, Kleinsäuger, Reptilien und Zierfische, Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, 85764 Oberschleißheim, Deutschland

<sup>2</sup>Lehrstuhl für Biomedizinische Physik, Fakultät für Physik und Munich School of BioEngineering, Technische Universität München, 85748 Garching, Deutschland

<sup>3</sup>Institut für diagnostische und interventionelle Radiologie, Technische Universität München, Klinikum rechts der Isar, 81675 München, Deutschland

<sup>4</sup>Zentrum für präklinische Forschung, Technische Universität München, 81675 München, Deutschland

**doi: 10.1055/a-1843-7736**

Artikeltyp: Originalartikel

Schlüsselwörter: Bildgebung, MNU-Kristalle, Gicht, Gitterinterferometrie, Röntgen  
Dunkelfeld-Bildgebung, Kristallarthropathie

Keywords: imaging, MSU crystals, gout, grating interferometry, X-ray dark-field imaging,  
crystal arthropathy

### Zusammenfassung

**Gegenstand und Ziel:** In der Studie soll evaluiert werden, ob die Dunkelfeldradiographie zur Diagnostik der Gichterkrankung bei Vögeln und Reptilien angewendet werden kann und ob das Tiermodell für die Etablierung des neuen nicht-invasiven Verfahrens für die Gichtdiagnostik in der Humanmedizin geeignet ist.

**Material und Methoden:** Es wurden insgesamt 18 Gliedmaßen von 11 Vögeln (7 verschiedene Spezies aus den Ordnungen der Papageienvögel, Singvögel, Greifvögel, Hühnervögel und Taubenvögel) und 7 Reptilien (4 verschiedene Spezies aus den Ordnungen der Schuppenkriechtiere und Schildkröten) mit und ohne Verdacht auf Gelenkgicht vergleichend an einem gitterbasierten Dunkelfeldröntgen-Versuchsaufbau sowie mittels konventioneller Röntgenuntersuchung gemessen. Jede Bilderfassung erzeugte ein Dunkelfeld- und ein konventionelles Absorptionsröntgenbild. Die Ergebnisse der einzelnen Scans wurden jeweils mit den Ergebnissen einer pathologischen Untersuchung und der Arthrozentese verglichen.

**Ergebnisse:** Bei 5 der untersuchten Vögel und bei 4 der untersuchten Reptilien wurde Gicht pathologisch-anatomisch nachgewiesen. Aus beiden Gruppen konnten bei jeweils 3 Tieren mittels Arthrozentese Harnsäurekristalle in den Gelenken gefunden werden. Im Dunkelfeldbild konnten die Kristalle in jeweils 2 Fällen detektiert werden. Die nadelförmigen Harnsäurekristalle hatten eine Länge von 2,6  $\mu\text{m}$  bis 56  $\mu\text{m}$ .

**Schlussfolgerungen:** Es konnte gezeigt werden, dass die Harnsäurekristalle ein deutliches Dunkelfeldsignal erzeugen, wohingegen die Kristallablagerungen in den konventionellen Röntgenbildern nicht zu sehen waren.

**Klinische Relevanz:** Die gewonnenen Ergebnisse zeigen, dass am Tiermodell von Vögeln und Reptilien eine Harnsäurekristalldetektion mittels nicht invasiver bildgebender Dunkelfeld Bildgebung möglich ist. Dies könnte die Gichtdiagnostik nicht nur in der Tiermedizin, sondern auch in der Humanmedizin erweitern und die Arthrozentese bei positivem DFR Befund ablösen. Präklinische Scanner, welche den Dunkelfeld- und Phasenkontrast nutzen,

existieren bereits für Hände und Mammographie und werden im Humanbereich bereits klinisch erprobt

**Abstract**

**Objective:** The aim of this study is to evaluate whether X-ray dark-field radiography is useful for the diagnosis of gout in birds and reptiles and whether this preclinical model could be helpful to establish this non-invasive imaging method in human medicine.

**Material and Methods:** A total of 18 limbs originating from 11 birds (7 different species) and 7 reptiles (4 different species) with and without suspected joint gout were measured using a grating-based X-ray dark-field setup and conventional X-ray examination, respectively. Each image acquisition generated a dark-field and a conventional absorption x-ray image. The results of the individual scans were compared with the results of a pathological examination and arthrocentesis.

**Results:** In 5 of the birds examined and in 4 of the reptiles examined, gout was detected pathologically. In each group, uric acid crystals were found in the joints of 3 animals by means of arthrocentesis. The uric acid crystals were detectable in 2 bird and 2 reptile limbs in the dark-field image.

**Conclusion:** It could be demonstrated that the urate crystals evoke a clearly visible dark field signal, whereas this was not the case in the conventional X-ray images.

**Clinical relevance:** The results obtained show that uric acid crystal detection using less invasive imaging methods in an animal model with birds and reptiles can expand gout diagnostics not only in veterinary medicine but also in human medicine and possibly replace arthrocentesis if a DF signal is detectable. Preclinical scanners which use X-ray dark-field and phase-contrast radiography already exist for hands and mammography.

## V. DISKUSSION

### 1. Nachweis der Durchführbarkeit am Mausmodell

#### 1.1. MNU-Kristall Herstellung

Im ersten Schritt dieser Arbeit wurden MNU-Kristalle *in vitro* gescannt und in die Hintergliedmaßen von Mäusen injiziert, um zu prüfen, ob die Kristalle im Dunkelfeld detektierbar sind. Dafür mussten die Kristalle synthetisch hergestellt werden. Die Anleitung zur Herstellung der MNU-Kristalle für diese Arbeit wurde aus den Arbeiten von Perrin et al. (2011) und Pouliot et al. (1998) entnommen. Um das optimale Verfahren und Ausgangsmaterial zu finden, wurden zwei verschiedene Ansätze getestet, in denen jeweils Harnsäure oder Natriumurat als Ausgangsmaterial dienten. Die Literatur gibt für die Kristallmorphologie in der Humanmedizin unterschiedliche Angaben an. Faires und Mccarty (1962) und Omoumi et al. beschreiben sie als nadelförmig und ca. 1 µm bis 25(30) µm lang. Cheng et al. (2009) nutzten für ihre Versuche Kristalle mit einer Länge von bis zu 50 µm und bei Perrin et al. (2011) wurden 100 µm lange Kristalle synthetisiert.

In dieser Arbeit wurde anschließend mit den Kristallen aus Natriumurat weitergearbeitet, da diese mit einer Länge von ca. 50 µm den in der Literatur beschriebenen Kristallen am ähnlichsten sind. Angaben über die Größe von Harnsäurekristallen in den Gelenken von Vögeln oder Reptilien konnten leider nicht gefunden werden. Die im Rahmen dieser Studie untersuchten intraartikulären Kristalle wiesen Größen von ca. 2,5 µm bis 56 µm auf. Unterschiedliche Kristallgrößen kamen bei ein und demselben Tier abhängig von der jeweiligen Lokalisation vor (z. B. Leopardgecko *Eublepharis macularius*: 25 µm am Becken, 8 µm am Tarsus, 46 µm in einem Lebergranulom). Damit zeigt sich, dass die Kristallmorphologie bei Menschen und Tieren miteinander vergleichbar ist und die synthetischen Kristalle eine repräsentative Größe aufwiesen.

#### 1.2. MNU-Kristall Injektion

In der Literatur konnten keine Werte für die Menge an MNU-Kristallen gefunden werden, ab der es beim Menschen zu einer Gichtarthritis kommt. Faires und McCarty (1962) haben Versuche durchgeführt, in denen Hunden und

Menschen ( $n = 2$ ) künstlich hergestellte MNU-Kristalle intraartikulär injiziert wurden. Eine Entzündungsreaktion fand dabei bei den Hunden ab einer Menge von 6,5 mg statt. Aufgrund der kleinen anatomischen Verhältnisse im Mausmodell war eine intraartikuläre Applikation der künstlichen MNU-Kristalle leider nicht möglich. Da es für die Fragestellung, ob MNU-Kristalle im Dunkelfeld in biologischem Gewebe detektierbar sind, ausreichend war, wurden die Kristalle subkutan injiziert. Dafür wurden in dieser Arbeit Mengen zwischen 20 mg und 80 mg verwendet (Braig et al., 2020). Für eine Quantifizierung der Ergebnisse, können zukünftige Arbeiten intraartikuläre Injektionen in aufsteigenden Kristallkonzentrationen an größeren Versuchstieren (bspw. Kaninchen) durchführen. Auf diese Weise könnte untersucht werden, ab welcher Menge abgelagerter Harnsäurekristalle, die Gichtdiagnose mittels DFR gestellt werden kann und ob dies zu einem früheren Zeitpunkt als mit bisherigen Untersuchungsmethoden gelingen kann.

## **2. Etablierung eines Tiermodells**

Um zu untersuchen, ob auch in situ gewachsene MNU-Kristalle in Gelenknähe detektierbar sind, wurde eine ex vivo Studie mit an Gicht erkrankten Vögeln und Reptilien durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden Tiere mit Gichtverdacht und vergleichbare Spezies als Negativkontrollen pathologisch untersucht und deren Gelenke im Anschluss in einem Talbot-Lau-Gitterinterferometer gescannt. Zur Validierung der Ergebnisse wurden die Gelenke zum Schluss eröffnet und auf das Vorhandensein von Harnsäurekristallen hin untersucht.

### **2.1. Tierzahl**

Bei der in dieser Arbeit vorgestellten Versuchsreihe mit Vögeln und Reptilien als Tiermodell für die Gichtdiagnostik handelte es sich um eine Orientierungsstudie, da es keine übertragbaren Ergebnisse aus der Literatur oder Vorversuchen gibt.

In solchen Fällen wird eine Tierzahl von  $n = 8$  pro Versuchsgruppe empfohlen, um qualitativ aussagekräftige Ergebnisse zu erlangen (Mayer & Muche, 2013). Dabei wird zunächst geprüft, ob weitere Studien zu dem Thema zielführend sind. Um eine aussagekräftige Tierzahl zu bestimmen, wurde zusätzlich eine Power Analyse durchgeführt und eine Zielgröße von  $n = 22$  Tieren ermittelt.

Die Wahrscheinlichkeit für den Fehler 1. Art wurde auf 5 % (explorativ) gesetzt, eine Angabe zum Fehler 2. Art war nicht möglich, da es sich um eine Orientierungsstudie handelt. Ebenso verhielt es sich mit der Angabe für eine biologisch relevante-Differenz. Insgesamt konnten für die Tierstudie mit Vögeln und Reptilien 21 Tiere gesammelt werden, von denen drei Tiere aufgrund fortgeschrittener Autolyse und daraus resultierender eingeschränkter Aussagekraft der pathologischen Untersuchung wieder ausgeschlossen wurden. Durch die Untersuchung mehrerer Gliedmaßen pro Studientier, umfasst die Studie eine Probengröße von  $n = 22$  Gliedmaßen.

## 2.2. Studientiere

Die pathologische Untersuchung der Versuchstiere konnte nicht immer an frisch verstorbenen Tieren durchgeführt werden. Durch das Einfrieren der Tiere und den Transport sind Organschäden durch Kristallisation und unterschiedliche Autolysegrade bei der Interpretation der pathologischen Befunde zu berücksichtigen gewesen. Neben den Sektionsbefunden flossen auch die ursprünglichen Anamnesen in die Beurteilung ein. Drei Tiere mussten aufgrund der fortgeschrittenen Autolyse, die eine Beurteilung der inneren Organe unmöglich machte, aus der Studie ausgeschlossen werden. Auch die Gelenke der Tiere mussten aus logistischen Gründen nach der pathologischen Untersuchung bis zur Durchführung der Dunkelfeldscans eingefroren werden. Artefakte durch Eiskristalle im Weichteilgewebe sind daher trotz einer langen Auftauzeit nicht ganz auszuschließen. Indem die Arthrozentese nach der Radiographie durchgeführt wurde, konnte sichergestellt werden, dass die Harnsäurekristalle keinen Schaden durch den Gefrierprozess genommen hatten und sich Ihre Morphologie nicht verändert hatte.

Bei der Auswertung der Bilder muss zudem berücksichtigt werden, dass nicht alle Studientiere mit einer Negativkontrolle der gleichen Spezies verglichen werden konnten. Unter anderem dienten 4 Bartagamen (*Pogona vitticeps*) als Kontrolle für eine erkrankte Bart- und Wasseragame (*Physignatus cocincinus*) sowie einen Leopardgecko (*Eublepharis macularius*). Da es sich dabei um Spezies der gleichen Ordnung handelt, ist die Anatomie der Knochen- und Sehnenstrukturen und des Weichteilmantels jedoch ausreichend vergleichbar. Für die Rotwangen-Schmuckschildkröte (*Trachemys scripta elegans*), das Haushuhn (*Gallus gallus*) und die Haustaube (*Columba livia*) gibt es leider

keine Fälle mit Gelenkgicht, da die untersuchten Tiere lediglich an einer Viszeralgicht litten und keine Kristalle in den Gelenken nachgewiesen werden konnten. Um zu zeigen, ob die Ergebnisse dieser Studie auch auf Schildkröten (*Testudinata*) übertragbar sind, muss künftig eine Studie mit weiteren Schildkrötenarten (sowohl terrestrische als auch aquatische Arten) mit nachgewiesener Gicht und ausreichend vielen Kontrolltieren der gleichen Spezies durchgeführt werden.

### **2.3. Technischer Versuchsaufbau**

Für die Bildgebung wurde das Talbot-Lau-Interferometer als symmetrischer 3-Gitteraufbau mit einem horizontalen Strahlengang realisiert. Dieser Aufbau wurde durch Pfeiffer et al. (2006) beschrieben und wird seither in angepassten Variationen für alle Studien, die die Bildgebung mit Dunkelfeld- und Phasenkontrast mit konventionellen Röntgenquellen (polychromatische Röntgenstrahlung) untersuchen, verwendet. Jede Messung liefert gleichzeitig ein konventionelles Absorptionsbild und das dazugehörige Dunkelfeldbild. Alle Messungen und Bildrekonstruktionen wurden in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe „Biomedizinische Physik“ (Prof. Dr. Franz Pfeiffer) der Fakultät für Physik, Technische Universität München, durchgeführt. Aufgrund des horizontalen Strahlengangs mussten die Proben aufrecht positioniert werden. Das Sichtfeld in diesem Aufbau betrug 3,6 cm, weswegen es nicht möglich war, die Tiere als Ganzes zu scannen. Messgeräte mit einer entsprechenden Größe werden momentan ausschließlich für die Bildgebung der Brustkörbe von Schweinen verwendet und weisen keine ausreichende Bildauflösung für die Beurteilung der Gelenke kleinerer Tiere auf. Aus diesem Grund wurden die Gliedmaßen abgetrennt und aufrecht in einem Wasserbad gescannt. Das Wasserbad diente dazu, die zu erwartende Streuung der Röntgenstrahlung an den zahlreichen Kanten der Schuppen und Federn und an der Grenzfläche des Reaktionsgefäßes, in dem die Gliedmaßen positioniert waren, weitmöglichst zu reduzieren. Dies führte dazu, dass sich trotz entsprechender Vorsichtsmaßnahmen kleine Luftbläschen an den Federn und Schuppenspitzen bilden konnten. Diese bildeten sich insbesondere an der Oberfläche der Vogelbeine und führten zu einer eingeschränkten Beurteilbarkeit der Gelenkspalten. In zukünftigen Versuchen könnte ein Ultraschallbad eingesetzt werden, um die Luftblasen zu entfernen. Diese Methode hat bei Korbel (1994) zu guten Ergebnissen am

kalottierten Vogelaugengeführt. Da es sich bei den eingesetzten Geräten jedoch noch um Laboraufbauten handelt und diese stetig weiterentwickelt werden, sollte zu einem späteren Zeitpunkt eine weitere Studie durchgeführt werden, in der die Beurteilbarkeit kleiner Vogelgliedmaßen evaluiert wird. Limitationen wie das Wasserbad könnten dann bereits kein Problem mehr darstellen. Die technische Weiterentwicklung an der Strahlenquelle wie auch den Detektoren wird außerdem zu einer besseren Bildqualität und somit einer besseren Beurteilbarkeit der Gelenksspalten führen. Auch im Hinblick auf die Möglichkeit der Gichtdiagnostik in der Humanmedizin wird ein Wasserbad keine Limitation darstellen, da an der Hautoberfläche keine Streuung zu erwarten ist. Es gibt bereits Studien, die zeigen, dass die Untersuchung von menschlichen Händen und Fingergelenken machbar ist, und dass beispielsweise kleine Knorpelveränderungen bei Arthritis detektierbar sind (Momose et al., 2014; Yoshioka et al., 2020). Der Strahlengang war in beiden Studien vertikal, was die Positionierung der Patienten deutlich erleichtern wird. Eine Studie zur Detektion von Gicht und Pseudogicht im Menschen ist aufgrund der vielversprechenden Ergebnisse dieser Studie am Klinikum rechts der Isar der technischen Universität München bereits in Planung.

### **3. Auswertung der Bilddatensätze**

Im Bereich der Radiologie werden Leistungsstudien durchgeführt, um die diagnostische Leistung einer bestehenden Modalität mit der einer neuen Technologie zu vergleichen. Um die Vorteile bei der Zuverlässigkeit der Diagnose aufzuzeigen, werden Studien durchgeführt, in denen mehrere Radiologen (sog. „Reader“) gebeten werden, anhand der zu vergleichenden Bildmodalitäten eine Diagnose zu stellen. Diese Studien werden Reader-Studien genannt (Gennaro, 2018).

In dieser Arbeit wurde für die Auswertung der Bilder der Mäusehintergliedmaßen eine Reader-Studie durchgeführt. Dabei evaluierten drei in der Interpretation von Dunkelfeldbildern erfahrene Radiologen (jeweils zwei, drei und sechs Jahre Erfahrung) die beiden Bildmodalitäten zunächst separat und im Anschluss jeweils direkt miteinander vergleichend. Es zeigte sich, dass insbesondere der direkte Vergleich der Absorptionsbilder mit dem Dunkelfeldkontrast eine Detektion der Kristalle mit sehr hoher Sensitivität und Spezifität

erlaubt (Braig et al., 2020). Ebenso wurde mit einer Stichprobe ( $n = 5$ ) der Bilder der Gelenke der Schuppenkriechtiere (*Squamata*) verfahren. Hier zeigte sich, dass die Tiere mit Gelenksgicht ( $n = 2$ ) in den Dunkelfeldaufnahmen alle richtig erkannt werden konnten. Jedoch wurden einzelne Gelenke als falsch negativ erkannt, was vermutlich an den sehr kleinen Gelenkspalten und der hierfür zu geringen Auflösung des Detektors liegen könnte.

Die Auswertung der Bilddatensätze erfolgte visuell und unterliegt daher der subjektiven Wahrnehmung unterschiedlicher Graustufen. Allein bei der Auswertung der *in vitro* Harnsäurekristalle konnte die Erhöhung des Dunkelfeldsignals mithilfe des Träger-Rausch-Abstands (CNR) quantifiziert werden. Für die Zukunft wäre eine computergestützte Auswertung dieser Graustufen in Dunkelfeld-Aufnahmen, welche zwischen der Knochengrenze und dem sie umgebenden Weichteilgewebe unterscheiden kann, eine hilfreiche technische Unterstützung. Einarsdóttir et al. (2015) ist es gelungen, einen computergestützten Assistenten zur Diagnose von Lungenpathologien am Mausmodell zu entwickeln.

#### **4. Vorteile und Anwendbarkeit der gitterbasierten Dunkelfeldradiographie**

##### **4.1. Vergleich mit bisherigen diagnostischen Verfahren in Bezug auf die Gichtdiagnostik**

Bisher ist der Nachweis von MNU-Kristallen in der Synovia der Goldstandard für die Diagnose der Gelenksgicht (Malik et al., 2009). Untersuchungen aus der Humanmedizin zeigen jedoch, dass die Arthrozentese in der Praxis nur selten für die Erstdiagnose verwendet wird (Owens et al., 2008; Petersel & Schlesinger, 2007). Außerdem handelt es sich bei der Gelenkspunktion um ein invasives Verfahren, welches die Gefahr einer Infektion birgt (Courtney & Doherty, 2013). In der Tiermedizin kommt erschwerend dazu, dass die Arthrozentese und die Punktion kleiner Gichttophi insbesondere bei kleinen Ziervögeln aber auch bei kleinen Reptilien schwierig ist und zusätzlich zu analgetischen Maßnahmen eine anästhetische Immobilisation erfordert, welche zusätzliche Risiken neben der (gichtbedingten) Vorschädigung birgt. Zielführend ist daher die Etablierung eines schnellen, nicht invasiven und kostengünstigen diagnostischen Verfahrens für die Gichtdiagnose.

Bei der anamnestischen Auswertung fiel auf, dass rund ein Drittel (28 %) der Studientiere bei Vorstellung in der Klinik einer Röntgenuntersuchung unterzogen wurde. Bei dieser Untersuchung können sowohl knöcherne Strukturen als auch die inneren Organe der Tiere beurteilt werden. Das konventionelle Röntgen ist damit ein beliebter Screeningtest in der Vogel- und Reptilienmedizin, da die Allgemeinuntersuchung oft nur eingeschränkt durchführbar ist (Krautwald-Junghanns et al., 2010). Die Röntgenuntersuchung kann mithilfe einer Kurznarkose leicht durchgeführt werden und ist verhältnismäßig kostengünstig. Schwache Tiere, deren Zustand keine Narkose erlaubt, müssen ggf. im Wachzustand oder unter Sedation fixiert werden. Dies bedingt jedoch häufig eine eingeschränkte Bildqualität und eine erhöhte Strahlenbelastung für das Personal.

Aus der Humanmedizin ist bekannt, dass das konventionelle Röntgenbild für die Gichtdiagnose allerdings nur bedingt geeignet ist, da die typischen Knochenläsionen erst in weit fortgeschrittenen chronischen Fällen zu erkennen sind (Omoumi et al., 2016; Richette et al., 2020). Diese Arbeit zeigt zunächst am Mausmodell und anschließend an in situ entstandener Gelenkgicht, dass die Harnsäureablagerungen im konventionellen Absorptionsbild nicht zu sehen sind, im Dunkelfeldkontrast jedoch ein deutliches Signal erzeugen. Bei 83 % der Tiere mit Gelenkgicht waren im Absorptionsröntgenbild weder knöcherne Veränderungen noch Kristallablagerungen zu sehen. Im Dunkelfeldkontrast konnten die Harnsäurekristalle jedoch bei 60 % der sonst unerkannten Fälle sichtbar gemacht werden. Demnach ist davon auszugehen, dass die DFR eine Gichtdiagnose zu einem früheren Zeitpunkt zulässt, als es mit der konventionellen Absorptionsbildgebung möglich ist. Weitere Studien in diese Richtung, in die eine größere Anzahl an Probanden/Studientieren ohne chronische Gicht einbezogen werden, müssen noch durchgeführt werden.

In der Humanmedizin werden bereits weitere nicht-invasive Verfahren für die Diagnose der Gelenkgicht untersucht. Die Ultrasonographie ist eine weit verbreitete Untersuchungsmethode, welche nahezu überall verfügbar ist. Sie weist eine hohe Spezifität für die Erkennung von Kristallablagerungen auf hyalinem Knorpel, im Gelenkspalt und in Form von Gichttophi auf (Lee & Song, 2018). Allerdings sind Ergebnisse zur Sensitivität und Urteilerübereinstimmung je nach untersuchtem Gelenk und bewertetem Ultraschallzeichen noch

sehr heterogen (Girish et al., 2013; Terslev et al., 2015; Zhang et al., 2018). In der Tiermedizin wird die Ultrasonographie ebenfalls in der täglichen Routine verwendet. Sie eignet sich gut dazu, Parenchymveränderungen zu differenzieren und erlaubt ultraschallgestützte Punktionen von Organen, subkutanen Umfangsvermehrungen und Gelenken. Dennoch sind die geringe Größe und teilweise grobe Beschuppung der zu untersuchenden Gliedmaßen in der Tiermedizin als Limitation hervorzuheben. Die Nieren sind nur in vergrößertem Zustand ultrasonographisch darstellbar. Entzündliche Veränderungen des Nierenparenchyms lassen sich schlecht von Harnsäureablagerungen unterscheiden, weswegen immer auch die Blutchemie berücksichtigt und ggf. weitere Untersuchungen (Endoskopie) durchgeführt werden müssen (Pees & Krautwald-Junghanns, 2010, Krautwald-Junghanns et al., 2017, Redrobe, 2006).

Ein modernes und fortschrittliches Verfahren stellt die Dual Energy Computertomographie (DECT) dar, bei der zwei Röntgenquellen mit unterschiedlichen Strahlenenergien verwendet werden. Dieses Verfahren ist in der Lage auch extraartikuläre Kristallablagerungen zu detektieren und 3D Modelle des Gelenks zu erstellen. Auf diese Weise ist es möglich Gichtfälle zu erkennen, welche bei einer Arthrozentese falsch negative Ergebnisse erzielt hätten. Die Interpretation von DECT Bildern erfordert jedoch ein sehr gut geschultes Personal und verursacht eine erhöhte Strahlenbelastung für den Patienten (Chou et al., 2017). Da die DFR nur eine Bildebene erzeugt, ist davon auszugehen, dass die Strahlenbelastung deutlich geringer ausfällt, als dies bei der Computertomographie der Fall ist. Eine erst kürzlich im Preprint erschienene Studie zeigt anhand eines ersten klinischen Scanners am Klinikum Rechts der Isar, dass die Radiographie eines menschlichen Brustkorbs zur Untersuchung der Lunge mit einem Bruchteil der Strahlung möglich ist, wie sie sonst durch eine low-dose computertomographische Untersuchung verursacht wird (nur ~ 2 %) (Willer et al., 2021).

Durch die DFR könnten die genannten Einschränkungen der bisher gängigen Diagnosemethoden bei gegebener Narkosefähigkeit der Tiere umgangen werden. Sie könnte damit eine mögliche effiziente und patientenschonende Methode für die Routinediagnostik darstellen.

## **4.2. Potenzial der Dunkelfeldradiographie im Hinblick auf klinische Anwendungen**

In den letzten Jahren wurde das Potential der gitterbasierten Dunkelfeld- und Phasenkontrastbildgebung in unterschiedlichen Bereichen der medizinischen Radiologie untersucht und hat mit ersten Prototypen den Schritt in die klinische Anwendung geschafft.

12 Jahre Forschung haben zunächst am Mausmodell (Hellbach et al., 2017) und schließlich am Schwein als Tiermodell (Hellbach, Baehr, et al., 2018) zeigen können, dass die Dunkelfeldradiographie der konventionellen Absorptionbildgebung bei der Diagnose von Lungenpathologien überlegen ist. Untersuchungen an einem klinischen Scanner konnten nun zeigen, dass sich diese Ergebnisse auch auf an COPD erkrankten Menschen übertragen lassen (Willer et al., 2021). Des Weiteren konnte die Technik in ein bestehendes klinisches Mammographiegerät integriert und gezeigt werden, dass ausreichend große Sichtfelder und die sehr hohen Ansprüche an die Strahlenbelastung in diesem Bereich eingehalten werden können (Koehler et al., 2015).

Für die Anwendung bei der Diagnose der Gelenksgicht beim Menschen ist es wichtig, dass Hand- und Fußgelenke untersucht werden können, da vor allem das erste Metatarsophalangealgelenk betroffen ist. Yoshioka et al. (2020) haben einen klinischen Scanner entwickelt und die Metacarpophalangealgelenke von Patienten mit rheumatoider Arthritis und gesunden Freiwilligen untersucht. Da bereits kleine Knorpelläsionen detektiert werden konnten, gehen die Autoren von einer Möglichkeit zur Frühdiagnose rheumatoider Arthritis aus (Yoshioka et al., 2020). An dieser Stelle reiht sich auch diese Arbeit ein. Das Tiermodell an Vögeln und Reptilien untersucht zum ersten Mal die Möglichkeit der Gichtdiagnostik mithilfe der DFR. Dabei konnte gezeigt werden, dass sie eine vielversprechende Option für die Diagnostik der Gelenksgicht sowohl beim Heimtier als auch beim Menschen darstellt. Eine Studie zur Detektion von Gicht und Pseudogicht am Menschen ist nun bereits in Planung.

## **4.3. Mögliche Anwendung in der Tiermedizin**

Der Fokus dieser Arbeit wurde auf die Untersuchung der Gelenksgicht gelegt, um eine Translation in die Humanmedizin zu ermöglichen. Zukünftige Studien müssen für die Anwendbarkeit in der Tiermedizin weiterhin die Möglichkeit der

Diagnose der Viszeralgicht mittels DFR evaluieren. Es ist davon auszugehen, dass diese sogar leichter detektierbar sein wird, da das Signal der MNU-Kristalle im Weichteilgewebe weniger durch die Streuung an Gelenkflächen überlagert wird. Im Bereich der Haussäugetiere kann die DFR zum Beispiel bei der Diagnostik und Unterscheidung von Urolithen (Uratsteine beim Dalmatiner) nützlich sein. Diese können röntgenologisch oder auch mittels ultrasonographischer Untersuchungen schwer diagnostizierbar sein, wenn es sich um kleine Nephrolithen oder Ureterolithen handelt. Lungenpathologien spielen auch in diesem medizinischen Sektor eine große Rolle. Bisher wird für die Diagnostik die CT verwendet, wofür immer eine Narkose notwendig ist. Der Anspruch der Tierhalter an die Diagnostik und Therapie ihrer Tiere hat sich im Laufe der Jahre immer weiter an den Standard in der Humanmedizin angenähert. Kleintierkliniken sind mittlerweile mit hochmodernen Computer- und Magnetresonanztomographen ausgestattet. Je enger die Mensch-Tier-Beziehung ist und je wertvoller die Tiere sind, desto eher werden teure Diagnostik und Behandlungen in Anspruch genommen (Burmeister, 2016). Sollte sich daher die DFR in der Humanmedizin etablieren, wird die Anwendung in der Tiermedizin möglicherweise zeitnah folgen.

Selbst wenn die Technologie zunächst der Forschung vorbehalten bleibt, ist ein Nutzen für die Tiere zu erwarten. Je genauer und früher Krankheiten, wie beispielsweise Gicht oder Lungenpathologien diagnostiziert werden können, desto besser können Methoden zur Vermeidung von Tierversuchen und zur Minimierung des Tierleids, wie das 3R Prinzip von Russell und Burch (Balls et al., 2009) in der Labortierforschung umgesetzt werden. So könnten Studien an Mäusen, Ratten oder Kaninchen mit induzierter Gichtarthritis abgebrochen werden, sobald Veränderungen an den Gelenken mittels DFR detektierbar sind. Es wäre dann nicht mehr notwendig so lange zu warten, bis die Tiere eine deutliche Klinik aufweisen und der Versuch aus tierschützerischen Gründen, d. h. Überschreitung von Kriterien der jeweiligen Belastungstabellen, abgebrochen werden muss.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Gicht ist zumeist die Folge von Nierenerkrankungen und Haltungsfehlern und führt bei als Haustier gehaltenen Vögeln und Reptilien zu plötzlichen Todesfällen (Viszeralgicht) sowie u. a. zu schmerzhaften, meist irreversiblen Malformationen der Gelenke, urikämischen Ingluvitiden u. v. m. Der Goldstandard für die Diagnose einer gichtinduzierten Arthritis ist die Arthrozentese und anschließende Identifizierung von Harnsäurekristallen unter dem Lichtmikroskop. Mit der gitterbasierten Röntgenbildgebung lässt sich die Streuung von Röntgenstrahlen beim Durchtritt durch ein Objekt messen. Diese Methode ermöglicht es, kleinste Strukturveränderungen im Mikrometerbereich zu detektieren. Ihr Potential wurde in den letzten Jahren in verschiedenen diagnostischen Bereichen untersucht.

Ziel dieser Arbeit war es, zu untersuchen, ob Harnsäurekristalle aufgrund ihrer mikroskopischen Nadelstruktur ein Signal im Dunkelfeldkontrast erzeugen und ob dieses Signal auch in biologischem Gewebe noch visualisierbar ist. Im Anschluss daran wurde untersucht, ob die Dunkelfeldradiographie als neues, nicht invasives bildgebendes Verfahren für die klinische Gichtdiagnostik bei Vögeln und Reptilien angewendet werden kann.

Es konnte gezeigt werden, dass Harnsäurekristalle sowohl *in vitro* als auch *ex vivo* im Mausmodell visuell gut darstellbar sind (Sensitivität 100 %, Spezifität 92 %). Auch bei Vogel- und Reptiliengliedmaßen mit Gelenkgicht erzeugten Gichttophi in 4 von 6 Fällen ein deutliches Dunkelfeldsignal.

Durch die Dreigitterinterferometrie ist die Verwendung von konventionellen Röntgenquellen möglich und eine Nutzung dieser Technik in der Praxis denkbar. Präklinische Scanner, welche den Dunkelfeld- und Phasenkontrast nutzen, existieren bereits für die Untersuchung von Fingergelenksknorpeln und die Mammographie. Eine erleichterte Diagnose der Gicht birgt den Vorteil, dass eine frühzeitig begonnene Therapie das Voranschreiten der Erkrankung verlangsamen und die Überlebenszeit der Patienten bei erhaltener Lebensqualität verlängern kann.

Die in der vorliegenden Arbeit am Tiermodell gewonnenen Ergebnisse sind von hoher Relevanz, da sie die Methodik der DFR als erfolgversprechendes

diagnostisches Verfahren nicht nur für die Humanmedizin, sondern auch für die Tiermedizin unterstreicht und wertvolle Informationen für den Aufbau künftiger Studien gibt.

## VII. SUMMARY

Gout is mostly the result of kidney diseases and poor husbandry of animals that can lead to sudden death. Gout can lead to painful, mostly irreversible malformation of the joints, uricemic ingluvititis, and many other consequences of illness in birds and reptiles kept as pets. The gold standard for diagnosing gout-induced arthritis is arthrocentesis and subsequent microscopic identification of uric acid crystals. Grating-based X-ray imaging can be used for this purpose as it is used to measure the scattering of X-rays when passed through an object. This method makes it possible to detect the smallest structural changes within the micrometre range. Its potential has been investigated in various diagnostic areas in recent years.

The aim of this work was to investigate whether uric acid crystals, due to their microscopic needle structure, generate a signal in X-ray dark-field radiography (DFR) and whether this signal is strong enough to be detected visually in biological tissue. It was further examined whether X-ray dark-field radiography may be used as a non-invasive imaging method for clinical gout diagnosis in birds and reptiles.

The study shows that uric acid crystals can be visually detected both *in vitro* and *ex vivo* in a mouse-based gout model (sensitivity 100%, specificity 92 %). Also, in bird and reptile limbs suffering from articular gout, gouty tophi could easily be detected visually in 4 out of 6 cases.

Thanks to three-grating interferometry, the use of conventional X-ray sources is possible with this technology and thus offers the potential to be used in practice. Pre-clinical scanners, which use dark-field and phase-contrast, already exist for the examination of finger joint cartilage and mammo-graphy. A facile and non-invasive early diagnosis of gout includes the advantage of early therapy which can slow the progression of disease and extend a patient's survival time while maintaining quality of life.

The results obtained in the present work are of high relevance, since they underline the methodology of DFR as a promising diagnostic method not only for

human medicine but also for veterinary medicine and provide valuable information for the settings of future investigations.

## VIII. LITERATURVERZEICHNIS

- Abdul-Aziz T, Fletcher O, Barnes HJ. Hepatobiliary System. In: Fletcher OJ, ed. *Avian Histopathology*. 3rd ed. Jacksonville: American Association of Avian Pathologists; 2008:202 - 207.
- Arromdee E, Michet CJ, Crowson CS, O'Fallon WM, Gabriel SE. Epidemiology of gout: is the incidence rising? *The Journal of Rheumatology*. 2002;29(11):2403-2406.
- Badulescu M, Macovei L, Rezus E. Acute gout attack with normal serum uric acid levels. *The Medical-Surgical Journal*. 2014;118(4):942-945.
- Balls M, Russell WMS, Burch RL. *three Rs and the humanity criterion: FRAME*; 2009.
- Bertram C. *Retrospektive Analyse von Datensätzen über Erkrankungen und Todesursachen von Greifvögeln in zoologischen Gärten unter besonderer Berücksichtigung ihrer Haltung*. Wettenberg: VVB Laufersweiler; 2003.
- Bongartz T, Glazebrook KN, Kavros SJ, Murthy NS, Merry SP, Franz WB, Michet CJ, Veetil BMA, Davis JM, Mason TG. Dual-energy CT for the diagnosis of gout: an accuracy and diagnostic yield study. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2015;74(6):1072-1077.
- Braig E-M, Roiser N, Kimm MA, Busse M, Andrejewski J, Scholz J, Petrich C, Gustschin A, Sauter A, Bodden J. X-ray Dark-Field Radiography: Potential for Visualization of Monosodium Urate Deposition. *Investigative Radiology*. 2020. 55(8)
- Bruderer S, Bodmer M, Jick SS, Meier CR. Use of Diuretics and Risk of Incident Gout: A Population-Based Case–Control Study. *Arthritis & Rheumatology*. 2014;66(1):185-196.
- Buckland J. The NET is closing in on inflammation in gout. *Nature Reviews Rheumatology*. 2014;10(6):319-319.
- Bulbule N, Mandakhalikar K, Kapgate S, Deshmukh V, Schat K, Chawak M. Role of chicken astrovirus as a causative agent of gout in commercial broilers in India. *Avian Pathology*. 2013;42(5):464-473.
- Burmeister A-K. *Die Beziehung von Menschen zu ihren Vögeln in der Heimtierhaltung: eine empirisch-tierärztliche Studie unter Entwicklung einer psychometrischen Skala der Mensch-Vogel-Beziehung*

- [Dissertation]: Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität München; 2016.
- Carretero A, König HE, Liebich H-G, Hinterseher C, Korbel R. Harnorgane (Organa urinaria). In: König HE, Korbel R, Liebich H-G, Hrsg. *Anatomie der Vögel*. 2. Aufl. Stuttgart: Schattauer; 2009:141-148.
- Cheng X, Haggins DG, York RH, Yeni YN, Akkus O. Analysis of crystals leading to joint arthropathies by Raman spectroscopy: comparison with compensated polarized imaging. *Applied Spectroscopy*. 2009;63(4):381-386.
- Chen-Xu M, Yokose C, Rai SK, Pillinger MH, Choi HK. Contemporary prevalence of gout and hyperuricemia in the United States and decadal trends: the national health and nutrition examination survey, 2007–2016. *Arthritis & Rheumatology*. 2019;71(6):991-999.
- Choi HK, Atkinson K, Karlson EW, Willett W, Curhan G. Alcohol intake and risk of incident gout in men: a prospective study. *The Lancet*. 2004a;363(9417):1277-1281.
- Choi HK, Atkinson K, Karlson EW, Willett W, Curhan G. Purine-rich foods, dairy and protein intake, and the risk of gout in men. *New England Journal of Medicine*. 2004b;350(11):1093-1103.
- Choi HK, Curhan G. Soft drinks, fructose consumption, and the risk of gout in men: prospective cohort study. *BMJ*. 2008;336(7639):309-312.
- Chou H, Chin TY, Peh WC. Dual-energy CT in gout - A review of current concepts and applications. *Journal of Medical Radiation Sciences*. 2017;64(1):41-51.
- Cole R, Austic R. Hereditary uricemia and articular gout in chickens. *Poultry Science*. 1980;59(5):951-960.
- Cooper J. Pathologie. In: Beynon PH, Lawton MPC, Cooper JE, Hrsg. *Kompendium der Reptilienkrankheiten: Haltung, Diagnostik, Therapie*. 1. Aufl. Hannover: Schlütersche; 1997:47 - 50.
- Courtney P, Doherty M. Joint aspiration and injection and synovial fluid analysis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2013;27(2):137-169.
- Dalbeth N, So A. Hyperuricaemia and gout: state of the art and future perspectives. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2010;69(10):1738-1743.

- Dalbeth N, Stamp L. Hyperuricaemia and gout: time for a new staging system? *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2014;73(9):1598-1600.
- David C, Bruder J, Rohbeck T, Grünzweig C, Kottler C, Diaz A, Bunk O, Pfeiffer F. Fabrication of diffraction gratings for hard X-ray phase contrast imaging. *Microelectronic Engineering*. 2007;84(5-8):1172-1177.
- Dieppe P, Swan A. Identification of crystals in synovial fluid. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1999;58(5):261-263.
- Dincer HE, Dincer AP, Levinson DJ. Asymptomatic hyperuricemia: to treat or not to treat. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*. 2002;69(8):594-608.
- Divers S, Redmayne G, Aves E. Haematological and biochemical values of 10 green iguanas (*Iguana iguana*). *Veterinary Record*. 1996;138(9):203-205.
- Dommer W. Kreislauforgane. In: Schulz LC, Dämmrich K, Hrsg. *Pathologie der Haustiere 1*. 1. Aufl. Fischer; 1991:21 - 92.
- Edwards NL. Übersicht über Kristallarthropathien. 2018  
<https://www.msmanuals.com/de-de/profi/erkrankungen-des-heumatischen-formenkreises-und-des-bewegungsapparats/kristallarthropathien/%C3%BCbersicht-%C3%BCber-kristallarthropathien>.
- Einarsdóttir H, Yaroshenko A, Velroyen A, Bech M, Hellbach K, Auweter S, Yildirim Ö, Meinel FG, Eickelberg O, Reiser M, Larsen R, Ersbøll BK, Pfeiffer F. Computer-aided diagnosis of pulmonary diseases using x-ray darkfield radiography. *Physics in Medicine and Biology*. 2015;60(24):9253-9268.
- Faires J, Mccarty Jr D. Acute arthritis in man and dog after intrasynovial injection of sodium urate crystals. *The Lancet*. 1962;280(7258):682-685.
- Fletcher OJ, Abdul-Aziz T, Barnes HJ. Urinary System. In: Fletcher OJ, ed. *Avian Histopathology*. 3rd ed. Jacksonville: American Association of Avian Pathologists; 2008:238 - 241.
- Gaizsch R. Phasenkontrast- und Dunkelfeld-Computertomographie.2020  
<https://www.iis.fraunhofer.de/de/ff/zfp/tech/phasenkontrast-dunkelfeld-computertomographie.html#tabpanel-1>.
- Geirsson ÁJ, Statkevicius S, Víkingsson A. Septic arthritis in Iceland 1990–2002: increasing incidence due to iatrogenic infections. *Annals of the*

*Rheumatic Diseases*. 2008;67(5):638-643.

Gennaro G. The “perfect” reader study. *European Journal of Radiology*. 2018;103:139-146.

Girish G, Glazebrook KN, Jacobson JA. Advanced imaging in gout. *American Journal of Roentgenology*. 2013;201(3):515-525.

Gromann LB, De Marco F, Willer K, Noël PB, Scherer K, Renger B, Gleich B, Achterhold K, Fingerle AA, Muenzel D. In-vivo x-ray dark-field chest radiography of a pig. *Scientific Reports*. 2017;7(1):4807.

Guo X, Huang K, Tang J. Clinicopathology of gout in growing layers induced by high calcium and high protein diets. *British Poultry Science*. 2005;46(5):641-646.

Gylstorff I, Grimm F. *Vogelkrankheiten*. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer GmbH; 1998:282-288.

Hak AE, Curhan GC, Grodstein F, Choi HK. Menopause, postmenopausal hormone use and risk of incident gout. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2010;69(7):1305-1309.

Hampel MR, Kinne J, Wernery U, Pospischil A, Kellermann J, Linke RP. Increasing fatal AA amyloidosis in hunting falcons and how to identify the risk: a report from the United Arab Emirates. *Amyloid*. 2009;16(3):122-132.

Harr KE, Alleman AR, Dennis PM, Maxwell LK, Lock BA, Bennett RA, Jacobson ER. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells and hematologic and plasma biochemical reference ranges in green iguanas. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2001;218(6):915-921.

Heidenreich M. *Greifvögel: Krankheiten, Haltung, Zucht*. 1. Aufl. Berlin: Blackwell Wissenschafts-Verlag; 1995:213-222

Hellbach K, Baehr A, De Marco F, Willer K, Gromann LB, Herzen J, Dmochewitz M, Auweter S, Fingerle AA, Noël PB, Rummeny EJ, Yaroshenko A, Maack H-I, Pralow T, van der Heijden H, Wieberneit N, Proksa R, Koehler T, Rindt K, Schroeter TJ, Mohr J, Bamberg F, Ertl-Wagner B, Pfeiffer F, Reiser MF. Depiction of pneumothoraces in a large animal model using x-ray dark-field radiography. *Scientific Reports*. 2018;8(1):2602.

- Hellbach K, Meinel FG, Conlon TM, Willer K, Yaroshenko A, Velroyen A, Braunagel M, Auweter S, Reiser MF, Eickelberg O. X-ray dark-field imaging to depict acute lung inflammation in mice. *Scientific Reports*. 2018;8(1):1-9.
- Hellbach K, Yaroshenko A, Meinel FG, Yildirim AÖ, Conlon TM, Bech M, Mueller M, Velroyen A, Notohamiprodjo M, Bamberg F. In vivo dark-field radiography for early diagnosis and staging of pulmonary emphysema. *Investigative Radiology*. 2015;50(7):430-435.
- Hellbach K, Yaroshenko A, Willer K, Conlon TM, Braunagel MB, Auweter S, Yildirim AÖ, Eickelberg O, Pfeiffer F, Reiser MF, Meinel FG. X-ray dark-field radiography facilitates the diagnosis of pulmonary fibrosis in a mouse model. *Scientific Reports*. 2017;7(1):340.
- Hernandez-Divers SJ. Green iguana nephrology: A review of diagnostic techniques. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*. 2003;6(1):233-250.
- Hoffmann I, Pees M. Sonstige Organsysteme, Umfangsvermehrungen. In: Krautwald-Junghanns ME, Pees M, Reese S, Tully T, Hrsg. *Atlas der bildgebenden Diagnostik bei Heimtieren* Schlütersche; 2010:430 - 439.
- Hügler T, Krenn V. Histo-Pathophysiologie der Gichtarthritis. *Therapeutische Umschau*. 2016;73(3):137-140.
- Ippen R, Schröder H. Zu den Erkrankungen der Reptilien. Paper presented at: Erkrankungen der Zootiere 19th International Symposium, Poznan, 1977.
- Jayakumar D, Sehra ST, Anand S, Stallings GW, Danve A. Role of Dual Energy Computed Tomography Imaging in the Diagnosis of Gout. *Cureus*. 2017;9(1):e985.
- Jin M, Wang X, Ning K, Liu N, Zhang D. Genetic characterization of a new astrovirus in goslings suffering from gout. *Archives of Virology*. 2018;163(10):2865-2869.
- Jones YL, Fitzgerald SD. Articular gout and suspected pseudogout in a basilisk lizard (*Basiliscus plumifrons*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2009;40(3):576-578.
- Jud C, Braig E, Dierolf M, Eggl E, Günther B, Achterhold K, Gleich B, Rummeny E, Noël P, Pfeiffer F. Trabecular bone anisotropy imaging with a compact laser-undulator synchrotron x-ray source. *Scientific*

*Reports*. 2017;7(1):14477.

Kienhorst LB, Janssens HJ, Eijgelaar RS, Radstake TR, van Riel PL, Janssen M. The detection of monosodium urate crystals in synovial fluid after long-term and varying storage conditions. *Joint Bone Spine*. 2015;82(6):470-471.

Kienhorst LB, Janssens HJ, Fransen J, van de Lisdonk EH, Janssen M. Arthritis of the first metatarsophalangeal joint is not always gout: a prospective cohort study in primary care patients. *Joint Bone Spine*. 2014;81(4):342-346.

Koehler T, Daerr H, Martens G, Kuhn N, Löscher S, van Stevendaal U, Roessl E. Slit-scanning differential x-ray phase-contrast mammography: Proof-of-concept experimental studies. *Medical Physics*. 2015;42(4):1959-1965.

Komiyama T, Ueo T, Miyazono Y. Breed Difference in the Articular Gout Incidence induced by Feeding High Protein Diet. *Japanese Poultry Science*. 1977;14(1):10-14.

Korbel R. Augenheilkunde bei Vögeln: Ätiologie und Klinik von Augenkrankheiten, Luftsack-Perfusionsanästhesie, ophthalmologische Photographie und Bildatlas der Augenerkrankungen bei Vögeln. Vet Habil, München, 1994.

Koutsos EA, Smith J, Woods LW, Klasing KC. Adult cockatiels (*Nymphicus hollandicus*) metabolically adapt to high protein diets. *The Journal of Nutrition*. 2001;131(7):2014-2020.

Krautwald-Junghanns ME, Kummerfeld N. Erkrankungen des Herzens und der großen Blutgefäße. In: Kaleta EF, Krautwald-Junghanns ME, Hrsg. *Kompendium der Ziervogelkrankheiten: Papageien - Tauben - Sperlingsvögel*. 4. Aufl. Schlütersche 2011:169 - 177.

Krautwald-Junghanns ME, Pees M, Schroff S. Herz-Kreislauf-System. In: Krautwald-Junghanns ME, Reese S, Pees M, Tully T, Hrsg. *Atlas der bildgebenden Diagnostik bei Heimtieren*. Hannover: Schlütersche; 2010:84 - 91.

Krautwald-Junghanns ME. Erkrankungen der harnbildenden Organe. In: Kaleta EF, Krautwald-Junghanns ME, Hrsg. *Kompendium der Ziervogelkrankheiten Papageien-Tauben-Sperlingsvögel*. 4. Aufl. Schlütersche 2011:164-168.

- Krautwald-Junghanns M-E, Moerke-Schindler T, Vorbrüggen S, Cramer K. Radiography and ultrasonography in the backyard poultry and waterfowl patient. *Journal of Avian Medicine Surgery*. 2017;31(3):189-197.
- Krenn V, Mohr W. Synovialitiden bekannter Ursachen. In: Amann K, Kain R, Klöppel G, Hrsg. *Pathologie*: Springer; 2016:913-932.
- Kuo C-F, Grainge MJ, Zhang W, Doherty M. Global epidemiology of gout: prevalence, incidence and risk factors. *Nature Reviews Rheumatology*. 2015;11:649-662.
- Latimer K, Rakich P. Necropsy Examination. In: Ritchie B, Harrison G, Harrison L, eds. *Avian Medicine: Principles and Applications*. 1st ed. Lake Worth: Wingers Publishing, Inc.; 1994:355-379.
- Lee YH, Song GG. Diagnostic accuracy of ultrasound in patients with gout: A meta-analysis. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 2018;47(5):703-709.
- Lin H-Y, Rocher LL, McQuillan MA, Schmaltz S, Palella TD, Fox IH. Cyclosporine-induced hyperuricemia and gout. *New England Journal of Medicine*. 1989;321(5):287-292.
- Loeb JN. The influence of temperature on the solubility of monosodium urate. *Arthritis & Rheumatology*. 1972;15(2):189-192.
- Lohmann AW, Silva DE. An interferometer based on the Talbot effect. *Optics Communications*. 1971;2(9):413-415.
- Lumbreras B, Pascual E, Frasset J, González-Salinas J, Rodríguez E, Hernández-Aguado I. Analysis for crystals in synovial fluid: training of the analysts results in high consistency. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2005;64(4):612-615.
- Lumeij JT. Nephrology. In: Ritchie B, Harrison G, Harrison L, eds. *Avian Medicine: Principles and Applications*. 1<sup>st</sup> ed. Lake Worth: Wingers Publishing, Inc.; 1994:538-555.
- Lumeij JT, Remple JD. Plasma urea, creatinine and uric acid concentrations in relation to feeding in peregrine falcons (*Falco peregrinus*). *Avian Pathology*. 1991;20(1):79-83.
- Lumeij JT, Sprang EPM, Redig PT. Further studies on allopurinol-induced hyperuricaemia and visceral gout in red-tailed hawks (*Buteo*

- jamaicensis). *Avian Pathology*. 1998;27(4):390-393.
- Mader DR. Chapter 54 - Gout. In: Mader DR, ed. *Reptile Medicine and Surgery*. 2<sup>nd</sup> ed. Saint Louis: W.B. Saunders; 2006:793-800.
- Malecki A, Potdevin G, Pfeiffer F. Quantitative wave-optical numerical analysis of the dark-field signal in grating-based X-ray interferometry. *EPL*. 2012;99(4):48001.
- Malik A, Schumacher HR, Dinnella JE, Clayburne GM. Clinical diagnostic criteria for gout: comparison with the gold standard of synovial fluid crystal analysis. *Journal of Clinical Rheumatology*. 2009;15(1):22-24.
- Mayer B, Muche R. Die limitierte Aussagekraft formaler Fallzahlplanung im Rahmen von Tierversuchen der medizinischen Grundlagenforschung. *Tierärztliche Praxis Ausg K Kleintiere Heimtiere*. 2013;41(6):367-374.
- Meinel FG, Yaroshenko A, Hellbach K, Bech M, Müller M, Velroyen A, Bamberg F, Eickelberg O, Nikolaou K, Reiser MF. Improved diagnosis of pulmonary emphysema using in vivo dark-field radiography. *Investigative Radiology*. 2014;49(10):653-658.
- Mir M, Darzi M, Khan A, Ganaie N, Gupta S, Nashiruddullah N, Kamil S. Investigation of an outbreak of gout in Kashmir Favorella poultry. *Indian Journal of Veterinary Pathology*. 2005;29(1):35-37.
- Momose A, Yashiro W, Kido K, Kiyohara J, Makifuchi C, Ito T, Nagatsuka S, Honda C, Noda D, Hattori T, Endo T, Nagashima M, Tanaka J. X-ray phase imaging: from synchrotron to hospital. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*. 2014;372(2010):20130023.
- Montali R, Bush M, Smeller J. The pathology of nephrotoxicity of gentamicin in snakes. *Veterinary Pathology*. 1979;16(1):108-115.
- Münch TA. *Retrospektive und prospektive Auswertung der Todesursachen von Vögeln im Münchner Tierpark Hellabrunn* [Dissertation]. München: Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität; 2006.
- Nath SD, Voruganti VS, Arar NH, Thameem F, Lopez-Alvarenga JC, Bauer R, Blangero J, MacCluer JW, Comuzzie AG, Abboud HE. Genome scan for determinants of serum uric acid variability. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2007;18(12):3156-3163.
- Nelson D, Cox M. *Lehninger Biochemie*. 4.Aufl. Berlin Heidelberg: Springer; 2011:1163-1178.

- Nemeth NM, Gonzalez-Astudillo V, Oesterle PT, Howerth EW. A 5-Year Retrospective Review of Avian Diseases Diagnosed at the Department of Pathology, University of Georgia. *Journal of Comparative Pathology*. 2016;155(2):105-120.
- Neogi T, Jansen TLTA, Dalbeth N, Fransen J, Schumacher HR, Berendsen D, Brown M, Choi H, Edwards NL, Janssens H. 2015 gout classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis & Rheumatology*. 2015;67(10):2557-2568.
- O'Malley B. *Klinische Anatomie und Physiologie bei kleinen Heimtieren, Vögel, Reptilien und Amphibien*. 1. Aufl. München: Elsevier GmbH; 2008:37-39.
- Oaks JL, Gilbert M, Virani MZ, Watson RT, Meteyer CU, Rideout BA, Shivaprasad H, Ahmed S, Chaudhry MJ, Arshad M. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature*. 2004;427(6975):630.
- Omoumi P, Zufferey P, Malghem J, So A. Imaging in gout and other crystal-related arthropathies. *Rheumatic Disease Clinics*. 2016;42(4):621-644.
- Owens D, Whelan B, McCarthy G. A survey of the management of gout in primary care. *Irish Medical Journal*. 2008;101(5):147-149.
- Palya V, Kovacs EW, Marton S, Tatar-Kis T, Felfoldi B, Forro B, Doman M, Banyai K. Novel Orthobunyavirus Causing Severe Kidney Disease in Broiler Chickens, Malaysia, 2014-2017. *Emerging Infectious Diseases*. 2019;25(6):1110-1117.
- Pascart T, Lioté F. Gout: state of the art after a decade of developments. *Rheumatology*. 2018;58(1):27-44.
- Pascual E, Batlle-Gualda E, Martínez A, Rosas J, Vela P. Synovial fluid analysis for diagnosis of intercritical gout. *Annals of Internal Medicine*. 1999;131(10):756-759.
- Pascual E, Tovar J, Ruiz M. The ordinary light microscope: an appropriate tool for provisional detection and identification of crystals in synovial fluid. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1989;48(12):983-985.
- Pees M, Krautwald-Junghanns ME. Harntrakt. In: Krautwald-Junghanns ME, Pees M, Reese S, Tully T, Hrsg. *Atlas der bildgebenden Diagnostik bei*

*Heimtieren*: Schlütersche; 2010:414 - 420.

Perez-Ruiz F, Castillo E, Chinchilla SP, Herrero-Beites AM. Clinical manifestations and diagnosis of gout. *Rheumatic Disease Clinics*. 2014;40(2):193-206.

Perez-Ruiz F, Dalbeth N, Bardin T. A review of uric acid, crystal deposition disease, and gout. *Advances in Therapy*. 2015;32(1):31-41.

Perrin CM, Dobish MA, Van Keuren E, Swift JA. Monosodium urate monohydrate crystallization. *CrystEngComm*. 2011;13(4):1111-1117.

Petersel D, Schlesinger N. Treatment of acute gout in hospitalized patients. *The Journal of Rheumatology*. 2007;34(7):1566-1568.

Peterson DW, Hamilton WH, Lilyblade AL. Hereditary Susceptibility to Dietary Induction of Gout in Selected Lines of Chickens. *The Journal of Nutrition*. 1971;101(3):347-354.

Pfeiffer F, Bech M, Bunk O, Kraft P, Eikenberry EF, Brönnimann C, Grünzweig C, David C. Hard-X-ray dark-field imaging using a grating interferometer. *Nature Materials*. 2008;7(2):134.

Pfeiffer F, Reiser M, Rummeny E. Röntgen-Phasenkontrast: Grundlagen, Potenzial und Fortschritte in der klinischen Translation. *Radiologe*. 2018.

Pfeiffer F, Weitkamp T, Bunk O, David C. Phase retrieval and differential phase-contrast imaging with low-brilliance X-ray sources. *Nature Physics*. 2006;2(4):258.

Plenz B. Anorexie, Apathie und Abmagerung. In: Pees M, Hrsg. *Leitsymptome bei Reptilien*. 1. Aufl. Stuttgart: Enke; 2015:330-332.

Poffers J, Lumeij JT, Redig PT. Investigations into the uricolytic properties of urate oxidase in a granivorous ( *Columba livia domestica* ) and in a carnivorous ( *Buteo jamaicensis* ) avian species. *Avian Pathology*. 2002;31(6):573-579.

Poffers J, Lumeij JT, Timmermans-Sprang EPM, Redig PT. Further studies on the use of allopurinol to reduce plasma uric acid concentrations in the Red-tailed Hawk ( *Buteo jamaicensis* ) hyperuricaemic model. *Avian Pathology*. 2002;31(6):567-572.

Porter R, Rousseau GS. *Gout: the patrician malady*. Yale University Press;

2000.

- Pouliot M, James MJ, McColl SR, Naccache PH, Cleland LG. Monosodium urate microcrystals induce cyclooxygenase-2 in human monocytes. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 1998;91(5):1769-1776.
- Puig J, Beltran L, Mejia-Chew C, Tevar D, Torres R. Ultrasonography in the diagnosis of asymptomatic hyperuricemia and gout. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2016;35(10-12):517-523.
- Ragab G, Elshahaly M, Bardin T. Gout: An old disease in new perspective – A review. *Journal of Advanced Research*. 2017;8(5):495-511.
- Redrobe S. Ultrasound of exotic species. In: Mannion P, ed. *Diagnostic ultrasound in small animal practice*. 1<sup>st</sup> ed. Blackwell Science Ltd; 2006:301-329.
- Richette P, Doherty M, Pascual E, Barskova V, Becce F, Castaneda J, Coyfish M, Guillo S, Jansen T, Janssens H, Lioté F, Mallen CD, Nuki G, Perez-Ruiz F, Pimentao J, Punzi L, Pywell A, So AK, Tausche AK, Uhlig T, Zavada J, Zhang W, Tubach F, Bardin T. 2018 updated European League Against Rheumatism evidence-based recommendations for the diagnosis of gout. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2020;79(1):31-38.
- Roddy E. Revisiting the pathogenesis of podagra: why does gout target the foot? *Journal of Foot and Ankle Research*. 2011;4(1):13.
- Roiser N, Scholz J, Kimm MA, Andrejewski J, Baumgartner C, Braig E, Herzen J, Pfeiffer D, Korbel R (2022). Die Dunkelfeld-Radiographie - ein neuer Weg zur Diagnostik von Gichterkrankungen bei Vögeln und Reptilien? *Tierärztl. Praxis*. 2022; 50(03): 185-196.
- Scheinert P, Hoffmann R, Fischer-Scherl T, Reitmeier R. Reptilien als Patienten in der tierärztlichen Praxis. *Tierärztl. Praxis*. 1992;20:307-320.
- Scherer K, Braig E, Ehn S, Schock J, Wolf J, Birnbacher L, Chabior M, Herzen J, Mayr D, Grandl S, Sztrokay-Gaul A, Hellerhoff K, Pfeiffer F. Improved Diagnostics by Assessing the Micromorphology of Breast Calcifications via X-Ray Dark-Field Radiography. *Scientific Reports*. 2016;6:36991.
- Scherer K, Braig E, Willer K, Willner M, Fingerle AA, Chabior M, Herzen J, Eiber M, Haller B, Straub M. Non-invasive differentiation of kidney stone types using X-ray dark-field radiography. *Scientific Reports*.

2015;5:9527.

Scherer K, Yaroshenko A, Bölükbas DA, Gromann LB, Hellbach K, Meinel FG, Braunagel M, von Berg J, Eickelberg O, Reiser MF. X-ray dark-field radiography-in-vivo diagnosis of lung cancer in mice. *Scientific Reports*. 2017;7(1):1-9.

Schoemaker N, Redig P. Visceral gout in two red-tailed hawks (*buteo jamaicensis*). *Veterinary Quarterly*. 1997;19(sup1):61-62.

Scholz J, Roiser N, Braig E-M, Petrich C, Birnbacher L, Andrejewski J, Kimm MA, Sauter A, Busse M, Korbel R, Herzen J, Pfeiffer D. X-ray dark-field radiography for in situ gout diagnosis by means of an ex vivo animal study. *Scientific Reports*. 2021;11(1):19021.

Shashev Y, Kupsch A, Lange A, Evsevlev S, Britzke R, Bruno G, Müller BR. Talbot-Lau Röntgen-Interferometrie für die zerstörungsfreie Prüfung; 2017.(Conference Paper)

Siegmann O, Neumann U. Syndrome. In: Siegmann O, Neumann U, Hrsg. *Kompendium der Geflügelkrankheiten*. 7. Aufl. Hannover: Schlütersche; 2012:354-362.

Siller W. Renal pathology of the fowl—a review. *Avian Pathology*. 1981;10(3):187-262.

Silverman SAM. Chapter 29 - Diagnostic Imaging. In: Mader DR, ed. *Reptile Medicine and Surgery* 2<sup>nd</sup> ed. Saint Louis: W.B. Saunders; 2006:471-489.

Singh N, Ghosh RC, Singh A. Prevalence and haemato–biochemical studies on naturally occurring gout in Chhattisgarh. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2013;3(1):9-11.

Sinn AD. *Pathologie der Reptilien - eine retrospektive Studie* [Dissertation]. München: Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität; 2004.

Stampanoni M, Wang Z, Thüning T, David C, Roessl E, Trippel M, Kubik-Huch RA, Singer G, Hohl MK, Hauser N. The first analysis and clinical evaluation of native breast tissue using differential phase-contrast mammography. *Investigative Radiology*. 2011;46(12):801-806.

Tanaka J, Nagashima M, Kido K, Hoshino Y, Kiyohara J, Makifuchi C, Nishino S, Nagatsuka S, Momose A. Cadaveric and in vivo human joint imaging based on differential phase contrast by X-ray Talbot-Lau interferometry.

*Zeitschrift für medizinische Physik.* 2013;23(3):222-227.

- Terslev L, Gutierrez M, Christensen R, Balint PV, Bruyn GA, Delle Sedie A, Filippucci E, Garrido J, Hammer HB, Iagnocco A. Assessing elementary lesions in gout by ultrasound: results of an OMERACT patient-based agreement and reliability exercise. *The Journal of Rheumatology.* 2015;42(11):2149-2154.
- Thüring T, Guggenberger R, Alkadhi H, Hodler J, Vich M, Wang Z, David C, Stampanoni M. Human hand radiography using X-ray differential phase contrast combined with dark-field imaging. *Skeletal Radiology.* 2013;42(6):827-835.
- Underwood M. Diagnosis and management of gout. *BMJ.* 2006;332(7553):1315-1319.
- Wedel A. *Ziervögel: Erkrankungen, Haltung, Fütterung:* Parey; 2004:246
- Wideman Jr R, Closser J, Roush W, Cowen B. Urolithiasis in pullets and laying hens: role of dietary calcium and phosphorus. *Poultry Science.* 1985;64(12):2300-2307.
- Willer K, Fingerle A, Noichl W, De Marco F, Frank M, Urban T, Schick R, Gustschin A, Gleich B, Herzen J. X-ray Dark-Field Chest Imaging can Detect and Quantify Emphysema in COPD Patients. *MedRxiv.* 2021:15.21249798.
- Willer K, Fingerle AA, Gromann LB, De Marco F, Herzen J, Achterhold K, Gleich B, Muenzel D, Scherer K, Renz M. X-ray dark-field imaging of the human lung—A feasibility study on a deceased body. *Plos One.* 2018;13(9).
- Xi Y, Yan J, Li M, Ying S, Shi Z. Gut microbiota dysbiosis increases the risk of visceral gout in goslings through translocation of gut-derived lipopolysaccharide. *Poultry Science.* 2019;98(11):5361-5373.
- Yaroshenko A, Hellbach K, Yildirim AÖ, Conlon TM, Fernandez IE, Bech M, Velroyen A, Meinel FG, Auweter S, Reiser M. Improved in vivo assessment of pulmonary fibrosis in mice using x-ray dark-field radiography. *Scientific Reports.* 2015;5:17492.
- Yaroshenko A, Meinel FG, Bech M, Tapfer A, Velroyen A, Schleede S, Auweter S, Bohla A, Yildirim AÖ, Nikolaou K. Pulmonary emphysema diagnosis with a preclinical small-animal x-ray dark-field scatter-contrast scanner. *Radiology.* 2013;269(2):427-433.

- Yoshioka H, Kadono Y, Kim YT, Oda H, Maruyama T, Akiyama Y, Mimura T, Tanaka J, Niitsu M, Hoshino Y, Kiyohara J, Nishino S, Makifuchi C, Takahashi A, Shinden Y, Matsusaka N, Kido K, Momose A. Imaging evaluation of the cartilage in rheumatoid arthritis patients with an x-ray phase imaging apparatus based on Talbot-Lau interferometry. *Scientific Reports*. 2020;10(1):6561.
- Zhang Q, Gao F, Sun W, Ma J, Cheng L, Li Z. The diagnostic performance of musculoskeletal ultrasound in gout: A systematic review and meta-analysis. *Plos One*. 2018;13(7):e0199672.
- Zhang W, Doherty M, Bardin T, Pascual E, Barskova V, Conaghan P, Gerster J, Jacobs J, Leeb B, Liote F. EULAR evidence based recommendations for gout. Part II: Management. Report of a task force of the EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCISIT). *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2006;65(10):1312-1324.
- Zwart P. Urogenitaltrakt. In: Beynon PH, Lawton MPC, Cooper JE, Hrsg. Blahak S, Krug P, trans. *Kompendium der Reptilienkrankheiten: Haltung, Diagnostik, Therapie*. 1. Aufl. Hannover: Schlütersche; 1997.

## IX. ANHANG

### 1. Zusatzmaterial zur Studie am Mausmodell

Tabelle 2: Ergebnisse Reader Studie Mausmodell. Ja/Nein Antwort auf die Frage, ob Harnsäurekristalle zu erkennen sind. Angabe der „Confidence“ auf einer Skala von 0 (nicht sicher) bis 3 (sehr sicher)

<b>Reader 1 (Andi)</b>						
case	Transmission	Confidence T	Dunkel-feld	Confidence DF	Transmission+DF	Con-fidence T&DF
A	n	0	n	3	n	3
B	j	0	j	2	n	2
C	n	0	j	3	j	3
D	n	0	n	3	n	3
E	n	0	j	3	j	3
F	n	0	n	3	n	3
G	n	0	j	2	j	3
<b>Reader 2 (Felix)</b>						
	Transmission	Confidence T	Dunkel-feld	Confidence DF	Transmission+DF	Con-fidence T&DF
A	n	0	n	3	n	3
B	n	0	n	1	n	2
C	n	0	j	3	j	3
D	n	0	n	3	n	3
E	n	0	j	2	j	3
F	n	0	n	3	n	3
G	n	0	j	2	j	2
<b>Reader 3 (Jannis)</b>						
	Transmission	Confidence T	Dunkel-feld	Confidence DF	Transmission+DF	Con-fidence T&DF
A	n	1	n	3	n	3
B	n	0	n	2	n	2
C	n	1	j	3	j	3
D	n	1	n	3	n	3
E	j	2	j	3	j	3
F	n	0	n	3	n	3
G	n	0	j	3	j	3

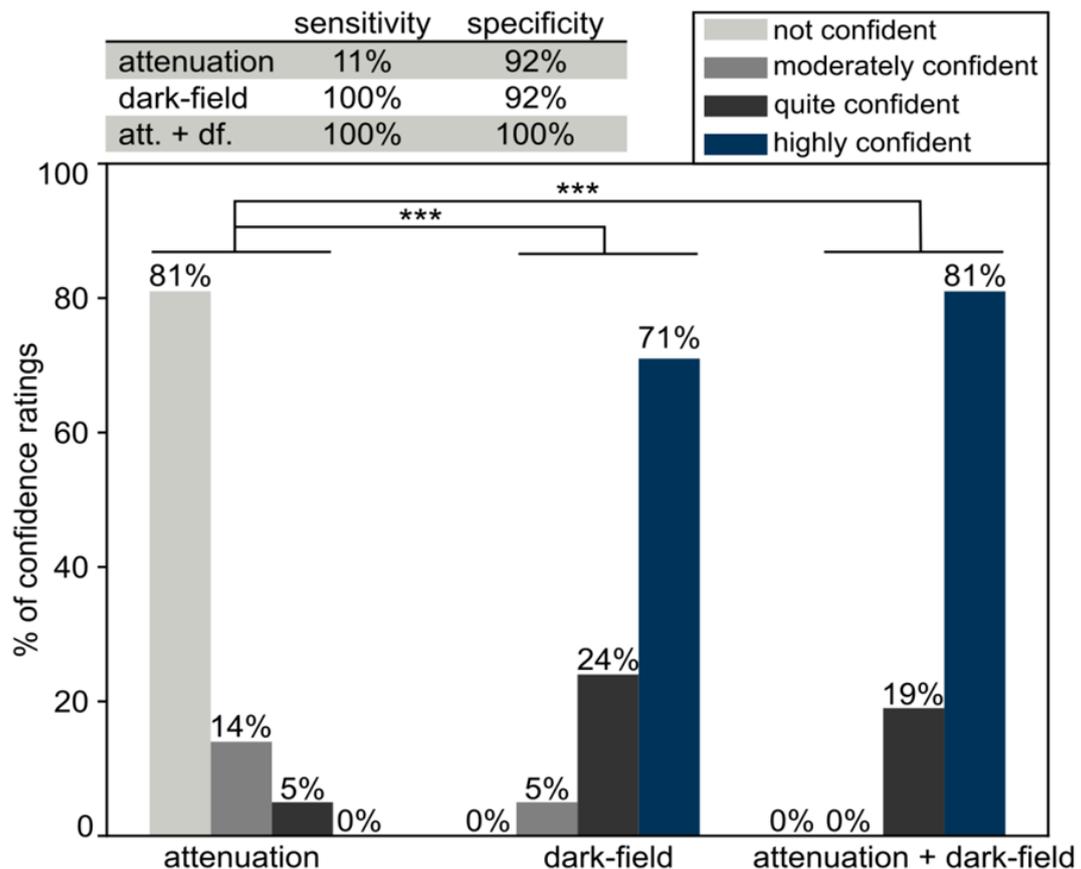
Tabelle 3: Auswertung Reader Studie zur korrekten Diagnose

						Cohens kappa =0=keine Übereinstimmung in der Beurteilung Cohens kappa=1=perfekte Übereinstimmung in der Beurteilung				
<b>positiv * Transmission</b>										
<b>Kreuztabelle</b>						<b>Symmetrische Maße</b>				
			Transmission							
			nein	ja	Gesamt		Wert	Asymptotischer Standardfehler <sup>a</sup>	Näherungsweise t <sup>b</sup>	Näherungsweise Signifikanz
positiv	nein	Anzahl	11	1	12	Maß der Übereinstimmung Kappa Anzahl der gültigen Fälle	0,031	0,146	0,215	0,830
		% innerhalb von positiv	91,7%	8,3%	100,0%					
	ja	Anzahl	8	1	9	a. Die Null-Hypothese wird nicht angenommen. b. Unter Annahme der Null-Hypothese wird der asymptotische Standardfehler				
		% innerhalb von positiv	88,9%	11,1%	100,0%					
Gesamt		Anzahl	19	2	21	<b>so gut wie keine Übereinstimmung</b>				
		% innerhalb von positiv	90,5%	9,5%	100,0%					
<b>positiv * Dunkelfeld</b>										
<b>Kreuztabelle</b>						<b>Symmetrische Maße</b>				
			Dunkelfeld							
			nein	ja	Gesamt		Wert	Asymptotischer Standardfehler <sup>a</sup>	Näherungsweise t <sup>b</sup>	Näherungsweise Signifikanz
positiv	nein	Anzahl	11	1	12	Maß der Übereinstimmung Kappa Anzahl der gültigen Fälle	0,904	0,093	4,162	0,000
		% innerhalb von positiv	91,7%	8,3%	100,0%					
	ja	Anzahl	0	9	9	a. Die Null-Hypothese wird nicht angenommen. b. Unter Annahme der Null-Hypothese wird der asymptotische Standardfehler verwendet.				
		% innerhalb von positiv	0,0%	100,0%	100,0%					
Gesamt		Anzahl	11	10	21	<b>sehr gute Übereinstimmung</b>				
		% innerhalb von positiv	52,4%	47,6%	100,0%					
<b>positiv * Transmission+DF</b>										
<b>Kreuztabelle</b>						<b>Symmetrische Maße</b>				
			Transmission+DF							
			nein	ja	Gesamt		Wert	Asymptotischer Standardfehler <sup>a</sup>	Näherungsweise t <sup>b</sup>	Näherungsweise Signifikanz
positiv	nein	Anzahl	12	0	12	Maß der Übereinstimmung Kappa Anzahl der gültigen Fälle	1,000	0,000	4,583	0,000
		% innerhalb von positiv	100,0%	0,0%	100,0%					
	ja	Anzahl	0	9	9	a. Die Null-Hypothese wird nicht angenommen. b. Unter Annahme der Null-Hypothese wird der asymptotische Standardfehler				
		% innerhalb von positiv	0,0%	100,0%	100,0%					
Gesamt		Anzahl	12	9	21	<b>perfekte Übereinstimmung</b>				
		% innerhalb von positiv	57,1%	42,9%	100,0%					

Tabelle 4: Auswertung Reader Studie zu Confidence Ratings

Confidence T					Zweifaktorielle Varianzanalyse für Ränge nach Friedman für verbundene Stichproben					
	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente	Paarweise Vergleiche					
Gültig	0	17	81,0	81,0	Sample 1- Sample 2	Teststatistik	Standard Fehler	Standard Teststatistik	Sig.	Korr. Sig. <sup>a</sup>
	1	3	14,3	14,3	Confidence T- Confidence DF	-1,429	0,309	-4,629	0,000	0,000
	2	1	4,8	4,8	Confidence T- Confidence T + DF	-1,571	0,309	-5,092	0,000	0,000
	Gesamt	21	100,0	100,0	Confidence DF- Confidence T + DF	-0,143	0,309	-0,463	0,643	1,000
Confidence DF					Jede Zeile prüft die Nullhypothese, dass die Verteilungen in Stichprobe 1 und Stichprobe a. Signifikanzwerte werden von der Bonferroni-Korrektur für mehrere Tests angepasst.					
	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente	Die Confidenz von DF und T+DF unterscheiden sich nicht signifikant. Die Confidenz von T ist hoch signifikant schlechter als von DF und DF+T					
Gültig	1	1	4,8	4,8						
	2	5	23,8	28,6						
	3	15	71,4	100,0						
	Gesamt	21	100,0	100,0						
Confidence T + DF										
	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente						
Gültig	2	4	19,0	19,0						
	3	17	81,0	100,0						
	Gesamt	21	100,0	100,0						

Abbildung 7: Ergebnisse der Reader Studie zur Auswertung der Mäusescans. Gezeigt wird, wie sicher sich die Radiologen bei ihren Diagnosen bei Vorliegen des unterschiedlichen Bildmaterials sind. Zunächst wurden nur die Absorptionsbilder, dann die Dunkelfeldbilder und zuletzt beide Bilder im direkten Vergleich miteinander ausgewertet. Jede Diagnose erhielt eine Wertung von 0 bis 4 (0 keine sichere Diagnose, 1 einigermaßen sicher, 2 ziemlich sicher, 3 sehr sicher) (Braig et al., 2020).



## 2. Zusatzmaterial zur Studie an Vögeln und Reptilien

Abbildung 8: Studienaufruf

	LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT MÜNCHEN	ZENTRUM FÜR KLINISCHE TIERMEDIZIN KLINIK FÜR VÖGEL, KLEINSÄUGER, REPTILIEN & ZIERFISCHE LEHRSTUHL FÜR AVIÄRE MEDIZIN UND CHIRURGIE LEITER: UNIV.-PROF. DR. RÜDIGER KORBEL	
	Fakultät für Physik Lehrstuhl für biomedizinische Physik Leiter: Univ.-Prof. Dr. Franz Pfeiffer	Klinikum rechts der Isar Institut für diagnostische und interventionelle Radiologie	

Nathalie Roiser  
Telefon +49 172 1491004  
Nathalie.roiser@campus.lmu.de  
www.vogelklinik.de  
Sommerstraße 18  
D - 85764 Oberschleißheim

Oberschleißheim, 17.04.2019

### Neue Wege in der Diagnostik – Dunkelfeldkontrast als neues bildgebendes Verfahren zur Diagnose von Gicht und Pseudogicht

Sehr geehrte Kollegin, sehr geehrter Kollege,

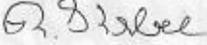
ich würde mich sehr freuen, wenn Sie mich bei meiner Dissertation mit dem Thema *Bildgebende Diagnostik von entzündlichen Gelenkerkrankungen mittels Dunkelfeld-CT* unterstützen.

Hierfür benötige ich verstorbene Reptilien- und Vogelpatienten mit Gicht und bin auf Ihre Mithilfe angewiesen. Gerne erläutere ich Ihnen mein Forschungsvorhaben auf dem beigefügten Informationsblatt.

Herzlichen Dank für Ihre Unterstützung!

Mit freundlichen Grüßen

  
Nathalie Roiser  
Tierärztin, Doktorandin

  
Prof. Dr. Rüdiger Korbel  
Klinikleitung



---

Dienstgebäude Sonnenstr.18 85764 Oberschleißheim	Öffentliche Verkehrsmittel S – Bahn S1 - Haltestelle Oberschleißheim Bus 292 – Haltestelle Veterinärstraße	Bayerische Landesbank München Kto. 24 868 BLZ 700 500 00 US-IdNr. DE 811 205 325
--	--	--

LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT MÜNCHEN

**Reptilien und Vögel für Dunkelfeld-CT Studie gesucht**

Sehr geehrte Kollegin, sehr geehrter Kollege,

im Rahmen meines Dissertationsprojektes am Lehrstuhl für aviäre Medizin und Chirurgie der Ludwig-Maximilian-Universität in Kooperation mit dem Lehrstuhl für biomedizinische Physik an der Fakultät für Physik der Technischen Universität München behandle ich das Thema Gicht und insbesondere neue bildgebende Verfahren für ihre Diagnostik. Ziel meiner Studie ist es zu zeigen, dass der Dunkelfeldkontrast als neues bildgebendes Verfahren zur Diagnose von Gicht geeignet ist. Der Dunkelfeldkontrast ist ein bildgebendes Verfahren, das sich die Brechung und Streuung der Röntgenwellen zu Nutze macht. Dadurch können kleine poröse Strukturen mit vielen Grenzflächen sichtbar gemacht werden - wie zum Beispiel Harnsäurekristalle.

Unterstützen können Sie meine Studie, indem Sie mir verstorbene oder euthanasierte Vogel- oder Reptilienpatienten, bei denen Gicht diagnostiziert wurde oder der Verdacht auf eine Nierenerkrankung besteht, zur Verfügung stellen. Die Todesursache kann dabei eine andere sein.

Nehmen Sie dafür Kontakt mit mir auf, wenn ein solches Tier in Ihrer Praxis verstorben ist oder euthanasiert wurde. Der Tierkörper sollte möglichst frisch sein, kann aber wenn nötig bis zur Einsendung/Abholung in der Kühlung gelagert werden.

**Was ist geplant?**

Die Tiere werden in einem noch experimentellen Dunkelfeldkontrast-CT gescannt, in dem Harnsäurekristalle im Gegensatz zum konventionellen Röntgenbild ein Signal abgeben. Zur Verifizierung des Verfahrens werden sie anschließend in anderweitigen CT-Verfahren untersucht.

**Was haben Sie davon?**

Gerne bieten Ihnen eine kostenfreie pathologisch-anatomische, bakteriologische und histologische Untersuchung der zu Studienzwecken eingesendeten Tiere an. (Gegenwert nach GOT: ca. 82,72€)

Auf Wunsch sende ich Ihnen nach Abschluss der Studie gerne die Studienergebnisse zu.

Außerdem wird unter allen Einsendern ein Exemplar des Fachbuchs *Exotic Animal Formulary* von James W. Carpenter und Chris Marion verlost.

Ich wäre Ihnen sehr dankbar, wenn Sie diese Studie unterstützen!

Falls Sie ein passendes Tier bereitstellen können oder Fragen haben, können Sie mich jederzeit kontaktieren:

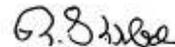
Telefon: 0172/1491004

Email: nathalie.roiser@campus.lmu.de

Herzlichen Dank für Ihre Unterstützung!



Nathalie Roiser  
Tierärztin, Doktorandin



Prof. Dr. Rüdiger Korb  
Klinikleitung

Dienstgebäude  
Sonnenstr. 18  
85764 Oberschleißheim

Öffentliche Verkehrsmittel  
S - Bahn S1 - Haltestelle Oberschleißheim  
Bus 292 - Haltestelle Veterinärstraße

Bayerische Landesbank München  
Kto. 24 868 BLZ 700 500 00  
UST-IdNr. DE 811 205 325

### 3. Einzelergebnisse der Studientiere (Fallprotokolle)

**Abbildung 9: Fallbeispiel 1 - Wasseragame**

**Fallbeispiel 1**

Tierart: Wasseragame (57164)

Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: ja

Vorbericht:

Alter: 10 Jahre

Herkunft: Privathaltung

Haltung: unbekannt

Todestag: unbekannt

Todesursache: Euthanasie

Klinischer Vorbericht der Erkrankung:

April 2019 Schwellung des rechten Karpus. Befall mit Parasiten (Flagellaten). Im Juni 2019 wurde eine Gelenkspunktion durchgeführt bei der Harnsäurekristalle gefunden und damit eine Gelenkgicht diagnostiziert wurde. Das Tier wurde daraufhin euthanasiert.

Durchgeführte Untersuchungen:

Röntgenbefund: knöcherne Strukturen der Gliedmaßen: hochgradige Weichteilschwellung, arthrotische Veränderungen am Karpus

Pathobefund abgekürzt:

Gliedmaßen: rechte Vordergliedmaße geschwollen, alle

Zehengelenke verdickt

Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel: Perikard hochgradig verschattet, Leber marmoriert und hochgradig geschwollen

Nieren: hochgradig aufgehellert

Diagnose: Verdacht auf Gicht

Arthrozentese:

Kristalle in Ellenbogen und Karpus

Darkfield-Scan:

Rechte Vordergliedmaße

Links Absorption, rechts Darkfield

In beiden Bildern hochgradige Weichteilschwellung zu sehen. Im DF sieht man in diesen Bereichen, insbesondere um den Karpus und zwischen Elle und Speiche ein Signal.

Rechte Hintergliedmaße:

Arthrozentese:

Kristalle in Zehengrundgelenk, Tarsus und Zehengelenken

Darkfield-Scan:

Rechte Hintergliedmaße

Links Absorption, rechts Darkfield

Jeweils d/v und l/l

d/v (rechts): DF Signal im Bereich der ersten Zwischenzehengelenke ohne Äquivalent in der Absorption



**Abbildung 10: Fallbeispiel 2 - Bartagame (#57601)****Fallbeispiel 2**

Tierart: Bartagame (57601)

Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: ja (viszeral)

Vorbericht:

Alter: adult, ca. 5 Jahre

Herkunft: Privathaltung

Haltung: Gruppenhaltung im Terrarium

Todestag: 29.07.2019

Todesursache: plötzlich verstorben

Klinischer Vorbericht der Erkrankung:

Eingesendet in die Pathologie, da akute Verschlechterung des Allgemeinbefindens mit perakutem Versterben. Fragestellung ob ansteckende Erkrankung oder Haltungsfehler.

Durchgeführte Untersuchungen:Pathobefund abgekürzt:

Gliedmaßen: Schwanzspitze fehlt. Geringgradig rachitisch, Gelenke ohne besonderen Befund

Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel:

Perikard verklebt und weißlich verschattet. Herzmuskel blass. Lunge mit weißen Kristallen durchsetzt, schaumig kristalliner Inhalt. Unter dem Mikroskop Harnsäurekristalle erkennbar)

Nieren: mit Harnsäure gestaut, dunkelbraun mit weißen Stippchen

Diagnose: Salmonellose, Candidiose, beginnende Viszeralgicht

Arthrozentese:

Keine Kristalle gefunden

Darkfield-Scan

Rechte Hintergliedmaße bis Tarsus (links)

Linke Vordergliedmaße Karpus + Ellbogen (rechts)

Links Absorption, rechts Darkfield

Kein DF Signal peripher der Gelenke (auch keine Kristalle in Arthrozentese)



**Abbildung 11: Fallbeispiel 3 - Bartagame (#58090)**

**Fallbeispiel 3**

Tierart: Bartagame (58090)  
Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: nein

Vorbericht:

Alter: adult, ca.15 Jahre  
Herkunft: Privathaltung  
Haltung: Einzelhaltung im Terrarium  
Todesstag: 30.08.2019  
Todesursache: euthanasiert aus Tierschutzgründen

Klinischer Vorbericht der Erkrankung:

Fällt immer wieder um, kann sich nicht mehr umdrehen.  
Frisst und trinkt nicht mehr.

Durchgeführte Untersuchungen:

Pathobefund abgekürzt:

Gliedmaßen: ohne besonderen Befund  
Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel:  
ohne besonderen Befund  
Nieren: ohne besonderen Befund  
Diagnose: -

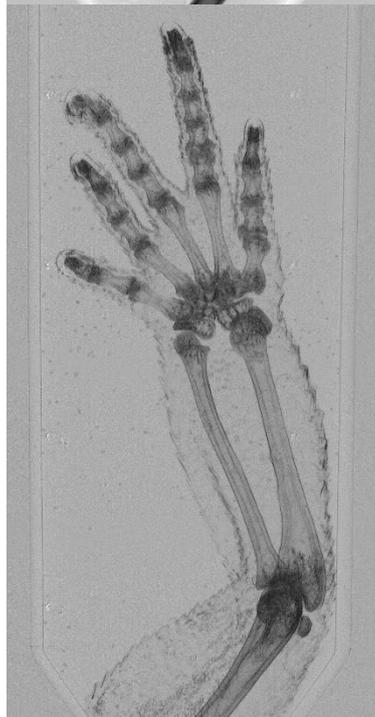
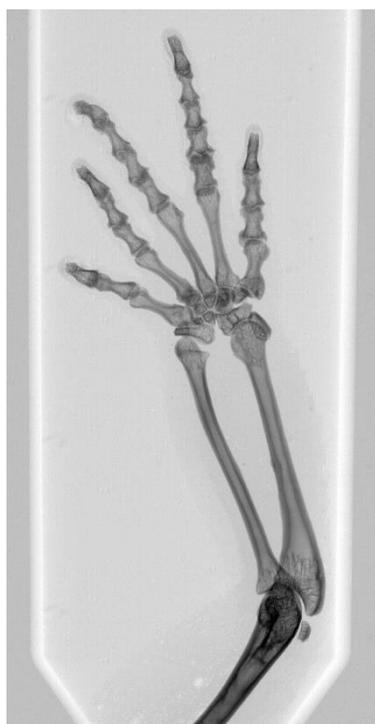
Arthrozentese:

Keine Kristalle gefunden

Darkfield-Scan

Linke Vordergliedmaße Karpus + Ellbogen  
Links Absorption, rechts Darkfield

Kein DF Signal peripher der Gelenke



**Abbildung 12: Fallbeispiel 4 - Bartagame (#58174)****Fallbeispiel 4**

Tierart: Bartagame (58174)

Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: nein

Vorbericht:

Alter: adult, Alter unbekannt

Herkunft: Zootier, erhalten als Fundtier

Haltung: Einzelhaltung im Terrarium

Todestag: 03.09.2019

Todesursache: euthanasiert

Klinischer Vorbericht der Erkrankung:

Chronische Abmagerung bei guter Nahrungsaufnahme seit 6 Monaten, zuletzt hochgradig reduziertes Allgemeinbefinden. Vorbehandelt mit Infusionen und Antibiose

Eingesendet zu Studienzwecken, Verdacht auf Viszeralgicht.

Durchgeführte Untersuchungen:Pathobefund abgekürzt:

Gliedmaßen: Muskulatur hochgradig reduziert, ansonsten ohne besonderen Befund

Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel: Herz mit Euthanasieartefakten, Leber ohne besonderen Befund

Nieren: ohne besonderen Befund

Sonstiges: beide Eierstöcke entartet, Nativausstrich des Darminhalts: Kokzidien ++ und Flagellaten ++

Diagnose: kein Verdacht auf Gicht, Legenot, Parasitose

Arthrozentese:

Keine Kristalle gefunden

Darkfield-Scan

Rechte Vordergliedmaße Karpus + Ellbogen

Links Absorption, rechts Darkfield

DF Signal entlang der Metakarpalknochen der 3. und 4. Zehe. Es gibt aber ein äquivalent im Absorptionsbild, daher vermutlich eher Artefakt. Starkes DF Signal in der Region der medialen Oberarmmuskulatur, hier im Absorptionsbild Aufhellungen, evtl. Luftschlüsse?



**Abbildung 13: Fallbeispiel 5 - Bartagame (#58462)**

**Fallbeispiel 5**

Tierart: Bartagame (58462)  
Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: ja

Vorbericht:

Alter: adult, Alter unbekannt  
Herkunft: Privathaltung  
Haltung: unbekannt  
Todestag: unbekannt  
Todesursache: euthanasiert

Klinischer Vorbericht der Erkrankung:

Eingesendet zu Studienzwecken. Hatte steife Gelenke, Verdacht auf Arthrose oder Gicht.  
Klinischer Vorbericht nicht mehr bekannt.

Durchgeführte Untersuchungen:

Pathobefund abgekürzt:

Gliedmaßen: Ellbogen beidseits nicht ganz ausstreckbar  
Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel: Perikard mit Herzmuskel und Lunge verklebt, mit weißlichen Auflagerungen (vermutliche Euthanasieartefakt), Leber ohne besonderen Befund. Seröse Häute generalisiert verschattet  
Nieren: geringgradig geschwollen, marmoriert, dunkelbraun  
Sonstiges: Kloake mit hochgradigem Harnsäurestau  
Diagnose: Steife Gelenke, mögliche Viszeralgicht

Arthrozentese:

Kristalle in Ellenbogen und Karpus

Darkfield-Scan

Linke Vordergliedmaße Karpus + Ellbogen  
Links Absorption, rechts Darkfield  
Starkes DF Signal in der Region der medialen Oberarmmuskulatur und insbesondere medial des Ellbogengelenks, hier im Absorptionsbild Aufhellungen, evtl. Luft einschüsse?



**Abbildung 14: Fallbeispiel 6 - Rotwangen Schmuckschildkröte****Fallbeispiel 6**

Tierart: Rotwangen Schmuckschildkröte (58461)  
 Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: ja

Vorbericht:

Alter: adult, Alter unbekannt  
 Herkunft: Privathaltung  
 Haltung: unbekannt  
 Todestag: unbekannt  
 Todesursache: euthanasiert

Klinischer Vorbericht der Erkrankung:

Eingesendet zu Studienzwecken.

Einzelstier, seit 7 Jahren Haltung auf Handtüchern, 2x/tgl Baden aufgrund einer Pseudomonadeninfektion. Fütterung: Pellets, Gamarus, Tartar, Salat, Krebse, keine Supplementierung

Seit circa einer Woche Inappetenz, versucht Maul zu öffnen, schafft dies aber nicht  
 Vor 7 Jahren Eiablage ohne Probleme, kein Kotabsatz seit 1 Woche, davor normal  
 Vorerkrankungen: vor 7 Jahren Gicht, Pseudomonaden und Hepatitis diagnostiziert

Durchgeführte Untersuchungen:Pathobefund abgekürzt:

Gliedmaßen: Krallen an allen vier Gliedmaßen zu lang, Panzer hochgradig verformt und mit großflächigen Defekten, Hornplatten blättern ab. Kiefer lässt sich nicht mehr öffnen

Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel: Perikard hochgradig verschattet und mit Leber und Lunge verklebt, Euthanasieartefakte

Leber: hochgradig vergrößert, vor allem rechter Leberlappen hochgradig geschwollen und hyperämisch. Generalisiert marmoriert und aufgehellte. Anschnitt hervorquellend.

Leberkapsel teils mit weißlichen Auflagerungen

Nieren: autolytisch, hochgradig aufgehellte mit miliaren, weißlichen, Einlagerungen

Sonstiges:

Diagnose: Legenot, Viszeralgicht

Arthrozentese:

Keine Kristalle unter dem Mikroskop gefunden

an der Schulter aber makroskopisch weißliche kristalline Strukturen zu sehen

Darkfield-Scan

Linke Vordergliedmaße Schulter bis Mittelhand

Links Absorption, rechts Darkfield

Generalisiert sehr „dunkles“ Weichteilgewebe, insbesondere zwischen Elle und Speiche ist dies bei den anderen Reptilien nie der Fall gewesen, daher hier Verdacht auf deutliches DF Signal. Vorberichtlich Gichtverdacht, hat sich bei Anschneiden der Gelenke nicht bestätigt



**Abbildung 15: Fallbeispiel 7 - Leopardgecko****Fallbeispiel 7**

Tierart: Leopardgecko (58735)

Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: ja

Vorbericht:

Alter: adult, 12 Jahre

Herkunft: Privathaltung

Haltung: unbekannt

Todestag: 30.09.2019

Todesursache: euthanasiert

Klinischer Vorbericht der Erkrankung:

Eingesendet zu Studienzwecken mit Verdacht auf Gelenkgicht. Seit 2,5 Monaten schlechtes Allgemeinbefinden, wurde mit der Sonde zugefüttert. Handwurzelgelenke und Sprunggelenke geschwollen, gelbliches Durchschimmern durch die Haut. Es war keine weitere Diagnostik gewünscht, das Tier wurde euthanasiert.

Durchgeführte Untersuchungen:Pathobefund abgekürzt:

Gliedmaßen: Karpus und Tarsi beidseits hochgradig geschwollen. Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel: Perikard ohne besonderen Befund, Leber mittelgradig vergrößert, grünlich verfärbt mit multiplen multifokalen, weißlich-gelblichen Rundherden unterschiedlicher Größe (mikroskopisch Harnsäurekristalle nachweisbar)

Nieren: hochgradig aufgehellt und geschwollen.

Diagnose: Viszeral- und Gelenkgicht

Arthrozentese:

Kristalle in Hüfte, Zehengrundgelenken, Ellbogen, Knie, Karpus

Darkfield-Scan

Linke Hintergliedmaße Tarsus, Knie und Hüfte in zwei Ebenen

Linke Vordergliedmaße

Links Absorption, rechts Darkfield

Deutliches rundliches DF Signal caudal des Humeruskopfes (Hüfte), cranial der Tibia und medial des Kniegelenks. Außerdem diffus zwischen den Metatarsalknochen.

Linke Vordergliedmaße

Weichteilschwellung im Absorptionsbild erkennbar, im DF deutliches Signal lateral und medial des Karpus. Medial proximal bis zum Ellbogen entlangziehend.



**Abbildung 16: Fallbeispiel 8 - Amsel****Fallbeispiel 8**

Tierart: Amsel (57588)

Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: nein

Vorbericht:

Alter: adult

Herkunft: Wildtier

Haltung: -

Todestag: 30.07.19

Todesursache: euthanasiert aus Tierschutzgründen

Klinischer Vorbericht der Erkrankung:

Fundvogel. Verdickte Gelenke an rechtem Flügel und linkem Ständer.

Verdacht auf Salmonelleninfektion.

Durchgeführte Untersuchungen:Pathobefund abgekürzt:

Gliedmaßen: massiv verdicktes Karpalgelenk des rechten Flügels, Umfangsvermehrung an der mittleren Zehe und Intertarsalgelenk des linken Ständers

Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel: Herz mit Euthanasieartefakten, Leber mittelgradig aufgehellt, grünlich verfärbt

Nieren: cranialer Pol geringgradig geschwollen

Diagnose: Verdacht auf Salmonellose, hochgradige Parasitose

Arthrozentese:

Keine Kristalle gefunden

Darkfield-Scan

Linker Ständer bis Tibiotarsalgelenk

Links Absorption, rechts Darkfield

In beiden Aufnahmen Lyse der Phalanx II erkennbar. Knochenstruktur ist in beiden Aufnahmen verändert/verdichtet. In den Bereichen der Umfangsvermehrungen gibt es ein vermehrtes DF Signal. Im Absorptionbild auch andeutungsweise.



**Abbildung 17: Fallbeispiel 9 - Grünsittich****Fallbeispiel 9**

Tierart: Grünsittich (57099)  
 Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: ja

**Vorbericht:**

Alter: adult, Alter unbekannt  
 Herkunft: Privathaltung  
 Haltung: unbekannt  
 Todestag: 30.06.2019  
 Todesursache: verstorben

**Klinischer Vorbericht der Erkrankung:**

Schlechtes Allgemeinbefinden, in der Klinik in Behandlung mit Verdacht auf Leber- oder Nierenschaden. Keine Blutuntersuchung erfolgt aufgrund des schlechten Allgemeinbefindens

**Durchgeführte Untersuchungen:****Pathobefund abgekürzt:**

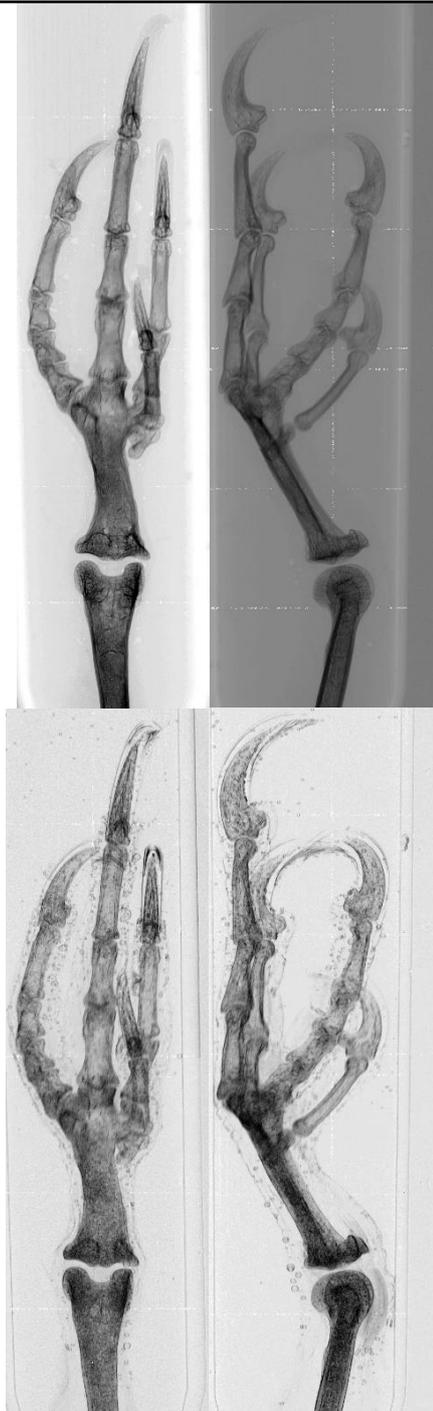
Gliedmaßen: ohne besonderen Befund. Zehengelenke fraglich verdickt  
 Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel: Perikard hochgradig weißlich verschattet und verdickt, Leberkapsel mit plättchenartigen weißlichen Auflagerungen (mikroskopisch Harnsäurekristalle nachweisbar)  
 Nieren: geschwollen, aufgehellt mit miliaren weißlichen Stippchen durchsetzt  
 Diagnose: hochgradiger Verdacht auf Viszeralgicht

**Arthrozentese:**

Kristalle in den Zehengrundgelenken gefunden

**Darkfield-Scan**

Rechter Ständer laterolateral und ventrodorsal  
 Links Absorption, rechts Darkfield  
 In der laterolateralen Aufnahme ggrd. vermehrtes DF Signal im Bereich der Aufzweigung der ersten Zehnglieder. Ventral des Intertarsalgelenks gibt die Beugesehen ein deutliches DF Signal ab.



**Abbildung 18: Fallbeispiel 10 - Nymphensittich (#55688)****Fallbeispiel 10**

Tierart: Nymphensittich (55688)

Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: ja

Vorbericht:

Alter: adult, 6 Jahre

Herkunft: Privathaltung

Haltung: unbekannt

Todestag: 03.04.2019

Todesursache: euthanasiert

Klinischer Vorbericht der Erkrankung:

Aufgehoben zu Studienzwecken mit Verdacht auf Gicht.

Am Morgen verhielt sich das Tier nicht normal. Hat den rechten Fuß entlastet. Hielt später den Kopf gegen das Gitter und ist abgestürzt. Hat den gesamten Tag weder getrunken noch gefressen. Hat noch ein Partnertier, dieses ist aber unauffällig. Fremdkörperaufnahme wurde ausgeschlossen. Tiere haben Freiflug und eine Voliere unter Aufsicht. Hatte weder Durchfall noch Erbrechen. Heute hatte Sie nur Harnsäure abgesetzt.

Durchgeführte Untersuchungen:Pathobefund abgekürzt:

Gliedmaßen: Gichtknötchen an den distalen Gelenken der Ständer, Femurköpfe hochgradig gerötet

Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel: seröse Häute mit weißlichen Auflagerungen(mehltauähnlich), Perikard weiß, Leber hochgradig geschwollen mit weißlichen Auflagerungen

Nieren: Nierenzyste prall fluktuierend gefüllt, Flüssigkeit rötlich-grünlich, Niere weiß, hochgradig derb, kein physiologisches Gewebe mehr vorhanden

Sonstiges: in nativen Abstrichpräparaten wurde in allen Darmabschnitten Harnsäurekristalle in sehr großer Menge gefunden

Diagnose: Verdacht auf Gicht

Arthrozentese:

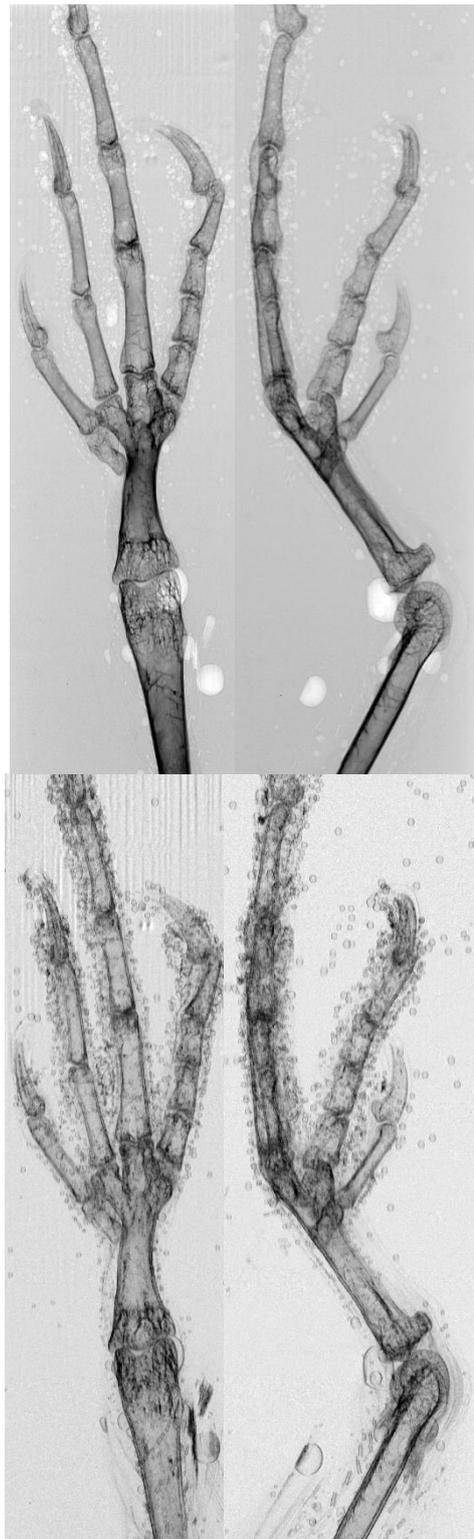
Kristalle im Intertarsalgelenk und den Zehengrundgelenken

Darkfield-Scan

Linker Ständer in zwei Ebenen. Laterolateral auf nächster Seite

Links Absorption, rechts Darkfield

Hier leider sehr viele Artefakte durch Luftblasen. Bereich um die Zehen und das Zehengrundgelenk kaum beurteilbar. Direkt proximal des Intertarsalgelenks DF Signal, welches sich vor allem ventral nicht in der Absorption nachvollziehen lässt.



**Abbildung 19: Fallbeispiel 11 - Nymphensittich (#57187)****Fallbeispiel 11**

Tierart: Nymphensittich (57187)  
 Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: nein

**Vorbericht:**

Alter: adult, Alter unbekannt  
 Herkunft: Fundtier  
 Haltung: unbekannt  
 Todestag: 05.07.2019  
 Todesursache: verstorben

**Klinischer Vorbericht der Erkrankung:**

Von Finder beim Spazierengehen auf dem Weg sitzend gefunden, schwach, nicht flugfähig, schlechtes Allgemeinbefinden. Ist im Laufe des Tages auf Station verstorben.

**Durchgeführte Untersuchungen:****Pathobefund abgekürzt:**

Gliedmaßen: ohne besonderen Befund  
 Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel: ohne besonderen Befund  
 Nieren: ohne besonderen Befund  
 Sonstiges: massives Hämatom in der Unterhaut auf dem linken Brustmuskel  
 Diagnose: Verdacht auf Anflugtrauma.

**Arthrozentese:**

Keine Kristalle gefunden

**Darkfield-Scan**

Linker Ständer in zwei Ebenen  
 Links Absorption, rechts Darkfield  
 Aufgrund Artefakte durch Luftblasenbildung schwer zu beurteilen. Hochgradige Veränderungen des Tibiotarsus in Gelenksnähe mit Auflösung der gewöhnlichen Knochenstruktur. Keine auffälligen Bereiche mit DF Signal  
 Im Bereich der Beugesehen am Intertarsalgelenk



**Abbildung 20: Fallbeispiel 12 - Wellensittich (#57197)****Fallbeispiel 12**

Tierart: Wellensittich (57197)

Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: ja

Vorbericht:

Alter: adult, Alter unbekannt

Herkunft: Privat

Haltung: unbekannt

Todestag: 06.07.2019

Todesursache: euthanasiert

Klinischer Vorbericht der Erkrankung:

schlechtes Allgemeinbefinden, fraglich verdicktes Intertarsalgelenk rechts über dem Ring. In der Untersuchung fielen Harnsäurekristalle, Hefen, Stäbchenbakterien und Megabakterien im Kotausstrich auf.

Es ist keine Blutuntersuchung erfolgt aufgrund des schlechten Allgemeinzustand und der Kosten.

Klinische Verdachtsdiagnose: Megabakteriose, evtl. Gicht

Durchgeführte Untersuchungen:Pathobefund abgekürzt:

Gliedmaßen: fraglicher Gichtknoten distal des rechten Intertarsalgelenks

Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel: ohne besonderen Befund

Nieren: geringgradig geschwollen, nicht aufgeheilt

Diagnose: Megabakteriose

Arthrozentese:

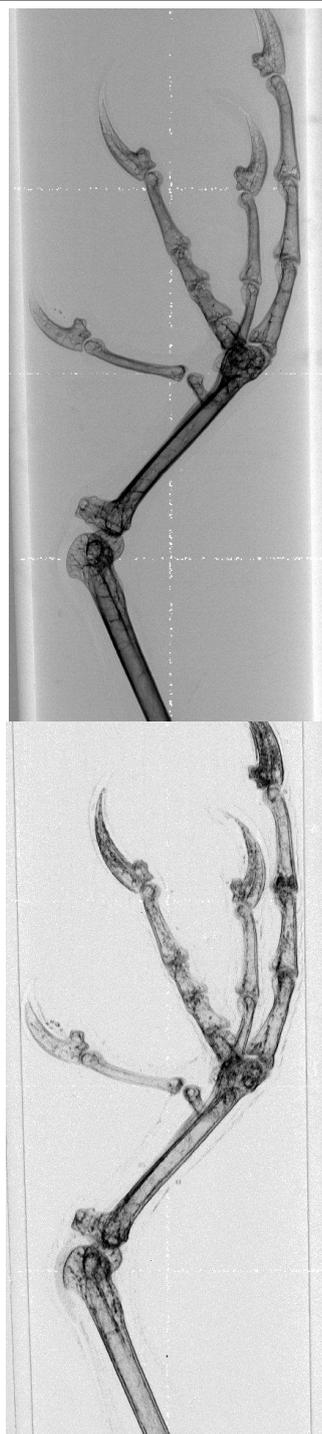
Keine Kristalle gefunden

Darkfield-Scan

Rechter Ständer laterolateral

Links Absorption, rechts Darkfield

DF Signal im Bereich der Beugesehne am Intertarsalgelenk



**Abbildung 21: Fallbeispiel 13a - Wellensittich (#1980), linker Ständer**

**Fallbeispiel 13**

Tierart: Wellensittich (1980)  
Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: ja

Vorbericht:

Alter: adult, Alter unbekannt  
Herkunft: Privat  
Haltung: unbekannt  
Todesstag: 03.09.2019  
Todesursache: euthanasiert

Klinischer Vorbericht der Erkrankung:

Aufgehoben zu Studienzwecken.  
Gichtknoten an den Ständern insbesondere Bein und Sohlenballen. Kein Greifreflex, will nicht mehr stehen.

Durchgeführte Untersuchungen:

Pathobefund abgekürzt:

Gliedmaßen: Gichtknoten an den Ständern, va. 1. Zehe rechts, weißlich gelbe runde Umfangsvermehrungen an der rechten Hüfte sowohl in der Zölmhöhle als auch außerhalb. (mikroskopisch Harnsäurekristalle nachweisbar), am linken Ständer schimmert es an Knie und Intertarsalgelenk gelblich durch die Haut hindurch

Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel: Perikard hochgradig verschattet, Leber geringgradig aufgehellt, geringgradig geschwollen

Nieren: hochgradig aufgehellt und geschwollen

Sonstiges: Lunge eingeblutet

Diagnose: Gelenkgicht

Arthrozentese:

Links

Kristalle in den Zehengrundgelenken, Tarsus und Zehengelenken

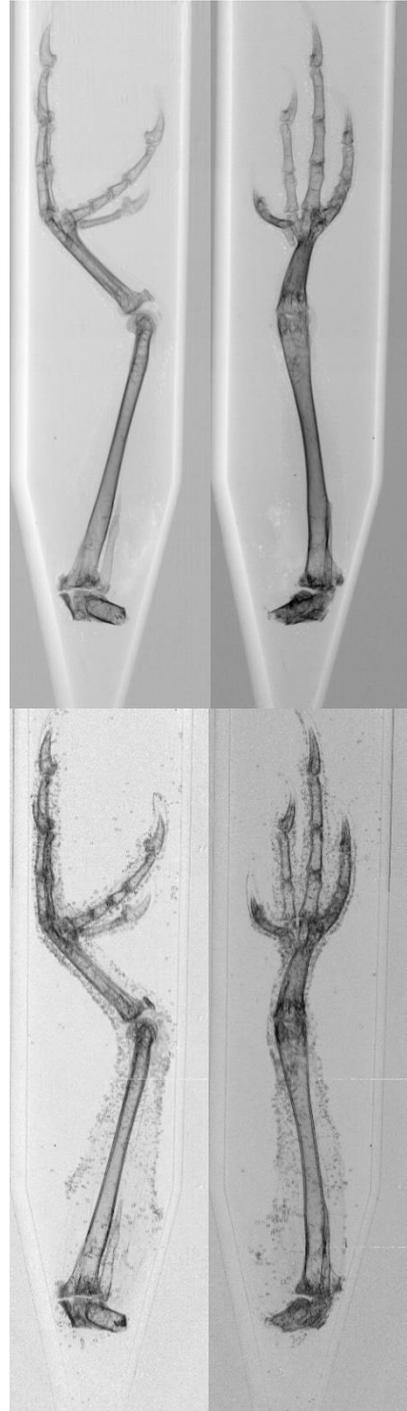
Darkfield-Scan

Linker Ständer Knie, Intertarsalgelenk und Zehengrundgelenke

Rechter Ständer bis Hüftgelenk (nächste Seite)

Links Absorption, rechts Darkfield

Kein Signal im DF ohne Äquivalent in der Absorption erkennbar, nur im Bereich der Beugesehne auf der lateralen Aufnahme

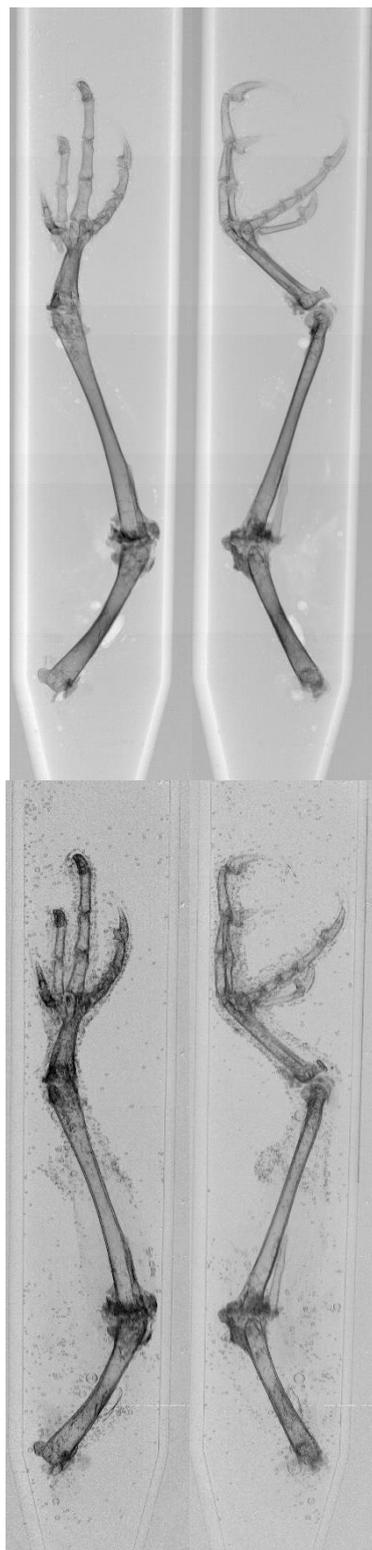


**Abbildung 22: Fallbeispiel 13b - Wellensittich (#1980), rechter Ständer**Wellensittich 1980Rechter Ständer in zwei Ebenen

In der ventrodorsalen Aufnahme auf Höhe des Femurkopfes DF Signal erkennbar in Form von zwei runden Verschattungen.

Arthrozentese rechts:

Kristalle in Zehengrundgelenken, Knie, Hüfte



**Abbildung 23: Fallbeispiel 14 - Wellensittich (#58035)**

**Fallbeispiel 14**

Tierart: Wellensittich (58035)  
Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: nein

Vorbericht:

Alter: adult, Alter unbekannt  
Herkunft: Privat  
Haltung: unbekannt  
Todestag: 01.09.2019  
Todesursache: euthanasiert

Klinischer Vorbericht der Erkrankung:

Va Megabakteriose , Dysbakterie, Ständer obB

Durchgeführte Untersuchungen:

Pathobefund abgekürzt:

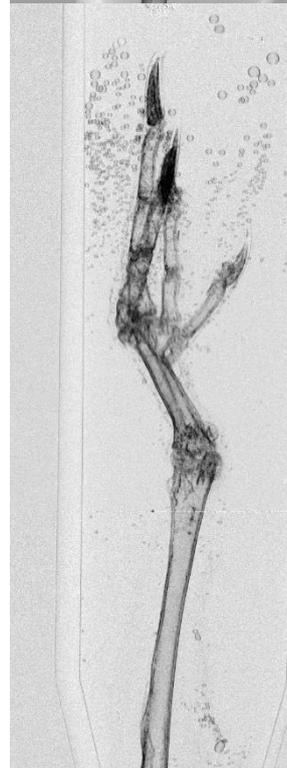
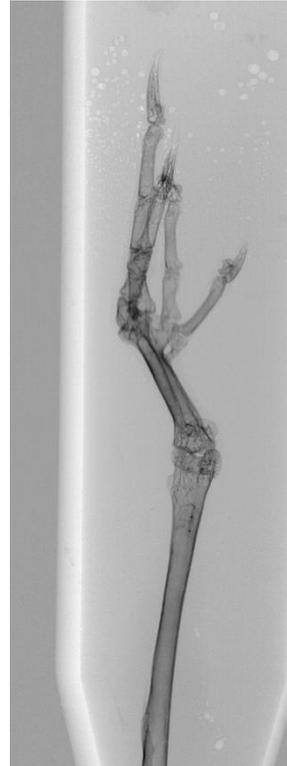
Gliedmaßen: obB  
Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel: Perikard mit Euthanasieartefakten sonst obB, Leber obB, Luftsäcke klar durchscheinend  
Nieren: obB  
Sonstiges: Einblutungen auf dem Schädeldach  
Diagnose: Megabakteriose

Arthrozentese:

Keine Kristalle gefunden

Darkfield-Scan

Linker Ständer Knie, Intertarsalgelenk und Zehengrundgelenke  
Links Absorption, rechts Darkfield  
Kein DF Signal zu sehen, auch keine Beugesehne



**Abbildung 24: Fallbeispiel 15 - Waldohreule (#57673)****Fallbeispiel 15**

Tierart: Waldohreule (57673)

Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: ja

Vorbericht:

Alter: adult, Alter unbekannt

Herkunft: Wildvogel

Haltung: -

Todestag: 08.08.2019

Todesursache: euthanasiert

Klinischer Vorbericht der Erkrankung: fehlend

**Durchgeführte Untersuchungen:**Pathobefund abgekürzt:

Gliedmaßen: Femurköpfe ggrd. gerötet, ansonsten obB

Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel:

Perikard mit hochgradigen weißlichen Auflagerungen,

Luftsäcke ggrd. verschattet

Nieren: Hochgradig aufgehellte, hochgradig geschwollen

Sonstiges:

Diagnose: Viszeralgicht

Arthrozentese:

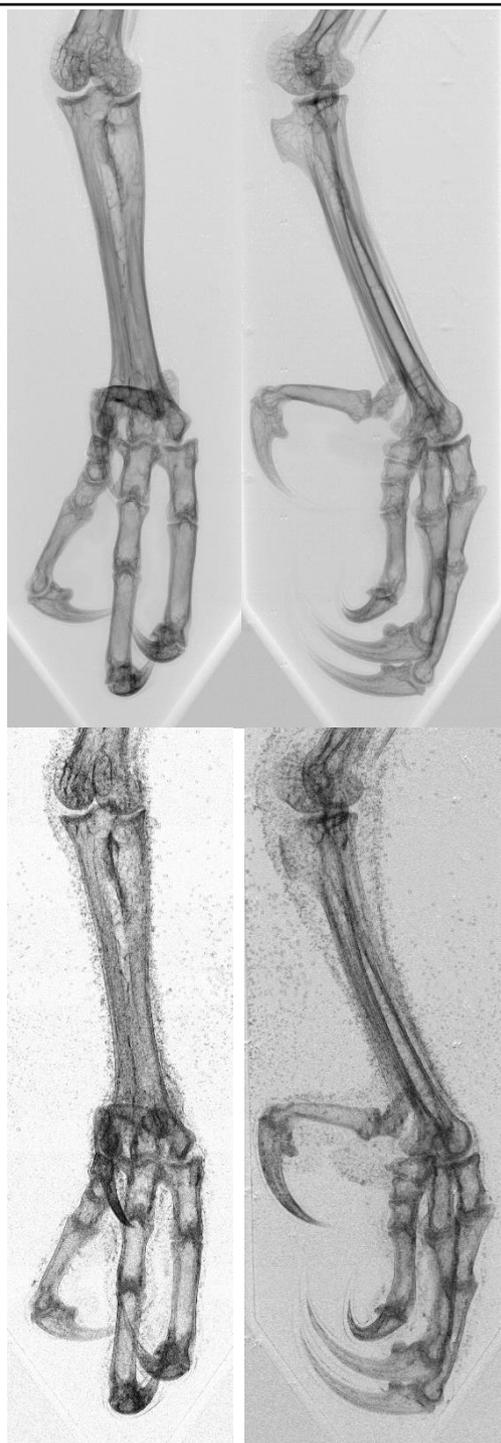
Keine Kristalle gefunden

**Darkfield-Scan**

Linker Ständer, Intertarsalgelenk und Zehengrundgelenke

Links Absorption, rechts Darkfield

Bereiche um die Gelenke und Gelenksspalten frei. Bereich des Sohlenballens gibt DF Signal, allerdings ist hier auch in der Absorption ein Weichteilschatten zu sehen



**Abbildung 25: Fallbeispiel 16 - Waldohreule (#58006)****Fallbeispiel 16**

Tierart: Waldohreule (58006)

Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: nein

Vorbericht:

Alter: adult, Alter unbekannt

Herkunft: Wildvogel

Haltung: -

Todestag: 26.08.2019

Todesursache: euthanasiert

Klinischer Vorbericht der Erkrankung:

AB: reduziert

offene Fraktur des linken Humerus gelenksnah am Ellbogengelenk; Knochen steht ca. 5mm hervor und sieht schon nekrotisch aus

Röntgen: Fraktur Humerus direkt am Gelenk, kleines Frakturende stark verschoben, außerdem gelenksnahe Stauchungsfraktur am rechten Radius

Euthanasie aus Tierschutzgründen, da Wiederauswilderung aufgrund der schlechten Prognose für die Flugfähigkeit nicht möglich

Durchgeführte Untersuchungen:Pathobefund abgekürzt:

Gliedmaßen: Fraktur rechter Oberarm

Seröse Häute, insbesondere Perikard und Leberkapsel: Euthanasieartefakte auf dem Perikard, ansonsten obB

Nieren: obB

Sonstiges: Lunge ggrd. eingeblutet

Diagnose: Humerusfraktur rechts, Euthanasie aus Tierschutzgründen

Arthrozentese:

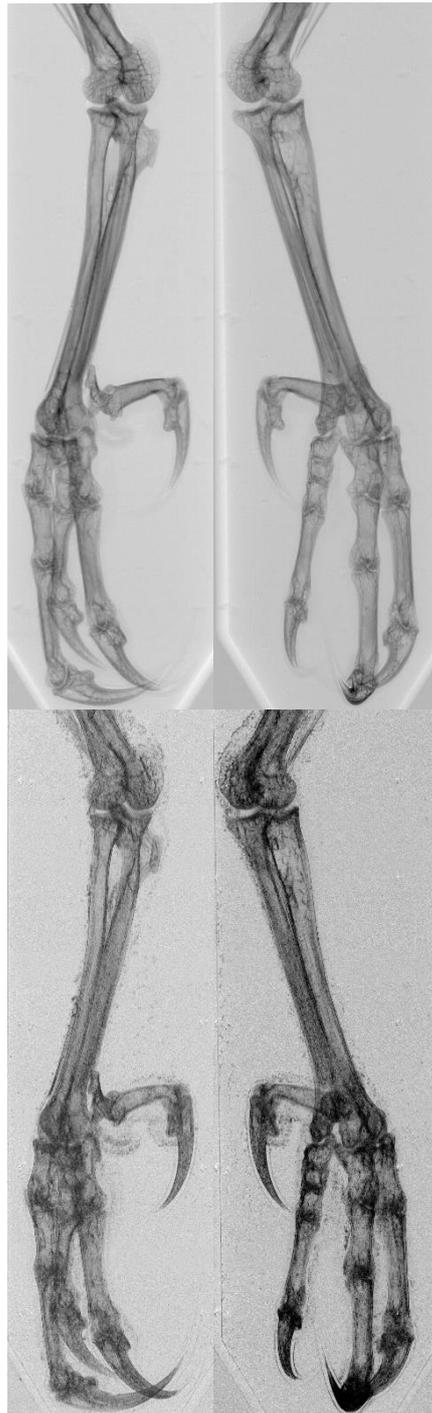
Keine Kristalle gefunden

Darkfield-Scan

Linker Ständer, Intertarsalgelenk und Zehengrundgelenke

Links Absorption, rechts Darkfield

Kein eindeutiges DF Sigl zu sehen, Bereich des Sohlenballens gibt ein Signal, In der Absorption ebenfalls Schatten zu sehen



**Abbildung 26: Fallbeispiel 17 - Taube****Fallbeispiel 17**

Tierart: Taube (58961)  
 Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: ja alternativ hrgd. Arthrose

**Vorbericht:**

Alter: adult, Alter unbekannt  
 Herkunft: Fundtier  
 Haltung: -  
 Todestag:  
 Todesursache: euthanasiert

Klinischer Vorbericht der Erkrankung: nicht vorliegend

**Durchgeführte Untersuchungen:**

Pathobefund abgekürzt:

Nicht vorliegend  
 Diagnose: Tarsometatarsalfraktur

**Arthrozentese:**

Keine Kristalle gefunden

**Darkfield-Scan**

Linker Ständer, Intertarsalgelenk und Zehengrundgelenke

Links Absorption, rechts Darkfield  
 Knöchernen Zubildungen um das Tarsalgelenk (Arthrose), DF Signal in der d/v (links) an der Aufzweigung der Zehen, dieses lässt sich in der seitlichen Aufnahme dem Sohlenballen zuordnen, der hier auch in der Absorption zu erkennen ist.

Keine Kristalle gefunden, aber eventuelle frühe Anreicherung in diesem Gewebe? Wenn es in die Seh-



**Abbildung 27: Fallbeispiel 18 - Huhn**

**Fallbeispiel 18**

Tierart: Huhn Wyandotte (58372)  
Klinischer/pathologischer Verdacht auf Gicht: ja viszeral

Vorbericht:

Alter: adult, Alter unbekannt  
Herkunft:  
Haltung: -  
Todesstag:  
Todesursache:

Klinischer Vorbericht der Erkrankung: nicht vorliegend

**Durchgeführte Untersuchungen:**

**Pathobefund abgekürzt:**

Nicht vorliegend  
Diagnose: Viszeralgicht, Leukose

Arthrozentese:

Keine Kristalle gefunden

**Darkfield-Scan**

Linker Ständer, Intertarsalgelenk und Zehengrundgelenke  
Links Absorption, rechts Darkfield  
Kein auffälliges DF Signal



### 3.1. Übersichtstabelle über die Studientiere und ihre Befunde

Tabelle 5: Übersicht über die Studientiere und ihre Befunde

Fall Nr.	Tierart und Nummer	Lat. Bezeichnung	Todesart	Diagnose	Viszeralgicht?	Kristalle in Arthrozentese	Verdachtsdiagnose Gicht?	bereits Durchgeführte Untersuchungen	DF Scan
	<b>Schuppenkriechtiere</b>	<b>Squamata</b>							
1	Wasseragame	Physignatus cocincinus	Euthanasie	hgrd. Gelenkgicht, Parasitose	nein	ja	ja	Gelenkspunktion, Röntgen	positiv
2	Bartagame	Pogona vitticeps	perakuter Exitus	Pneumonie	nein	nein	keine angegeben		negativ
3	Bartagame		Euthanasie	Gicht ausgeschlossen, Todesursache unbekannt	nein	nein	nein	keine gewünscht	negativ
4	Bartagame		Euthanasie	Legenot/veränderte Ovidukte, Parasitose	nein	nein	ja	unbekannt	negativ
5	Bartagame		Euthanasie	Gelenkgicht	ja	ja	ja	unbekannt	negativ
	Bartagame (ausgeschlossen)		Verstorben	Salmonellose, Herz Kreislaufversagen	nein	nicht untersucht	ja	Blut	
7	Leopardgecko	Eublepharis macularius	Euthanasie	Gicht	ja	ja	ja	keine gewünscht	positiv
	<b>Schildkröten</b>	<b>Testudinata</b>							
	Maurische Landschildkröte	Testudo graeca	unbekannt	keine Untersuchung					

	(ausgeschlos- sen)								
	Breitrand- schildkröte (ausgeschlos- sen)	Testudo margi- nata	unbekannt	keine Untersu- chung					
6	Rotwangen- schmuck- schildkröte	Trachemys scripta elegans	Euthanasie	Legenot, viszerale Gicht	ja	nein	ja	unbekannt	negativ
	<b>Singvögel</b>	<b>Passeriformes</b>							
8	Amsel	Turdus merula	Euthanasie	Salmonellose mit Gelenksbeteili- gung und Osteolyse	nein	nein	nein	keine	negativ
	<b>Papageien</b>	<b>Psittaciformes</b>							
9	Grünsittich	Psittacara ho- lochlorus	verstorben	Viszeralgicht	ja	ja	nein	Röntgen, Kot, Kropf, zu schwach für Blut	positiv
10	Nymphensit- tich	Nymphicus hol- landicus	Euthanasie	Gicht	ja	ja	ja	keine, da direkt in Agonie	negativ
11	Nymphensit- tich		verstorben	Anflugtrauma	nein	nein	keine an- gegeben	keine, zu schwach für Blut	negativ
12	Wellensittich	Melopsittacus undulatus	Euthanasie	Megabakteriose	nein	nein	ja	Röntgen, Kot, zu schwach für Blut	negativ
13	Wellensittich		Euthanasie	Gelenkgicht	nein	ja	ja	keine erwünscht	positiv
14	Wellensittich		Euthanasie	Megabakteriose	nein	nein	nein	Kot, Kropfaus- strich, zu schwach für Blut	negativ
	<b>Eulen</b>	<b>Strigiformes</b>							
15	Waldohreule	Asio otus	verstorben	Viszeralgicht	ja	nein	nein	Röntgen	negativ
16	Waldohreule		Euthanasie	Humerusfraktur	nein	nein	nein	Röntgen	negativ

	<b>Tauben</b>	<b>Columbiformes</b>							
17	Brieftaube	Columba livia domestica	Euthanasie	Tarsometatarsalfraktur	nein	nein	nein	Röntgen	negativ
	<b>Hühnerartige</b>	<b>Galliformes</b>							
18	Huhn Wyandotte	Gallus gallus domesticus	peraktuer Exitus	Viszeralgicht, Leukose	ja	nein	nein	keine	negativ

**Tabelle 6: Übersicht über die Befunde der Arthrozentese. Ein „+“ bedeutet, dass in diesem Gelenk Harnsäurekristalle gefunden wurden.**

	Tierart und Nummer	Intertarsalgelenk	Zehengelenk	Zehengrundgelenk	Karpus	Ellenbogen	Tarsus	Knie	Hüfte
1	Wasseragame Vordergliedmaße				+	+			
1	Wasseragame Hintergliedmaße		+	+			+	+	
5	Bartagame				+	+			
7	Leopardgecko Hintergliedmaße			+				+	+
7	Leopardgecko Vordergliedmaße				+	+			
9	Grünsittich			+					
10	Nymphensittich	+		+					
13	Wellensittich linke Hintergliedmaße	+	+	+					
13	Wellensittich rechte Hintergliedmaße			+				+	+

## 4. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Wege des Nukleinsäureabbaus.....	9
Abbildung 2: Purinbasenabbau .....	9
Abbildung 3: Schematischer Aufbau eines Gitter-Interferometers.....	26
Abbildung 4: Schematische Abbildung der sinusoidalen Intensitätskurve	27
Abbildung 5: Dunkelfeldsignal von subkutan injizierten MNU-Kristallen...	31
Abbildung 6: Beispielhafte Befunde aus der Sektion.....	32
Abbildung 7: Darstellung von drei Gelenken mit Gichttophi .....	33
Abbildung 8: Ergebnisse der Reader Studie zur Auswertung der Mäusescans. ....	85
Abbildung 9: Studienaufruf .....	86
Abbildung 10: Fallbeispiel 1 - Wasseragame .....	88
Abbildung 11: Fallbeispiel 2 - Bartagame (#57601) .....	89
Abbildung 12: Fallbeispiel 3 - Bartagame (#58090) .....	90
Abbildung 13: Fallbeispiel 4 - Bartagame (#58174) .....	91
Abbildung 14: Fallbeispiel 5 - Bartagame (#58462) .....	92
Abbildung 15: Fallbeispiel 6 - Rotwangen Schmuckschildkröte .....	93
Abbildung 16: Fallbeispiel 7 - Leopardgecko.....	94
Abbildung 17: Fallbeispiel 8 - Amsel .....	95
Abbildung 18: Fallbeispiel 9 - Grünsittich .....	96
Abbildung 19: Fallbeispiel 10 - Nymphensittich (#55688).....	97
Abbildung 20: Fallbeispiel 11 - Nymphensittich (#57187).....	98
Abbildung 21: Fallbeispiel 12 - Wellensittich (#57197) .....	99
Abbildung 22: Fallbeispiel 13a - Wellensittich (#1980), linker Ständer ...	100
Abbildung 23: Fallbeispiel 13b - Wellensittich (#1980), rechter Ständer	101
Abbildung 24: Fallbeispiel 14 - Wellensittich (#58035).....	102
Abbildung 25: Fallbeispiel 15 - Waldohreule (#57673) .....	103
Abbildung 26: Fallbeispiel 16 - Waldohreule (#58006).....	104
Abbildung 27: Fallbeispiel 17 - Taube .....	105
Abbildung 28: Fallbeispiel 18 - Huhn.....	106

## **5. Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Literaturübersicht über Allopurinolanwendungen bei Reptilien	23
Tabelle 2: Ergebnisse Reader Studie Mausmodell .....	83
Tabelle 3: Auswertung Reader Studie zur korrekten Diagnose .....	84
Tabelle 4: Auswertung Reader Studie zu Confidence Ratings .....	85
Tabelle 5. Übersicht über die Studientiere und ihre Befunde .....	107
Tabelle 6. Übersicht über die Befunde der Arthrozentese .....	110

## **X. DANKSAGUNG**

Hiermit möchte ich mich bei allen bedanken, die mich in meiner Zeit als Doktorand und bei der Anfertigung dieser Doktorarbeit unterstützt und begleitet haben und ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Zunächst möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Rüdiger Korbel, und Frau Prof. Dr. Christine Baumgartner herzlich für die Unterstützung und Betreuung während des Verfassens meiner Doktorarbeit bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Melanie Kimm, die für mich die beste Betreuerin war, die ich mir hätte wünschen können. Sie war jederzeit für mich erreichbar und stand immer mit Rat und Tat an meiner Seite.

Weiterhin möchte ich mich für die sehr gute und teamorientierte Zusammenarbeit bei Eva Braig und Josef Scholz bedanken, nachdem wir gemeinsam drei Publikationen veröffentlicht haben.

Schließlich möchte ich mich auch bei Herrn PD Dr. Sven Reese für seine Unterstützung bei der statistischen Auswertung, bei Miriam Schiller und bei Dr. Noreen Baas für ihre tatkräftige Unterstützung bei der Einarbeitung in die Pathologie und Histologie bedanken.

Zu guter Letzt gilt mein Dank meinen Freunden und meiner Familie, die mit kleineren und größeren Hilfestellungen und Gesprächen zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen haben. An dieser Stelle sei noch mein Freund, Sascha Caspar, erwähnt, der mich bei der mühseligen Arbeit der Formatierung und Bearbeitung der Grafiken großartig unterstützt hat.