

Einsatz der regenerativen Zelltherapie bei Hunden mit
austherapierter Cubarthrose

von Yvonne Friederike Bruns

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

Einsatz der regenerativen Zelltherapie bei Hunden mit
austherapierter Cubarthrose

von Yvonne Friederike Bruns, geb. Schermuck
aus Berlin

München 2025

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Chirurgie der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ. -Prof. Dr. Andrea Meyer-Lindenberg

Mitbetreuung durch:

Dr. Maike Schroers

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

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

Berichterstatterin: Univ.-Prof. Dr. Andrea Meyer-Lindenberg

Korreferentin: Priv. -Doz. Dr. Sonja Härtle

Tag der Promotion: 8. Februar 2025

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

<u>I. EINLEITUNG.....</u>	<u>1</u>
<u>II. LITERATURÜBERSICHT.....</u>	<u>2</u>
1. Osteoarthrose des Hundes	2
1.1. Definition.....	2
1.2. Epidemiologie.....	2
1.3. Ätiologie der Ellbogenarthrose.....	2
1.4. Pathophysiologie	4
1.5. Symptome.....	5
1.6. Therapie	6
1.7. Nicht-steroidale Antiphlogistika.....	6
1.8. Risikofaktoren	9
1.9. Prognose	13
2. Regenerative Zelltherapie.....	14
2.1. Eigenschaften und Funktionen von Regenerativen Zellen.....	14
2.2. Regenerative Zellprodukte in der Veterinärmedizin	16
2.3. Gewinnung von Regenerativen Zellen	16
2.4. Ursprungsgewebe	17
2.5. Kryokonservierung	18
2.6. Regenerative Zelltherapie bei Osteoarthrose.....	19
3. Untersuchungsmethoden von Osteoarthrose.....	30
3.1. Tierärztliche Orthopädische Untersuchung.....	30
3.2. Patientenbesitzerbefragung.....	31
3.3. Ganganalyse.....	32
3.4. Bildgebung.....	34
<u>III. PUBLIKATION.....</u>	<u>37</u>
<u>IV. DISKUSSION.....</u>	<u>53</u>
<u>V. ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>67</u>
<u>VI. SUMMARY</u>	<u>69</u>

VII. LITERATURVERZEICHNIS..... 71

VIII. DANKSAGUNG..... 101

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

OA	Osteoarthrose
ED	Ellbogengelenks- dysplasie
FPC	Fragmentierter Processus coronoideus
OCD	Osteochondrosis dissecans
IPA	Isolierter Processus anconeus
MCPD	Erkrankung des medialen Processus coronoideus
PROC	Processus
IL	Interleukin
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
MMP	Matrix- Metalloproteinasen
NO	Stickstoffmonoxid
ECM	Extrazelluläre Matrix
PGE2	Prostaglandin E2
EP4	Prostaglandin E- Rezeptor 4
GABA	γ -Aminobuttersäure
COL1A2	Typ-I-Kollagen-Alpha2- Kette
COL3A1	Typ-3-Kollagen- Alpha1-Kette
LUM	Lumican
TIMP2	Tissue-Inhibitor of Metalloproteinase-2
CTSD	Cathepsin
COX	Cyclooxygenase
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
MSC	Mesenchymale Stammzellen
SVF	Stromale Vaskuläre Fraktion
AD- MSC	Adipose-derived Mesenchymal Stem Cell
BM- MSC	Bone marrow-derived Mesenchymal Stem Cell
CRP	C-reaktives Protein

PRP	Platelet rich Plasma
BrdU	Bromdesoxyuridin
VI	Vertikaler Impuls
PVF	Vertikale Spitzenkraft
MHC	Haupthisto- kompatibilitätskomplex
CBPI	Canine Brief Pain Inventory
LOAD	Liverpool Osteoarthritis in Dogs Index
CSOM	Client Specific Outcome
TPLO	Tibial Plateau Leveling Osteotomy
OP	Operationem
HVAS	Hudson Visual Analogue Scale
PSS	Pain Severity Score
PIS	Pain Interference Score
CT	Computertomographie
MRT	Magnetresonanz- tomographie
NSAID	Nicht-steroidale Antiphlogistika

I. EINLEITUNG

Die Osteoarthritis (OA) ist eine degenerative Gelenkserkrankung, bei der es in Folge einer chronischen Entzündung zur Erosion und Verlust des Gelenkknorpels kommt (LOESER et al., 2012). Schätzungsweise 15 % der Hunde in Deutschland leiden unter OA (BRUNNBERG, 2014). Beim Hund entsteht die OA meist sekundär aufgrund eines Traumas oder einer Inkongruenz im Gelenk (JOHNSTON, 1997; MCLAUGHLIN, 2000). Die Ellbogengelenksdysplasie (ED) ist die häufigste Erkrankung des Ellbogengelenks des Hundes (O'NEILL et al., 2020) und die Cubarthritis kann als Folge dieser Erkrankung trotz der konventionellen Behandlungsmöglichkeiten nicht verhindert werden (BARTHELEMY et al., 2014; SEIDLER et al., 2023). Hunde mit OA leiden oft trotz medikamentöser Therapie unter einer verminderten Lebensqualität, chronischen Schmerzen und Bewegungseinschränkungen (RYCHEL, 2010; PYE et al., 2022). Die Behandlung mit NSAIDs kann hilfreich sein, aber erhebliche Nebenwirkungen haben (MONTEIRO-STEAGALL et al., 2013) und ist nicht für jeden Patienten geeignet.

Deshalb ist die regenerative Zelltherapie zunehmend in den Fokus der Osteoarthrosetherapie gerückt (WHITWORTH und BANKS, 2014; MEYER-LINDENBERG und KILCHLING, 2018). Regenerative Zellen tragen zur Heilung von Gewebe bei. Mesenchymale Stammzellen können sich in verschiedene mesodermale Zelltypen differenzieren und wirken bei Entzündungen trophisch, immunmodulatorisch und antiinflammatorisch (CAPLAN und DENNIS, 2006) (FREITAG et al., 2016).

Da es in der zugänglichen Literatur bisher keine systematischen Untersuchungen zur Therapie der fortgeschrittenen und austherapierten OA nach bereits erfolgter operativer Behandlung einer ED gibt, war das Ziel der vorliegenden Studie, den Behandlungserfolg einer intraartikulären Injektion autologer regenerativer Zellen bei Hunden mit austherapiierter Cubarthritis zu untersuchen.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Osteoarthrose des Hundes

1.1. Definition

Die OA ist eine degenerative Gelenkserkrankung, die mit einer Veränderung jeder Struktur des synovialen Gelenks einhergeht (JOHNSTON, 1997). Sie führt zu einer Degeneration des Gelenkknorpels, subchondraler Knochensklerose, Osteophytose, Synovitis und Degeneration von Menisken und Bändern (LOESER et al., 2012).

1.2. Epidemiologie

Die Prävalenz der Erkrankung liegt bei Hunden zwischen 2,5% (ANDERSON et al., 2018) und 6,6% (O'NEILL et al., 2014) in Großbritannien, wobei die Zahl der erkrankten Hunde noch deutlich höher sein kann (O'NEILL et al., 2014). Geschätzt wird sie in Nordamerika auf 20% der Hunde, die älter als 1 Jahr sind (JOHNSTON, 1997). Die Prävalenz in Deutschland wird auf ca. 15% der Hunde geschätzt (BRUNNBERG, 2014). Bei einer retrospektiven Studie, die die Epidemiologie von Ellbogengelenkserkrankungen untersucht hat, hatten 76% der vorgestellten Hunde (468 von 616 Hunden) mit Ellbogengelenkserkrankung bereits eine sekundäre Osteoarthrose ausgebildet (O'NEILL et al., 2014). Bei 31% wurde die Diagnose Ellbogengelenksdysplasie (ED) gestellt und war damit die häufigste Diagnose. 7% der Hunde wurden aufgrund einer traumatischen Ellbogengelenkserkrankung vorgestellt (O'NEILL et al., 2020).

1.3. Ätiologie der Ellbogenarthrose

Die OA wird je nach Ätiologie in primär und sekundär eingeteilt (FOSSUM, 2013). Die primäre OA tritt beim Hund äußerst selten auf und ist auf eine idiopathische, altersbedingte Ursache zurückzuführen (FOSSUM, 2013). Die sekundäre OA tritt als Folge einer Knorpelschädigung auf, die aufgrund einer Gelenkinstabilität, Fehlbelastung (Inkongruenz), eines Traumas oder anderer Erkrankungen (z.B. Infektionen) entstanden ist (FOSSUM, 2013). Die Ursache der OA großer Gelenke sind vielfältig, jedoch können entwicklungsbedingte Erkrankungen, wie Dysplasien der Hüft- und Ellbogengelenke, zu OA führen (MEESON et al., 2019). Im Folgenden werden die häufigsten Grunderkrankungen des Ellbogengelenkes des Hundes beschrieben, die zu einer sekundären Cubarthrose führen können.

Die häufigste Ellbogengelenkserkrankung des Hundes ist die Ellbogendysplasie (ED) (O'NEILL et al., 2020). Sie ist eine polygene und multifaktorielle Erkrankung, tritt meist schon bei Junghunden auf und betrifft häufig große, schwere Hunde (MICHELSEN, 2013). Sie beschreibt eine Mehrzahl an Erkrankungen, die aufgrund einer Inkongruenz im Ellbogengelenk auftreten. Diese tritt auf, wenn die Trochlea ulnae eine abnorme Form besitzt oder es zu einem unterschiedlichen Längenwachstum des Radius und der Ulna gekommen ist (SAMOY et al., 2006). Die Gelenkoberflächen liegen nicht kongruent aufeinander, sodass in der Folge lose Fragmente an verschiedenen Gelenklokationen auftreten können (SAMOY et al., 2006). Zur ED werden ein medialer fragmentierter Processus coronoideus (FPC), eine Osteochondrosis dissecans (OCD) der humeroradialen Trochlea, ein isolierter Processus anconeus (IPA) und eine Gelenksinkongruenz gezählt. Sie können einzeln oder zusammen auftreten (VAN RYSSEN und VAN BREE, 1997; FITZPATRICK et al., 2009; FITZPATRICK und YEADON, 2009; MICHELSEN, 2013). Die Erkrankung des medialen Processus coronoideus (MCPD) geht mit einem FPC einher und einer Sklerosierung und Schädigung des Knorpels des medialen Proc. coronoideus (FITZPATRICK et al., 2009; FITZPATRICK und YEADON, 2009; COPPIETERS et al., 2015). Schreitet die Erkrankung weiter voran und zeigen sich zusätzlich noch osteoarthrotische Veränderungen, spricht man vom Medialen Kompartmentsyndrom. Es ist ein entzündlicher Prozess, der mit einer voranschreitenden Knorpeldegeneration und Bildung von osteophytären Zubildungen einhergeht (FITZPATRICK und YEADON, 2009). Meist tritt die Erkrankung bei Junghunden zwischen dem 4. und 12. Lebensmonat auf. Beim älteren Hund gibt es eine höhere Wahrscheinlichkeit im Alter von 8 Jahren, dass die Diagnose ED gestellt wird (DEMKO und MCLAUGHLIN, 2005; MICHELSEN, 2013), wobei dieser zweite Alterspeak aufgrund der sekundären OA auftritt (DEMKO und MCLAUGHLIN, 2005).

Auch kongenitale Luxationen des Ellbogengelenkes sind bereits als Fallbeispiele beschrieben worden und können mit hochgradigen Lahmheiten aufgrund schwerer Ellbogengelenksdeformationen einhergehen (MILTON et al., 1979; MONTGOMERY et al., 1993; GORDON et al., 2023). Sie stellen eine weitere ursächliche Erkrankung für die Cubarthrose des Hundes dar, sind jedoch eher selten. Ebenso kann die Cubarthrose in Folge eines Traumas des Ellbogengelenkes entstehen.

1.4. Pathophysiologie

Obwohl die OA früher als eine Erkrankung des Gelenkknorpels angesehen wurde, hat die jüngste Forschung gezeigt, dass OA das gesamte Gelenk betrifft. Sie geht mit Veränderungen aller Gewebsschichten einher (PEARLE et al., 2005; GOLDRING, 2012a). Dabei führen biomechanischer Stress und zelluläre Veränderungen zu Umbauprozessen des Knorpels, des subchondralen Knochens, zur Bildung von Osteophyten und Veränderungen der Gelenkkapsel und Bänder, sowie der periartikulären Muskulatur (PEARLE et al., 2005; GOLDRING und GOLDRING, 2010; GOLDRING, 2012a). Der Gelenkknorpel besteht aus Chondrozyten, die für die Aufrechterhaltung der Extrazellulären Matrix (ECM) verantwortlich sind. In der OA kommt es zu einem Ungleichgewicht zwischen der Synthese und dem Abbau von extrazellulärer Matrix (HEIJINK et al., 2012). Dieser Prozess wird oft ausgelöst durch ein mechanisches Trauma oder eine Entzündungsreaktion, bei der verschiedene Zytokine freigesetzt werden.

In der Pathophysiologie der OA spielen die Zytokine IL-1alpha, IL-1beta, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-11, IL-13, IL-17, LIF, TNF-alpha eine besondere Rolle. Diese werden von den Gewebszellen des Gelenkes produziert, wobei die Zellen der Synovialis, der Gelenkinnenhaut, vermehrt die proinflammatorischen Zytokine freisetzen und damit in besonderer Weise die Entzündung triggern (MARTEL-PELLETIER et al., 1999). Die proinflammatorischen Zytokine IL-1 β und TNF-alpha nehmen eine Schlüsselrolle bei der Entzündungsreaktion der OA ein (SILAWAL et al., 2018). IL-1 β scheint besonders zur Zerstörung des Knorpels beizutragen, während TNF-alpha den Entzündungsprozess stark voranträgt (VAN DE LOO et al., 1995) sowie zur Degradation der ECM beiträgt (MARTEL-PELLETIER et al., 1999). Die Zytokine verstärken den Abbau des Gelenkknorpels, indem sie die Produktion von Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) anregen und die Synthese von Kollagen Typ II hemmen (STANNUS et al., 2010). Durch die ausgeschütteten Zytokine werden synoviale Makrophagen, Fibroblasten und Chondrozyten aktiviert, die wiederum MMPs, Stickstoffmonoxid (NO) und Eicosanoide freisetzen. Diese führen zu einer Degradation der ECM und zellulärer Apoptose der Chondrozyten (ABRAMSON und ATTUR, 2009). Die Chondrozyten sind nicht mehr in der Lage, die ECM zu erhalten (MUSUMECI et al., 2015). Durch die erhöhte Ausschüttung von MMPs (MMP-1, -13) wird das Kollagennetzwerk zerstört und es kommt zur Degradation von Proteoglykan und Kollagen Typ II (MARTEL-PELLETIER, 1999; ABRAMSON und ATTUR, 2009). Es wird vermutet, dass durch den Abbau der ECM und des Kollagennetzwerks vermehrt Fragmente der Matrix in die Synovia gelangen, wodurch die synoviale Entzündung verstärkt wird (MARTEL-

PELLETIER, 2004).

Die Entzündung im Gelenk und der Knorpelabbau verstärken sich gegenseitig und die Erkrankung verläuft progressiv.

Der Gelenkknorpel degeneriert und verliert zunehmend an Struktur und Funktionalität. Seine Druck- und Zugfestigkeit nehmen ab, denn der reduzierte Gehalt an Proteoglykanen führt zu einer geringeren Stoßfestigkeit des Knorpels. Die negative Auswirkung von mechanischem Stress auf das Gelenk wird erhöht (MALDONADO und NAM, 2013). Zudem konnte festgestellt werden, dass gesunder Knorpel aus Kollagen Typ II besteht, der osteoarthrotisch veränderte Knorpel vermehrt Kollagen Typ I enthält, wie er im subchondralen Knochen zu finden ist. Auch dies führt zu einer verminderten mechanischen Funktionalität des Knorpels und damit zur Fibrillation und Fissurbildung des Knorpels (SILVER et al., 2002). Die Zahl der Chondrozyten sinkt, die ECM wird abgebaut, sodass der Knorpel abflacht, bis es zu einem vollständigen Abbau und Freilegung der subchondralen Knochenplatte kommt (MAN und MOLOGHIANU, 2014). Durch die verminderte Funktionalität des Knorpels wird mehr Druck auf den subchondralen Knochen geleitet, was zu der Entstehung von subchondralen Knochenzysten und Osteophyten führt (GOLDRING, 2012b). Mikroskopisch lassen sich vermehrt Einsprossungen von Blutgefäßen und Umbauprozesse des subchondralen Knochens erkennen (BUCKWALTER et al., 2005). Es kommt zu einer Hypomineralisation, die röntgenologisch anhand einer geringeren Knochendichte nachweisbar ist (DIEPPE et al., 2005). Durch den Umbau des subchondralen Knochens ist er weniger in der Lage, Kräfte zu absorbieren, was wiederum zu erhöhten Belastungen im Gelenk führt (NEOGI, 2012).

1.5. Symptome

Hunde, die an OA erkrankt sind, leiden unter einer verminderten Lebensqualität, einer geringeren Beweglichkeit der erkrankten Gelenke und Schmerzen. Sie zeigen eine Lahmheit unterschiedlichen Grades und bewegen sich weniger als gesunde Hunde (BRUNNBERG, 2014). Der Lahmheitsgrad kann von geringgradig, intermittierend bis hochgradig, persistierend variieren. Bei der orthopädischen Untersuchung fallen Muskelatrophie, Gelenksschwellung, Krepitation und Schmerz bei Manipulation auf (JOHNSTON, 2018). Im Allgemeinen beobachten Halter von Hunden mit Ellbogengelenkerkrankungen am häufigsten eine Lahmheit (bei 76% der Hunde), Schwierigkeiten bei Bewegungen (20% der Hunde) und Schmerzen (14% der Hunde) (O'NEILL et al., 2020). Während Tierärzte Schmerzen (bei 46% der Hunde), Lahmheit (bei 45% der Hunde), reduzierten Bewegungsumfang des Gelenks (bei 40% der Hunde), Krepitus (bei 26% der Hunde) und

Entzündungen oder erhöhte Gelenksfüllung (bei 22% der Hunde) an den Hunden feststellen (O'NEILL et al., 2020). Der Bewegungsumfang eines gesunden Ellbogengelenkes des Hundes beträgt im gestreckten Gelenk 165° und am gebeugten Gelenk 40-50°, bei erkrankten Hunden sind die Bewegungsumfänge reduziert (FOSSUM, 2013). Mögliche Gelenksschwellungen sind am Ellbogengelenk zwischen dem lateralen Kondylus und dem Olekranon und über dem medialen Proc. coronoideus palpierbar (FOSSUM, 2013).

1.6. Therapie

Die Behandlung von Osteoarthritis ist abhängig vom Grad der Erkrankung, der Stärke der Knorpelläsionen, der Anzahl der veränderten Gelenke und dem Alter des Patienten (MICHELSEN, 2013). Eine frühe Diagnose und Behandlung verbessert die Prognose (FOSSUM, 2013). Trotz Behandlung der ED, unabhängig ob konservativ oder chirurgisch, kann eine OA des Gelenkes nicht verhindert werden (BARTHELEMY et al., 2014). Gleichzeitig hat die Cubarthrose eine hohe Auswirkung auf die Lebensqualität und führt nicht selten zur Euthanasie (O'NEILL et al., 2020). Im Folgenden werden die pharmazeutischen Therapieoptionen für Hunde mit OA besprochen. Keine dieser Therapien ermöglicht eine Regeneration der Gelenke. Bisher stellt die medikamentelle Behandlung von OA eine rein analgetische und antiinflammatorische Therapie dar, die die Progression der OA nur verzögert (PYE et al., 2022).

1.7. Nicht-steroidale Antiphlogistika

Nicht-steroidale Antiphlogistika (engl. Non-steroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs)), sind seit vielen Jahren eine schmerzlindernde Behandlungsmöglichkeit bei OA. Durch Hemmung von Cyclooxygenasen (COX) greifen sie in den Prostaglandinstoffwechsel ein und führen so zu einer Schmerzlinderung, Entzündungshemmung und Fiebersenkung in unterschiedlicher Stärke (LASCELLES et al., 2005). In der Orthopädie haben sich zur Behandlung des Hundes Meloxicam, Carprofen und Firocoxib etabliert (PYE et al., 2022) und ihre Wirkungen sind gut mit Studien belegt (MONTEIRO-STEAGALL et al., 2013). Durch die Verabreichung von 2,2 mg/kg Carprofen 2x täglich verbesserte sich der Vertikale Impuls (VI) und die vertikale Spitzenkraft (engl. Peak Vertical Force (PVF)), sowie die Ergebnisse des Besitzerfragebogens Canine Brief Pain Inventory (CBPI) bei Hunden mit OA in Ellbogen- und Kniegelenken signifikant (BUDSBERG et al., 2018). Malek et al. (2012) konnten hingegen keine signifikanten Verbesserungen der Bodenreaktionskräfte nach Carprofengabe messen, einzig die Patientenbesitzerbefragung zeigte eine signifikante Verbesserung der Hunde (MALEK et al., 2012). Die Langzeitgabe (>28 Tage) von NSAIDs wird für die

Behandlung von OA zur Linderung der Schmerzen empfohlen und hat eine größere Wirkung als die Kurzzeitgabe (INNES et al., 2010). Häufige Nebenwirkungen sind jedoch Erbrechen, Durchfall und Appetitlosigkeit, selten gastrointestinale Ulzerationen (MONTEIRO-STEAGALL et al., 2013). Nierenfunktionsstörungen sind die zweit häufigste Nebenwirkung bei NSAIDs, die dem Federal Drug Administration Center for Veterinary Medicine gemeldet werden (LOMAS und GRAUER, 2015). Das Wissen über Nebenwirkungen von NSAIDs ist unter Tierärzt:innen als auch unter Patientenbesitzer:innen weit verbreitet und führt zu einer gewissen Vorsicht, NSAIDs langfristig zu geben. Dies könnte laut Belshaw et al. (2016) zu einer nicht adäquaten Analgesie der Hunde mit OA führen (BELSHAW et al., 2016b).

1.7.1. Piprante

Grapiprant ist ein nicht steroidaler, nicht COX spezifischer, entzündungshemmender Wirkstoff der Piprantklasse. Er ist ein Prostaglandin-E-Rezeptor- Antagonist (EP4) und hemmt die Bindung von Prostaglandin-E2 (PGE 2). Hierdurch wird die PGE-2 vermittelte Schmerz- und Entzündungsreaktion im Körper blockiert, ohne in die Synthese des Prostaglandinstoffwechsels einzugreifen (LIN et al., 2006). In Kurzzeitstudien haben NSAIDs (Firocoxib und Carprofen) jedoch eine stärkere analgetische Wirkung bei Hunden mit OA gezeigt als Grapiprant (BUDSBERG et al., 2019; DE SALAZAR ALCALA et al., 2019). In einer klinischen Studie, in der die Wirkung der Langzeitgabe über 28 Tage bei Hunden mit OA untersucht wurde, stellten die Autoren anhand des CBPIs eine signifikante Verbesserung nach 28 Tagen fest (RAUSCH-DERRA et al., 2016). Es sollten weitere, klinische Studien folgen, um die analgetische Wirkung der Langzeitgabe von Grapiprant zu untersuchen. Die aktuelle Studienlage zeigt jedoch, dass Grapiprant besser als eine Placebogabe ist, jedoch eine geringere analgetische Wirkung als NSAIDs hat (SARTINI und GIORGI, 2021). Häufige Nebenwirkungen sind laut Hersteller Erbrechen, weich geformter Kot, Diarrhoe, Lethargie und Inappetenz. Sehr seltene treten Hämatemesis und hämorrhagische Diarrhoe, sowie erhöhte Blutkonzentrationen der Leberenzyme, des Harnstoff-Stickstoffs (BUN) und des Kreatinins auf (Galliprant, Elanco US Inc., Greenfield, USA). Die analgetische Wirkung der Langzeitgabe von Grapiprant bei Hunden mit OA ist bisher nicht genug untersucht und klinische Studien sollten folgen (PYE et al., 2022).

1.7.2. Monoklonaler Antikörper gegen den Nervenwachstumsfaktor

Bedinvetmab (Librela, Zoetis, Louvain-La-Neuve, Belgien) hemmt die NGF-gesteuerte Zellsignalisierung des Schmerzes bei OA. Der Wirkstoff ist als Injektionslösung ausschließlich für den Hund gegen osteoarthrosebedingte Schmerzen zugelassen. Eine Studie

aus der Humanmedizin stellte eine schnelle Progression der OA fest, wenn Tanezumab (ein Wirkstoff der gleichen Klasse) und ein NSAID in Kombination zur analgetischen Behandlung gegeben werden (HEFTI, 2020). Die Langzeitwirkung der Behandlung von Bedivetmab in Kombination mit einem NSAID wurde bei Hunden mit OA noch nicht ausreichend untersucht (PYE et al., 2022). Die Wirkung kann durch die Bildung von Antikörper gegen den Wirkstoff reduziert werden. Als Nebenwirkungen werden vom Hersteller ausschließlich lokale Reaktionen an der Einstichstelle und sehr selten anaphylaktoide Reaktionen angegeben (Librela, Zoetis, Louvain-La-Neuve, Belgien).

1.7.3. Opiode

Tramadol ist ein μ -Opioidrezeptoragonist und verhindert die Wiederaufnahme von Serotonin und Noradrenalin aus dem synaptischen Spalt. Hierdurch wirkt es schmerzlindernd und hat eine ähnlich stimmungsaufhellende und beruhigende Wirkung wie Serotoninwiederaufnahmehemmer und $\alpha 2$ -Agonisten. Einzelne Hunde können Tramadol nicht in den aktiven Metaboliten metabolisieren (KUKANICH und PAPICH, 2004) und dieser ist in sehr unterschiedlichen Plasmakonzentrationen bei Hunden nachweisbar (GIORGI et al., 2009). Deshalb ist die Wirkstärke von Tramadol beim Hund individuell.

Zudem deuten Studien darauf hin, dass die analgetische Wirkung gemessen an der ganganalytischen Untersuchung bei Hunden mit OA nicht ausreichend ist (MALEK et al., 2012; BUDSBERG et al., 2018). Die Kombination von Tramadol mit einem NSAID ist vielversprechend für eine Analgesie bei Hunden mit OA (MONTEIRO et al., 2019). Tramadol hat sich als Analgetikum zur Behandlung der OA des Hundes etabliert. Laut einer retrospektiven Studie aus Großbritannien bekamen die Mehrzahl der Hunde mit Schmerzen aufgrund von Ellbogengelenkserkrankungen ein NSAID verschrieben (88% der Hunde), das zweithäufigste Analgetikum war Tramadol, das 20% der Hunde verschrieben bekamen (O'NEILL et al., 2020). Nebenwirkungen von Tramadol beim Hund sind Übelkeit, Erbrechen, Konstipation, Sedation oder zentralnervöse Stimulation und es kann zum sogenannten Serotonin-Syndrom führen (DOMINGUEZ-OLIVA et al., 2021).

Gabapentin und Pregabalin sind ein Analogon des ZNS-Neurotransmitters γ -Aminobuttersäure (GABA) und werden zur Behandlung von neuropathischen Schmerzen eingesetzt. Der Wirkmechanismus ist noch nicht vollständig geklärt. Pregabalin hat beim Hund eine höhere orale Bioverfügbarkeit als Gabapentin (SALAZAR et al., 2009). Nebenwirkung von Gabapentin können episodische Ataxie und Sedation sein. Weitere Nebenwirkungen sind für den Hund nicht bekannt (DI CESARE et al., 2023).

Zum aktuellen Zeitpunkt fehlen Studien zur analgetischen Wirkung von Gabapentin und Pregabalin bei Hunden mit Osteoarthritis. Generell ist die analgetische Wirkung beim Hund von beiden Wirkstoffen noch nicht ausreichend untersucht (MOORE, 2016; PYE et al., 2022).

1.7.4. Kortikosteroide

Kortikosteroide sind chemisch vergleichbare synthetische Steroidhormone und werden in der Osteoarthritisbehandlung aufgrund ihrer immunsuppressiven Wirkung eingesetzt (JOHNSTON und BUDSBERG, 1997). Die Studienlage zur Anwendung von Kortikosteroiden ist bei Mensch und Kleintier nicht eindeutig.

Franklin et al. (2013) untersuchten die Wirkung von Hyaluron und Methylprednisolon beim Hund mit OA und konnten mittels einer Besitzerbefragung eine Verbesserung der Lahmheit, Bewegungsfreude und Schmerzhaftigkeit messen (FRANKLIN und COOK, 2013).

In-vitro Studien wiesen jedoch einen zytotoxischen Effekt auf Chondrozyten nach (WERNECKE et al., 2015). In einer humanmedizinischen Studie mit 140 Teilnehmern mit Kniearthrose wurde nach einer intraartikulären Injektion von Triamcinolon eine deutliche Reduzierung des Knorpels im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt (MCALINDON et al., 2017). Zudem gibt es Hinweise darauf, dass die Progression der OA durch eine intraartikuläre Injektion beschleunigt wird (ZENG et al., 2019). Beim Tier ist die Wirkung von Kortikosteroiden auf den Knorpel noch nicht hinreichend untersucht (VANDEWEERD et al., 2015).

1.8. Risikofaktoren

In der Humanmedizin sind unlängst Risikofaktoren für das Auftreten der OA beschrieben worden. Dazu gehören Übergewicht, Fehlernährung, Fehlbelastungen, genetische Faktoren, Geschlecht und Menopause sowie vorangegangene Traumatisierungen eines Gelenkes (LOESER, 2009). Im Folgenden werden die genannten Risikofaktoren für den Hund diskutiert.

Ein Risikofaktor für die Ausbildung einer OA beim Hund ist dessen Alter. In einer retrospektiven Studie wurde für Hunde, die älter als 9 Jahre alt sind, eine 2,56-fach höhere Wahrscheinlichkeit gemessen, unter Ellbogengelenkserkrankungen zu leiden im Vergleich zu Hunden unter 3 Jahren (O'NEILL et al., 2020). Andererseits ist die Ausbildung einer sekundären OA abhängig von der Grunderkrankung und tritt daher teilweise schon bei Junghunden auf. Daher werden in der Literatur unterschiedliche Altersprävalenzen angegeben (ANDERSON et al., 2020). Histobiologisch wurden jedoch einige Beweise für die erhöhte

Prävalenz im Alter gefunden. Die Funktion der Chondrozyten, sowie deren Proliferationsfähigkeit und die Synthese einiger Proteoglykane nehmen mit dem Alter ab. Da die Chondrozyten zunehmend weniger auf anabole Faktoren, wie Wachstumsfaktoren reagieren, nimmt ihre Fähigkeit, das Knorpelgewebe zu erhalten ab. Hierdurch degeneriert der Gelenksknorpel zunehmend (BUCKWALTER et al., 2005). Altersbedingt verliert Knorpel an Regenerationsfähigkeit und Funktionalität. Eine Studie zeigte, dass die Anzahl an Chondrozyten bei alternden Ratten um 50% zurückging. Gleichzeitig konnte ein erhöhter intrazellulärer Gehalt an reaktiver Sauerstoffspezies (ROS), die knorpelschädigend wirken, festgestellt werden (JALLALI et al., 2005).

Ein weiterer Risikofaktor könnte das Geschlecht des Hundes sein. Beim Menschen ist eine höhere Prädisposition bei Frauen nachgewiesen worden (LEE et al., 2015). Beim Hund gibt es eine deutliche Geschlechtsprädisposition für Ellenbogengelenkserkrankungen. Rüden haben ein 1,47-fach höheres Risiko zu erkranken als Hündinnen. Gleichzeitig erkranken intakte Hunde seltener als kastrierte. Diese haben ein 1,69-fach höheres Risiko (O'NEILL et al., 2020). Ob das Geschlecht ein Risikofaktor für OA darstellt, ist beim Hund jedoch noch nicht vollständig untersucht (ANDERSON et al., 2020).

Beim Menschen konnte bereits eine genetische Veranlagung nachgewiesen werden. Es wurden über 80 Genmutationen gefunden, die bei der Pathogenese der OA eine Rolle spielen (RYDER et al., 2008). Ebenso wurden bereits Gen-Loci bei Hunden identifiziert, die signifikant mit der Ausbildung einer ED assoziiert sind (HAYWARD et al., 2016). Bei Hunden mit einem FPC konnte eine höhere Expression der Gene für Typ-I-Kollagen-Alpha2-Kette (COL1A2), Typ-III-Kollagen-Alpha1-Kette (COL3A1), Lumican (LUM), Matrix-Metalloproteinase-2 (MMP2), -9 (MMP9) und -13 (MMP13) im OA-Knorpel im Vergleich zu normalem Knorpel nicht erkrankter Hunde gemessen werden (CLEMENTS et al., 2009). Gleichzeitig wurde eine verringerte Expression der Gene für den gewebe-assoziierten Inhibitor von Metalloproteinase-2 (engl. Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2, TIMP2) und Cathepsin D (CTSD) gemessen (CLEMENTS et al., 2009). Diese unterschiedlichen Gen-Expressionen im Knorpel von an FPC erkrankten Hunden korrelierten mit radiologischen Messungen des OA-Grades (CLEMENTS et al., 2009).

Desweiteren gibt es Rasseprädispositionen bei Hunden für die Ausbildung von Ellenbogengelenkserkrankungen, in deren Folge sich Cubarthrose entwickelt. In einer retrospektiven Untersuchung von Hunden in den UK hatten Rottweiler, Labrador Retriever, Deutscher Schäferhund und Golden Retriever ein höheres Risiko, an Ellenbogengelenkserkrankungen zu erkranken, als andere Rassen. Gleichzeitig konnte diese

Studie ein geringes Risiko für Jack Russel Terrier und West Highland White Terrier messen (O'NEILL et al., 2020). Für die ED wurde eine hohe Prävalenz bei Rottweilern, Deutschen Schäferhunden, Berner Sennenhunden und Labradorretrievern berichtet (JANUTTA et al., 2006; MALM et al., 2008; WOOLLIAMS et al., 2011).

Ein Hinweis, dass diese erhöhte Prädisposition der genannten Rassen nicht nur aufgrund der Größe und des Gewichts dieser Rassen auftritt, gibt eine Studie aus Belgien. Dort wurde seit 1983 eine Voruntersuchung auf ED (nach Guidelines der International Elbow Working Group, IEWG) in den großen Zuchtvereinen vorgeschrieben. In dem Zeitraum bis 2019 führte das Screening auf ED zu einer deutlichen Reduzierung des ED-Grades und geringeren Prävalenz innerhalb der Rassen (JAMES et al., 2019). Eine genetische Selektion nach Gelenksgesundheit bei Rassen mit hohen Prävalenzen ist daher sinnvoll. Gleichzeitig scheint die Selektion innerhalb einer Rasse bezogen auf einen bestimmten Körperbau des Tieres ebenfalls einen Einfluss auf die Prävalenz innerhalb einer Rasse zu haben (OBERBAUER et al., 2017). Körper- und Beinlänge sowie bestimmte Gelenkwinkel haben einen deutlichen Einfluss auf die Gesundheit der Gelenke und führen zu höheren Rasseprädispositionen für verschiedene Gelenkerkrankungen (ASHER et al., 2009).

Ebenso haben Hunde, die schwerer als andere Vertreter ihrer Rasse sind, ein höheres Risiko unter Ellbogengelenkerkrankungen zu leiden (O'NEILL et al., 2020). Dabei ist auch das Gewicht bezogen auf die Körpergröße entscheidend. In einer Studie mit Labradorretrievern hatten die Individuen, die ein hohes Gewicht in Bezug auf ihre Körpergröße hatten, ein höheres Risiko an Cubarthrose zu erkranken verglichen zu den leichten Individuen (SALLANDER et al., 2006). Übergewicht verändert die Biomechanik des Gangbildes von betroffenen Hunden. Hunde mit Übergewicht wählen auf dem Laufband ein geringeres Tempo, zeigen größere Schritte mit höheren Bewegungsumfängen und haben höhere Bodenreaktionskräfte verglichen mit normalgewichtigen Hunden (BRADY et al., 2013). Eine veränderte Biomechanik führt zu einer Veränderung der tragenden Bereiche des Gelenkknorpels und wird daher als eine mögliche Ursache für OA der gewichtstragenden Gelenke des Hundes angesehen (BRADY et al., 2013). Eine hohe Stoßbelastung auf Gelenke führt zu subchondralen Umbauprozessen und der Knorpel wird geschädigt (RADIN et al., 1984). Das Kollagen-Fibrillen-Netzwerk wird durch eine große Kompression geschädigt (LOENING et al., 2000). In Folge sinkt der Anteil der Proteoglykane und Chondrozyten reagieren auf den mechanischen Stress mit einer Freisetzung von pro-inflammatorischen Mediatoren, wie NO und PGE2 sowie MMPs (LEE et al., 2003b; LEE et al., 2003a). Der Knorpel reagiert auf chronischen mechanischen Stress (durch Übergewicht oder eine

Gelenksinkongruenz), mit einer Entzündungsreaktion ähnlich wie im frühen Stadium der OA.

In der humanmedizinischen Forschung wurde jedoch nachgewiesen, dass die höhere Prävalenz bei Übergewicht nicht nur mit dem mechanischen Stress auf die Gelenke erklärt werden kann. Denn auch Gelenke, die bei Übergewicht kein höheres Gewicht tragen müssen (z.B. Fingergelenke), bilden bei Übergewicht mit einer höheren Wahrscheinlichkeit OA aus (FELSON und CHAISSON, 1997). In einer Studie wurde nachgewiesen, dass bei übergewichtigen Frauen das Risiko um 50% sank, an OA zu erkranken, wenn sie 5kg abnahmen (FELSON et al., 1992). Übergewicht ist als eine chronische Erkrankung zu sehen, die mit einer geringgradigen systemischen Entzündung einhergeht (MONTEIRO und AZEVEDO, 2010). Eine systemische Entzündung hat einen großen negativen Einfluss auf den Knorpel (VISSER et al., 1999).

Fettgewebe schüttet u.a. proinflammatorische Chemokine wie IL-1 und -6, TNF-alpha, und Adipokine wie Leptin und Adiponektin aus. Diese sind bei Übergewicht in erhöhter Konzentration im Serum messbar (WANG und HE, 2018). Die erhöhte Konzentration der proinflammatorischen Zytokine scheinen den Entzündungsprozess bei der OA voranzutreiben. Die genaue Pathogenese konnte jedoch bisher nicht geklärt werden (GUILAK, 2011). Weitere Erkrankungen können mit Adipositas einhergehen und als "metabolisches Syndrom" bezeichnet.

Bei adulten Hunden wirken sich eine hohe Fettaufnahme und hohe Fettanteile in der Nahrung negativ auf die Gesundheit der Gelenke aus (SALLANDER et al., 2006). In einer Studie wurden die Auswirkungen einer lebenslangen restriktiven Diät auf die Gesundheit von 48 Labradorretrievern untersucht. Sie wurden in zwei Gruppen eingeteilt. Beide Gruppen erhielten lebenslang das gleiche Trockenfutter. Gruppe A erhielt jedoch eine restriktive Diät, dass heißt 25% weniger Nahrung als Gruppe B. Die Hunde, die eine restriktive Diät erhielten, lebten im Schnitt 1,8 Jahre länger und erkrankten wesentlich später an OA. Die restriktive Diät führte zudem nicht zu negativen Auswirkungen auf das Skelettsystem (HUCK et al., 2009). Eine erhöhte Futtermittelzufuhr und ein damit verbundenes zu schnelles Wachstum sind Risikofaktoren für die Ausbildung von OA bei Hunden (RICHARDSON et al., 1997). Um das Risiko für die Ausprägung einer OA bei Hunden zu senken, ist es daher sinnvoll auf eine kontrollierte Nahrungszufuhr zu achten.

Als ein weiterer Risikofaktor sind sportliche Aktivitäten zu nennen, die mit vielen schnellen Bewegungen und Sprüngen einhergehen. Hunde, die regelmäßig eine Ballsportart spielen oder besonders bewegungsintensiv gehalten werden, haben ein höheres Risiko, OA auszubilden

(SALLANDER et al., 2006). Insbesondere Junghunde sind für eine Überanspruchung der Gelenke prädisponiert (SALLANDER et al., 2006; WITSBERGER et al., 2008; KRONTVEIT et al., 2012). Bei Hunden, die in sommerlichen Monaten geboren und aufgezogen wurden, konnte eine höhere Prävalenz für OA gemessen werden, als bei Hunden, die in kalten Monaten geboren wurden (WOOD und LAKHANI, 2003). Dies hängt, laut den Autoren der Studie, mit einem höheren Bewegungsumfang in warmen als in kalten Monaten während der Aufzucht zusammen.

1.9. Prognose

Die meisten Patienten mit OA haben einen progressiv verschlechternden Krankheitsverlauf, jedoch ist dies sehr individuell und kann auch mit Phasen einer Remission und Krankheitsschüben einhergehen (JOHNSTON, 2018).

Langzeituntersuchungen bei Hunden mit Cubarthrose fassten in ihre Studie vor allem Hunde mit ED ein. Dies ist sicherlich durch die hohen Fallzahlen begründet, da ED die häufigste Ellbogenerkrankung des Hundes darstellt (O'NEILL et al., 2020).

Es scheint keine Korrelation des ED-Grades mit der vermeintlichen Lebensqualität der Hunde zu geben, beurteilt durch die Besitzer (BERGSTROM et al., 2020). Die Studienlage ist jedoch nicht eindeutig, ob ein höherer ED-Grad zu einer schlechteren Prognose hinsichtlich Lebensqualität und der Ausprägung einer Lahmheit führt.

In einer Langzeitstudie wurde kein Zusammenhang zwischen dem ED-Grad und der symptomatischen Verschlechterung von Hunden mit Cubarthrose während des Studienzeitraumes von 3 Jahren festgestellt (OBEL et al., 2023). Andererseits haben Bergstrom et al. (2020) gemessen, dass Hunde mit einem milden bis moderaten ED-Grad prognostisch ein höheres Risiko haben, mit NSAIDs behandelt werden zu müssen, als Hunde ohne ED (BERGSTROM et al., 2020; OBEL et al., 2023). Hunde mit ED2 haben ein höheres Risiko, eine Lahmheit zu entwickeln, die sich negativ auf die Lebensqualität auswirkt im Vergleich zu Hunden mit ED0 (BERGSTROM et al., 2020).

In einer retrospektiven Studie zeigten alle Hunde eine Progression der Cubarthrose und eine progressive Schädigung des Knorpels, die nach einer Arthroskopie aufgrund eines FPC wegen einer Lahmheit der Vordergliedmaße wieder vorstellig wurden (COPPIETERS et al., 2016).

2. Regenerative Zelltherapie

Im Bereich der Osteoarthroseforschung ist die regenerative Zelltherapie schon vor vielen Jahren in den Fokus der Wissenschaft gerückt. Sie ist ein noch eher junges Forschungsfeld, das sich mit der Heilung verschiedener Erkrankungen mit Hilfe von körpereigenen Reparatursprozessen beschäftigt.

Hierzu kann die körpereigene Regeneration durch Wachstumsfaktoren angeregt werden oder krankes Gewebe kann durch eine Transplantation von gezüchtetem Gewebe oder regenerativen Zellen ersetzt werden. In der Literatur zur Osteoarthroseforschung mit regenerativen Zellen werden häufig mesenchymale Stammzellen (MSC) beschrieben. Einige Autoren nennen die aus dem Fettgewebe gewonnen regenerativen Zellen auch die "stromale vaskuläre Fraktion" (SVF). Die SVF bezeichnet einen Verbund an Zellen, der reich an Stammzellen ist, die aus dem Fettgewebe stammen (engl. adipose-derived mesenchymal cells (AD-MSC)). Weitere Zellen, die in der SVF enthalten sind, sind Immunzellen, Fibroblasten, Perizyten und Endothelzellen (BOURIN et al., 2013). Im Folgenden werden daher die Bezeichnungen (MSC oder SVF) übernommen, die in den zitierten Studien genutzt wurden, um deren Ergebnisse vorzustellen.

2.1. Eigenschaften und Funktionen von Regenerativen Zellen

Entdeckt wurden MSC von Alexander Friedenstein im Jahre 1966. Er entnahm Zellen aus dem Knochenmark von Mäusen und Meerschweinchen, die sich in Osteozyten differenzieren und von einer Zelle ausgehend, Kolonien bilden konnten. Daher nannte er sie damals "colony-forming units fibroblastic" (CFU-F) (FRIEDENSTEIN et al., 1966; FRIEDENSTEIN et al., 1970). Arnold Caplan beschrieb sie 1991 das erste Mal als "mesenchymal stem cells", da sie sich in alle mesoderme Zellen differenzieren können (CAPLAN, 1991). MSC können sich in vitro in verschiedene Zellarten, adipogene, chondrogene und osteogene Zellen differenzieren (CSAKI et al., 2007; KISIEL et al., 2012). Sie verbleiben in adultem Gewebe, um dieses bei zellulärer Apoptose oder nach Schädigung zu ersetzen (DA SILVA MEIRELLES et al., 2006).

Sie können beim Hund unter anderem aus dem Fettgewebe (NEUPANE et al., 2008), dem Knochenmark (TAKEMITSU et al., 2012), dem Muskelgewebe (KISIEL et al., 2012), dem Periost (KISIEL et al., 2012) und aus der Synovia (ZHANG et al., 2013) isoliert werden. Im Gewebe können sie oft im Verbund mit Perizyten nachgewiesen werden (DOHERTY et al., 1998; DA SILVA MEIRELLES et al., 2006).

Charakteristische Merkmale für MSC sind: Fibroblasten-ähnliches Aussehen, multipotente Differenzierung, Proliferationsvermögen und Plastik-Adhärenz (DA SILVA MEIRELLES et al., 2006; KERN et al., 2006). Die Oberflächenmarker von MSC variieren von Spezies zu Spezies und müssen daher für jede Spezies eigenständig definiert werden (ROZEMULLER et al., 2010). Verschiedene Oberflächenmarker wurden bestimmt, um canine MSC zu definieren. Die Oberflächenmarker CD29, CD44 und CD90 müssen vorhanden sein, während typisch haematopoetischen Oberflächenmarker, CD34 und CD45, nicht vorhanden oder nur eine sehr geringe Expression haben dürfen (KANG et al., 2012; SCREVEN et al., 2014). Für die Forschung sind die MSC nicht nur aufgrund ihres Proliferationsvermögens interessant, sondern weil sie zur Regeneration von Gewebe beitragen (GHANNAM et al., 2010), da sie immunmodulatorisch (NIEMEYER et al., 2010; ANDERSON et al., 2013) und angiogenese-fördernd (LASCHKE et al., 2006; WU et al., 2007) im entzündeten Gewebe wirken.

Hierfür sezernieren sie hormonähnliche Substanzen, die eine direkte parakrine Wirkung besitzen. Kommen MSC mit proinflammatorischen Molekülen, wie Interleukin-1, TNF-alpha und Interferon-gamma in Kontakt, schütten sie Wachstumsfaktoren und antiinflammatorische Zytokine (AGGARWAL und PITTENGER, 2005; UCCELLI et al., 2008) sowie antifibrotische und angiogenese-fördernde Mediatoren (GHANNAM et al., 2010) aus. Zudem besitzen MSC eine direkte Wirkung auf Immunzellen. Sie beeinflussen T-Zellen (WATERMAN et al., 2010), können die B-Zell-Proliferation und -Aktivität hemmen (SAKA et al., 2011) und haben einen Einfluss auf die Phänotypisierung von Makrophagen (KIM und HEMATTI, 2009). Tritt eine Entzündung im Körper auf, können sie zum Ort der Entzündung wandern (CHEN et al., 2003; WEISS und TROYER, 2006). Hierzu haben sie verschiedene Rezeptoren auf ihrer Oberfläche, die mit verschiedenen proinflammatorischen Chemokinen, wie sie bei Ischaemien, Tumoren und Entzündungsprozessen ausgeschüttet werden, interagieren (KARP und LENG TEO, 2009; WAGNER et al., 2009). Sie haben zudem eine bakterizide Wirkung, da sie antimikrobielle Peptide sezernieren können (NIJNIK und HANCOCK, 2009; KRASNODEMBSKAYA et al., 2010).

Aufgrund ihrer immunmodulatorischen und antimikrobiellen Wirkung werden sie daher als potentielle Therapie bei antibiotikaresistenten bakteriellen Infektionen diskutiert (BICER und FIDAN, 2023). Eine Studie, die die immunmodulatorischen Fähigkeiten von aus dem Fettgewebe stammenden MSC (engl. adipose-derived MSC (AD-MSC)), aus dem Knochengewebe stammenden MSC (englisch bone-marrow derived MSC (BM-MSC)) und pluripotenten Stammzellen des Hundes untersucht hat, konnte nachweisen, dass MSC des Hundes sowohl Rezeptoren exprimieren, die wichtig sind, um zum Entzündungsort zu

wandern, als auch entzündungshemmende und immunmodulatorische Faktoren ausschütten.

Die Autoren schlussfolgerten daraus, dass auch die MSC des Hundes einen potentiellen Nutzen in der autologen Behandlung von entzündlichen Erkrankungen haben (SHAHSVARI et al., 2021).

2.2. Regenerative Zellprodukte in der Veterinärmedizin

Zur Behandlung mit regenerativen Zellen werden sowohl autologe (der Patient erhält die eigenen MSC), als auch allogene (MSC eines Spenders der gleichen Tierart) und xenogene (MSC eines Spenders einer anderen Tierart) Produkte genutzt. Dabei können sowohl inhomogene Zellfraktionen genutzt werden, die neben MSC auch Gewebszellen, Leukozyten, Endothelzellen und Fibroblasten enthalten. In der Literatur werden diese als "stromale vaskuläre Fraktion" bezeichnet (DYKSTRA et al., 2020; HURD et al., 2020). Durch Anzüchtung und Kultivierung ist es möglich, homogenere Zellkulturen aus MSC zu erhalten und diese zu kryokonservieren (DI BELLA et al., 2021).

2.3. Gewinnung von Regenerativen Zellen

In klinischen Studien bei Hunden OA werden häufig Zellfraktionen genutzt, die aus Knochenmark oder Fettgewebe gewonnen wurden (BRONDEEL et al., 2021).

Zur Gewinnung der regenerativen Zellen aus dem Fettgewebe werden Zellen aus dem subkutanen (aus dem thorakalen, inguinalen, abdominalen subkutanen Fettgewebe) oder aus viszeralem Fettgewebe (aus dem omentalen, falciformen, periovarialen Fettgewebe) gewonnen (BLACK et al., 2007; BLACK et al., 2008; GUERCIO et al., 2012; BAHAMONDES et al., 2017; KRISTON-PAL et al., 2017; SHAH et al., 2018). Der am wenigsten invasive Eingriff ist die Entnahme regenerativer Zellen aus dem subkutanen Fettgewebe. Die Menge an subkutanem Fettgewebe, die gewonnen werden kann, ist jedoch abhängig vom Körpermaßindex des Hundes, sodass teils weiteres viszerales Fettgewebe entnommen werden muss, um genügend Material für die Gewinnung der regenerativen Zellen zur Verfügung zu haben (IVANOVSKA et al., 2022). Nach der Gewinnung werden die regenerativen Zellen mit Hilfe von Enzymen aus dem Fettgewebe isoliert. Die anschließenden Aufbereitungsverfahren können sehr unterschiedlich sein. Durch die Aufbereitung wird eine heterogene Zellpopulation gewonnen, die stromale vaskuläre Fraktion, die aus endothelialen Zellen, Lymphozyten, Fibroblasten, Monozyten, Makrophagen und Erythrozyten besteht (DYKSTRA et al., 2020).

Die Gewinnung von regenerativen Zellen aus dem Knochenmark (sog. B-MSK) stellt einen technisch anspruchsvollen Eingriff für den Tierarzt dar. Die Aspirate werden häufig aus dem Beckenkamm (Crista iliaca), dem proximalen Humerus oder der proximalen Tibia entnommen (TAKEMITSU et al., 2012; KAZEMI et al., 2017). Der Eingriff bürgt Risiken, wie Blutungen, Sepsis, Schmerzen und Infektionen (RIBITSCH et al., 2010). Das Aspirat wird im Anschluss an den Eingriff zentrifugiert, sodass eine heterogene Zellpopulation entsteht, die unter anderem aus hämatopoetische Vorläuferzellen und MSC besteht (PITTENGER et al., 1999; PIERINI et al., 2012).

MSC können zudem aus der Nabelschnur gewonnen werden. Sie haben eine hohe Proliferationsrate (KERN et al., 2006; KALASZCZYNSKA und FERDYN, 2015), besitzen eine große immunmodulative Wirkung (LI et al., 2014) und ein geringes Risiko für Zellmutationen, virale, parasitäre Verunreinigungen oder andere Ansteckungsgefahren für den Empfänger (NAGAMURA-INOUE und HE, 2014). Jedoch ist die Nabelschnur von Hunden keine ideale Quelle. Hündinnen versuchen direkt nach der Geburt, die Nabelschnur und Placenta der geborenen Welpen aufzunehmen. Durch diesen Instinkt ist es praktikabler, MSC aus der Nabelschnur nach Kaiserschnitten zu gewinnen. Die Gewinnung während Kaiserschnitten ist jedoch nur ethisch vertretbar, wenn die Kaiserschnitte auch medizinisch angezeigt sind. Aus diesem Grund ist die allogene umbilikale Stammzelltherapie bei Hunden nicht für den breiten Markt möglich (PUNZON et al., 2022).

MSC können aus dem peripheren Blut (VAN HECKE et al., 2021; BEERTS et al., 2023), der Synovia und dem Knorpel (XU et al., 2023) sowie der Zahnpulpe (LO MONACO et al., 2020) gewonnen werden. Bisher belegen nur wenige Studien die Wirksamkeit der MSC, die aus diesen Geweben gewonnen wurden, für die Therapie der caninen OA. Daher müssen weitere Studien folgen, um die Wirksamkeit der regenerativen Zellen dieser Gewebe zu untersuchen.

2.4. Ursprungsgewebe

Verglichen miteinander haben canine AD-MSK gegenüber BM-MSK den Vorteil, dass ihre Entnahme leichter durchgeführt werden kann (KANG et al., 2012). Zudem zeigen AD-MSK in-vitro eine höhere Proliferationsrate als BM-MSK (BAGLIONI et al., 2012; REQUICHA et al., 2012). AD-MSK und BM-MSK unterscheiden sich in vitro jedoch nicht in ihrer Immunphänotypisierung (Expression der Zell-Oberflächenmarker MHC I, CD29, CD44, CD90) und ihren immunmodulatorischen Fähigkeiten. Beide zeigen in-vitro ein starkes osteogenes und adipogenes Differenzierungspotential, jedoch nur ein geringes bis kein chondrogenes Differenzierungspotential (RUSSELL et al., 2016).

BM-MSC haben im Vergleich zu AD-MSC ein höheres osteogenes Differenzierungspotential (BEARDEN et al., 2017). Wobei der Ort der Entnahme sowohl für BM-MSC als auch AD-MSC einen Einfluss auf ihre in-vitro Eigenschaften nimmt. Aspirate, die aus dem Humerus von Hunden gewonnen wurden, zeigen eine deutlich geringere Zahl an MSC und ein geringeres osteogenes Differenzierungspotential im Vergleich zu BM-MSC aus dem Aspirat der Tibia, des Femurs und des Iliums (VOLK et al., 2012).

Der Entnahmeort hat auch auf die Eigenschaften der AD-MSC einen Einfluss. Omentales Fettgewebe enthält mehr AD-MSC als subkutanes Fettgewebe (BAHAMONDES et al., 2017). Die Menge an subkutanem Fett ist zudem abhängig vom Körpermaßindex, daher kann nicht bei jedem Hund genügend subkutanes Fettgewebe entnommen werden (BAHAMONDES et al., 2017). AD-MSC, die aus dem infrapatellaren Fettpolster gewonnen wurden, haben in-vitro im Vergleich zu MSCs aus dem omentalen Fettgewebe und dem subkutanen Fettgewebe ein höheres Proliferationsvermögen (RASHID et al., 2021).

2.5. Kryokonservierung

Um den Patienten Regenerative Zellprodukte bei Bedarf direkt zur Verfügung stellen zu können, werden sie kryokonserviert. Die Kryokonservierung ermöglicht die Lagerung einer großen Anzahl von Zellen, die für die wissenschaftliche Forschung und medizinische Anwendungen verwendet werden können. Hierfür gibt es für die Stammzellen eigene Protokolle, um eine Schädigung der Zellen zu vermeiden. Humane kryokonservierte BM-MSC bleiben in der Morphologie, Immunphänotyp, Differenzierungs- und Proliferationspotenzial durch die Kryokonservierung weitgehend unbeeinflusst, jedoch weisen sie meist eine verminderte Stoffwechselaktivität nach der Kryokonservierung auf. Sie können zudem eine deutlich verringerte Lebensfähigkeit besitzen (BAHSOUN et al., 2019). Die Abnahme der Lebensfähigkeit und der Stoffwechselaktivität nach der Kryokonservierung ist häufig das Ergebnis physikalischer und molekularer Zellschäden. Zu den physikalischen Schäden zählen intrazelluläre Eisbildung, Lösungseffekte, Toxizität der Kryolösung und molekulare Schäden, die sich in Form von Veränderungen der Genexpression, der Induktion von Stressreaktionen und epigenetischen Veränderungen äußern (WHALEY et al., 2021). Canine MSC können über einen Zeitraum von 7 Jahren kryokonserviert werden, ohne dass sie im Vergleich zu unkonservierten MSC an Morphologie, Zellviabilität, osteogenem und adipogenem Differenzierungspotential oder Proliferationspotenzial verlieren. Hierzu ist eine Kryokonservierung mit 10% Dimethyl Sulfoxid (DMSO) und 80% fetales bovines Serum nötig (DI BELLA et al., 2021). Es ist jedoch kein einheitliches Protokoll für die Kryokonservierung in der Tiermedizin vorhanden, sodass der Effekt der Kryokonservierung

auf die Zellen individuell getestet werden muss, um eine gute Qualität des Endproduktes sicherzustellen.

2.6. Regenerative Zelltherapie bei Osteoarthritis

Caplan et al. (1991) beschrieben zum ersten Mal den Nutzen von MSC in der Orthopädie (CAPLAN, 1991). Aufgrund ihrer Fähigkeit, sich in Chondrozyten differenzieren zu können, wurde untersucht, ob injizierte MSC zur Knorpelregeneration beitragen, indem sie degenerierten Knorpel ersetzen. Murphy et al. (2003) konnten in einem OA-Modell bei Ziegen eine Einwanderung von MSC nach Injektion in die Synovia, Fettpolster und in den lateralen Meniskus, jedoch nicht in den Knorpel nachweisen. Verglichen mit der Kontrollgruppe zeigten die Knorpelläsionen der mit MSC behandelten Kniegelenke eine geringere Knorpeldegeneration, osteophytäre Zubildungen und subchondrale Sklerose (MURPHY et al., 2003). Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen auch Desando et al. (2013). Nach einem Kreuzbandrissmodell am Kaninchen (n=72) wanderten die gelabelten MSC nicht in die Knorpelläsionen ein. Sie stellten durch die Injektion eine verlangsamte Progression der OA in den Kniegelenken fest (DESANDO et al., 2013).

Es wurde ein positiver Effekt der MSC bei OA hinsichtlich ihrer immunmodulatorischen Fähigkeiten untersucht. Canine MSC schütten in-vitro eine Vielzahl an immunmodulatorischen Faktoren aus, wenn sie mit inflammatorischen Molekülen in Kontakt kommen (SHAHSAVARI et al., 2021). Dieser Effekt konnte auch in klinischen Studien nachgewiesen werden. Am Kreuzbandrissmodell an Beagles wurde nach Behandlung mit allogenen AD-MSC eine verminderte Expression von pro-inflammatorischen Zytokinen (TNF-alpha, COX-2, IL1 β , iNOS und IFN-gamma) im Vergleich zur Kontrollgruppe gemessen (YUN et al., 2016). Auch Muir et al. (2016) wiesen nach intravenöser und intraartikulärer Injektion von autologen BM-MSCs bei Hunden mit einem Kreuzbandriss (n=12) nach, dass die systemische und synoviale Entzündungsreaktion durch die Behandlung reduziert werden. Dabei war unter anderem die synoviale IFN-gamma Konzentration und die venöse und synoviale Konzentration des C-reaktiven Proteins (CRP) nach der Behandlung in beiden Kniegelenken geringer. Die Autoren schlussfolgerten, dass die Therapie mit autologen BM-MSC das Risiko für einen zweiten Kreuzbandriss beim Hund senken können (MUIR et al., 2016).

Die immunmodulative Wirkung der MSC kann einen Einfluss auf die Neubildung von Knorpel haben. Eine Injektion von MSC allein und in Verbindung mit Hyaluronsäure führte beim Kreuzbandrissmodell des Hundes zu einer Knorpelregeneration mit knorpelähnlichem

Material, während Knorpelläsionen mit fibrösem Gewebe ersetzt wurden bei Hunden, die keine Behandlung erhielten (MOKBEL et al., 2011; YAMASAKI et al., 2015). Nach Behandlung von Knorpeldefekten mit allogenen AD-MSC aus der Nabelschnur, war die neu gebildete Knorpelschicht dicker im Vergleich zu den Knorpeldefekten von Hunden, die keine Therapie erhielten (ZHANG et al., 2018). Dass die Knorpelneubildung durch die Behandlung mit allogenen AD-MSC und Thrombozytenreiches Plasma (engl. platelet rich plasma (PRP)) im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht war, konnten auch Yun et al. (2016) nachweisen. Zur Untersuchung nutzten sie das Kreuzbandrissmodell bei Beagle-Hunden. Durch Untersuchung der Bromdesoxyuridin -positiven Zellen (BrdU) mittels Immunoreaktivität wiesen sie eine höhere Zellproliferation von Chondrozyten durch die Behandlung mit MSC und PRP im Vergleich zur Kontrollgruppe nach (YUN et al., 2016). Ebenso wurde durch die Bestimmung von caspase-3- und PARP-positiven Zellen eine niedrigere Zellapoptoserate der Chondrozyten gemessen. Der Kollagenanteil und Anteil an Glykosaminoglykanen in der ECM des Knorpels nach Behandlung mit allogenen AD-MSC war im Vergleich zur Kontrollgruppe höher (YUN et al., 2016).

Ob die mesenchymale Stammzelltherapie auch eine positive Wirkung auf den subchondralen Knochen haben kann, wurde bisher in nur wenigen Studien untersucht. Es konnte keine Verbesserung der oberflächlichen Knochenstrukturen bei Hunden mit OA durch die Behandlung mit MSC nachgewiesen werden (CUERVO et al., 2014; WITS et al., 2020). Eine synoviale Entzündung kann die Bildung von osteophytären Zubildungen fördern. Hierbei spielen proinflammatorische Makrophagen eine entscheidende Rolle (ZHANG et al., 2020). Durch die immunmodulatorische Wirkung der MSC könnte eine Arthroseprogression verlangsamt werden. Es sind jedoch Langzeitstudien nötig, um eine Aussage über die Wirkung der MSC bezüglich der knöchernen Strukturen und der Arthroseprogression treffen zu können (BRONDEEL et al., 2021).

2.6.1. Klinische Studien bei Hunden mit Osteoarthrose

Die bisher vorgestellten Studien untersuchten die Wirkung der regenerativen Zelltherapie auf OA bei Hunden unter Laborbedingungen. Die Therapie wurde nach Induzierung einer Gelenkentzündung und/ oder Knorpelschädigung begonnen. Da dies nicht dem Krankheitsbild der chronisch-progressiven OA bei Hunden entspricht, sind klinische Studien mit erkrankten Hunden wichtig. Die regenerativen Zellen wurden meist intraartikulär injiziert (BLACK et al., 2007; BLACK et al., 2008; VILAR et al., 2013; CUERVO et al., 2014; VILAR et al., 2014; HARMAN et al., 2016; VILAR et al., 2016) . Aufgrund ihrer Fähigkeit zum Ort der Entzündung zu wandern, wurden sie auch intravenös appliziert (SHAH et al.,

2018; OLSEN et al., 2019).

Im Folgenden werden die verschiedenen Anwendungsverfahren der autologen, allogenen und xenogenen Transplantation der regenerativen Zellen vorgestellt, da die Vor- und Nachteile dieser Verfahren für die klinischen Anwendung von besonderem Interesse sind.

2.6.1.1. Autologe Regenerative Zelltherapie

Das Verfahren der autologen Stammzelltherapie hat sich in der Tiermedizin etabliert. Autologe Stammzellen werden häufig genutzt, da die gewonnenen Zellen immunologisch kompatibel mit dem Empfänger sind (DIMARINO et al., 2013). Die Therapie wurde als sicher und effektiv eingestuft (VILAR et al., 2013).

Im Rahmen der autologen Transplantation muss kein Spender gefunden werden, da die regenerativen Zellen aus dem Gewebe des Patienten gewonnen werden. Durch die zusätzliche Operation entstehen jedoch für das Tier zusätzliche Narkose- und Operationsrisiken.

Die Qualität der gewonnenen MSC ist abhängig von den Eigenschaften des Spenders. Die Stammzellen von jungen, gesunden Hunden haben *in vitro* ein höheres Differenzierungspotenzial und eine höhere Proliferationskapazität als die MSC älterer Hunde (VOLK et al., 2012). Nicht jeder Patient ist daher gleich gut geeignet für die autologe Stammzelltherapie.

Je nach Verfahren, ob mit Anzucht im Labor oder ohne, verzögert sich die Therapie um bis zu mehrere Wochen. Pavarotti et al. (2020) untersuchten die Wirkung von autologen regenerativen Zellen, die sie ohne vorherige labortechnische Aufarbeitung in die osteoarthrotisch veränderten Gelenke injiziert haben. Zur Gewinnung der SVF wurde den Patienten durch Liposuktion Fettgewebe aus der kaudalen Lumbalregion entnommen. Das entnommene Fettgewebe wurde zerkleinert und ausschließlich mit Ringerlaktat verdünnt. Es wurde keine Matrasse zur enzymatischen Isolation der regenerativen Zellen genutzt. Nach Zentrifugation wurden die obere Fettschicht und die untere flüssige Schicht verworfen und nur die potenziell zellreiche und die SVF enthaltende mittlere Schicht genutzt. Dieses Verfahren wurde von Guillaume-Jugnot et al. (2016) beschrieben, jedoch wurde es von Pavarotti et al. (2020) nicht histologisch oder histochemisch überprüft (GUILLAUME-JUGNOT et al., 2016). Auch gab es keine *in-vitro* Untersuchung der gewonnenen Zellen. Es wurden 21 Hunde (11 Ellbogengelenke, 8 Hüftgelenke, 1 Tibiotarsalgelenk und 1 Kniegelenk) behandelt. Der Lahmheitsscore und die Besitzerbefragung (Canine Brief Pain Inventory) zeigten eine signifikante Verbesserung der Patienten. Die ganganalytische Untersuchung ergab eine Verbesserung der Lahmheit bis 180 Tage nach Behandlung. Dabei verbesserte sich

der Vertikale Impuls (VI) um $>2.25\%$, die vertikale Spitzenkraft (engl. peak vertical force, PVF) um $>5.32\%$ und die prozentuale Gewichtsverteilung um $>3.6\%$. Die Autoren schlussfolgerten aus den Ergebnissen, dass das Verfahren leicht zu etablieren sei und eine gute Behandlungsmöglichkeit darstellt (PAVAROTTI et al., 2020).

Vilar et al. (2016) untersuchten den Behandlungserfolg der autologen mesenchymalen Stammzelltherapie bei 10 Kanarischen Doggen mit schwerer Hüftgelenks-Osteoarthritis aufgrund von bilateraler Hüftgelenkdysplasie (FCI-Schema D bis E). Hierzu wurde den Patienten 20g subkutanes Fettgewebe aus der Inguinalregion und 120 ml Blut entnommen und zur weiteren Aufbereitung in ein Labor geschickt. Nach 14 Tagen wurden den Hunden 15 Mio. kultivierter AD-MSCs einmalig intraartikulär injiziert. Die behandelten Hunde zeigten eine signifikante Verbesserung der ganganalytischen Untersuchung im Vergleich zur Kontrollgruppe (n=5) nach 30 Tagen. PVF verbesserte sich signifikant im Durchschnitt um $7,04\%$ des Körpergewichts. Ebenfalls verbesserte sich VI signifikant. Nach drei und sechs Monaten war dieser Effekt anhand beider Parameter nicht mehr messbar. Die Patientenbesitzerbefragung ergab über den gesamten Zeitraum eine signifikante Verbesserung. Die Patientenbesitzerbefragung und die ganganalytische Untersuchung korrelierten nicht miteinander (VILAR et al., 2016).

Eine weitere Studie, die die Wirkung von autologen mesenchymalen Stammzellen bei Hunden mit Hüftgelenksarthrose untersuchte, wurde von Black et al. (2007) veröffentlicht. Die Multicenterstudie schloss 21 Hunde ein, denen subkutanes Fettgewebe aus der Abdominal-, Inguinalregion oder der Brustwand entnommen wurde. Es wurde zu einem Labor geschickt (Vet Stem, Inc., Poway, Kalifornien) und dort aufgearbeitet. Mittels enzymatischer Aufbereitung, Zentrifugation und Waschungen wurde aus dem Fettgewebe die SVF gewonnen. Die Hunde wurden über drei Monate nach Injektion nachuntersucht. Anhand der tierärztlichen Untersuchung und der Patientenbesitzerbefragung verbesserte sich im Studienzeitraum die Lahmheit der behandelten Hunde signifikant und sie schnitten deutlich besser im Vergleich zur Kontrollgruppe ab (BLACK et al., 2007).

Black et al. (2008) untersuchte die Wirkung von autologen mesenchymalen Stammzellen bei Hunden mit chronischer OA. Die Multicenterstudie schloss 14 Hunde mit einseitiger und beidseitiger Ellbogenarthrose ein. Dabei nutzten sie das gleiche Verfahren, wie in der bereits vorgestellten Studie von 2007 (BLACK et al., 2007). Sowohl die Beurteilung die Tierärztliche Untersuchung, als auch die Besitzerbefragung zeigten eine signifikante Verbesserung der Lahmheit der Hunde über den gesamten Untersuchungszeitraum von 180 Tagen (BLACK et al., 2008).

2.6.1.2. Allogene Regenerative Zelltherapie

Die allogene Transplantation von MSC schien bisher möglich, da die MSC aufgrund ihres fehlenden Oberflächenmarkers Haupthistokompatibilitätskomplex II (engl. major histocompatibility complex class II, MHC II) als immunprivilegiert galten (WHITWORTH und BANKS, 2014; GUGJOO et al., 2018). Jedoch wurde beim Pferd nachgewiesen, dass allogene Stammzellen in-vitro durchaus MHC II-Moleküle exprimieren und in-vivo Alloantikörper gegen allogene Stammzellen gebildet werden (SCHU et al., 2012). Mehrmalige artikuläre Injektionen von allogenen MSC führten beim Pferd zu einer adversen lokalen Immunantwort des adaptiven Immunsystems und bei wiederholter Injektion wurden Alloantikörper gegen die allogenen MSC nachgewiesen (JOSWIG et al., 2017). Beim Pferd konnte eine stärkere Entzündungsreaktion in der Synovia nach der intraartikulären Injektion von allogenen und xenogenen MSC im Vergleich zur Injektion mit autologen MSC gemessen werden (PIGOTT et al., 2013). Punzon et al. (2023) untersuchte die Sicherheit der allogenen Stammzelltherapie bei Hunden. Bei 63 % der Hunde, die eine wiederholte intraartikuläre Injektion von allogenen MSC erhielten, konnten Alloantikörper gegen diese nachgewiesen werden. Dennoch ist es bei keinem Hund zu Nebenwirkungen gekommen, sodass die Autoren schlussfolgern, dass die Alloantikörper keine klinische Relevanz haben. Sie konnten eine positive Wirkung der MSC auch nach mehrmaliger intraartikulärer Injektion nachweisen (PUNZON et al., 2023). Auch von anderen Autoren wurde das Verfahren der allogenen Stammzelltransplantation für den Hund als sicher beschrieben (CABON et al., 2019; DEBOSSCHERE et al., 2020). Derzeit wird weiterhin untersucht, wie das Risiko einer Abstoßung der allogenen MSC gesenkt werden kann, um ebenso die Wirksamkeit der Therapie zu erhöhen (LI et al., 2024).

Um keine Krankheitserreger von dem Spendertier auf den Empfänger zu übertragen, hat das "Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CMPV) of the European Medicine Agency (EMA) in ihren Guidelines für die allogene Zelltherapie bei Hunden folgende Screenings auf infektiöse Krankheiten veröffentlicht: bakteriell (*Brucella canis*, *Leptospira spp.*, *Borrelia spp.*, *Ehrlichia spp.*, *Bartonella vinsonii*, *Anaplasma spp.*, *Neorickettsia spp.* and *Rickettsia spp.*), viral (*Canines Herpesvirus*, *Canines Adenovirus*, *Canines Coronavirus*, *Canines Staupe Virus*, *Canines orales Papilloma Virus*, *Canines Parainfluenza 2 Virus*, *Canine Parvovirose*, *Tollwut*) und parasitär (*Babesia spp.*, *Leishmania spp.*, *Trypanosoma cruzi*, *Neospora caninum* und *Dirofilaria immitis*) bedingte Infektionen ((EMA), 2017). Die Hunde, die regenerative Zellen spenden, sollten daher einer ausführlichen klinischen Untersuchung sowie einer Untersuchung auf die genannten Krankheitserreger unterzogen

werden. Ein großer Vorteil gegenüber der autologen regenerativen Zelltherapie ist, dass die MSC angezchtet und gelagert werden können und somit den Patienten sofort zur Verfügung stehen, wenn diese die Therapie benötigen (LIN et al., 2012).

Zudem können die Eigenschaften des Spenders genau bestimmt werden, sodass die gewonnenen MSC eine möglichst hohe Qualität besitzen. Denn das Differenzierungspotential und die Proliferationskapazität der MSC ist abhängig vom Alter und der allgemeinen Gesundheit des Tieres. Die MSC von jungen, gesunden Hunden haben in-vitro ein höheres Differenzierungspotenzial und eine höhere Proliferationskapazität als die MSC älterer Hunde (VOLK et al., 2012; GUERCIO et al., 2013).

Die Auswahl eines geeigneten Spenders muss jedoch ethisch vertretbar sein. Beispiele hierfür sind Spendertiere, denen während einer Routineoperation zusätzlich Gewebe zur regenerativen Zellgewinnung entnommen wird. Mögliche Routineoperationen können Kastrationen (KRISTON-PAL et al., 2017) oder Kaiserschnitte (KIM et al., 2019) sein. Hunde, die die Zellspende erhalten, müssen keiner zusätzlichen Operation unterzogen werden, sodass sie keine weiteren Narkose- und Operationsrisiken haben.

Kim et al. (2019) führte eine verblindete Studie durch, um die Wirkung von allogenen, umbilikalen MSC bei 28 Hunden mit chronischer Cubarthrose zu untersuchen (Placebogruppe n=23). Die MSC wurden aus der Nabelschnur nach Kaiserschnitten gewonnen und in einem Labor angezchtet. Die Hunde erhielten mindestens 7×10^6 MSC intraartikulär injiziert. Therapeutische bedingte Verbesserungen anhand des Canine Brief Pain Inventory (CBPI) (definiert als Abnahme ≤ 1 des Pain Severity Score und ≤ 1 des Pain Interference Score im Vergleich zur Voruntersuchung) wurde nach einem Monat bei 54% der behandelten Hunde gemessen (28% der Hunde in der Placebogruppe), nach drei Monaten bei 50% der Hunde (27% der Hunde in der Placebogruppe), und nach 6 Monaten bei 46% der Hunde (14% der Hunde in der Placebogruppe). Während sich PVF in beiden Gruppen nicht signifikant verbesserte (KIM et al., 2019).

Eine weitere Studie untersuchte die Wirkung von allogenen MSC bei 13 Hunden mit Cubarthrose (OLSEN et al., 2019). Hierfür wurden allogene MSC aus dem Fettgewebe der Inguinalregion von 10 Hunden gewonnen und das Fettgewebe wurde zunächst kryokonserviert. Anschließend wurden die Zellen kulturell angezchtet. Jeder Hund erhielt drei intravenöse Infusionen im Abstand von zwei Wochen in einer Dosierung von je $1-2 \times 10^6$ Zellen pro Kilogramm Körpergewicht. Einige MSC wurden vor einer Injektion markiert, sodass eine Migration in die Ellbogengelenke überprüft werden konnte. Es wurden keine

akuten Nebenwirkungen durch die intravenöse Therapie festgestellt. Die mittlere PVF verschlechterte sich nach der Behandlung und war signifikant verschlechtert nach 6 Monaten nach der Behandlung. Sowohl der CBPI, als auch der Liverpool Osteoarthritis in Dogs Index (LOAD) zeigten keine signifikanten Verbesserungen während des Untersuchungszeitraumes, einzig der "Client-specific Outcome Measure" (CSOM) verbesserte sich signifikant an einzelnen Folgeuntersuchungen. Bei 4 von 13 Hunden konnten die markierten MSC in den Ellbogengelenken 24 Stunden nach der Injektion nachgewiesen werden.

Kriston-Pál et al. (2017) untersuchten die Wirkung von allogenen MSC nach einer einmaligen, intraartikulären Injektion bei Hunden mit Cubarthrose. Hierzu entnahmen sie 13 gesunden Hunden während einer Ovariectomie viszerales Fettgewebe und züchteten die daraus isolierten MSC im Labor an. Von 6 Spendern transplantierten sie die angezüchteten MSC in 39 Ellbogengelenke von 30 Hunden. 31 Gelenke von 19 Hunden konnten ausgewertet werden. Die Patientenbesitzer wurden während des Untersuchungszeitraumes von einem Jahr regelmäßig befragt. Anhand der Patientenbesitzerbefragung verbesserte sich die Lahmheit bei 31 von 39 Hunden signifikant bis 1 Jahr nach der Behandlung. Bei einem Hund wurde vor und ein Jahr nach der Behandlung eine Arthroskopie mit anschließender histologischer Untersuchung der entnommenen Biopsien durchgeführt. Der Knorpel besaß eine bessere Regeneration im Vergleich zu einer Knorpelbiopsie eines Patienten ohne MSC-Behandlung. Der Knorpelschaden wurde mit hyalin-ähnlichem Knorpel aufgefüllt statt mit faserigem Knorpel (KRISTON-PAL et al., 2017).

Cabon et al. (2019) untersuchten bei Hunden die Langzeitwirkung von neonatalen, stromalen MSC-Injektionen bei 22 Hunden mit mittelgradig bis hochgradiger Lahmheit durch Osteoarthrose (CABON et al., 2019). Die MSC wurden aus der Nabelschnur gewonnen, die während medizinisch notwendigen Kaiserschnitten entnommen wurde. Den Studienpatienten wurden mindestens 10×10^6 allogene neonatale MSC transplantiert. Es wurden Hunde mit Hüft-, Knie-, Tarsal-, Ellbogen- und Karpalgelenksarthrose behandelt. Nach der intraartikulären Injektion fanden regelmäßige Nachkontrollen statt, bei denen die Besitzer befragt und die Hunde orthopädisch untersucht wurden. Sie wurden über einen Studienzeitraum von zwei Jahren nachkontrolliert. Bei 11 Hunden wurde eine weitere Injektion 6 Monate nach der ersten Injektion vorgenommen, weil die Hunde nach der ersten Injektion nicht die erwarteten Verbesserungen zeigten. In dieser Studie zeigte sich bei 5/22 Gelenken milde bis moderate lokale Schmerzreaktionen an den Injektionsstellen innerhalb der ersten 24 Stunden. Bei der zweiten Injektion konnten lokale Schmerzreaktionen an 6/11 Gelenken festgestellt werden. Innerhalb der ersten sechs Monate zeigten sich keine weiteren

Nebenwirkungen. Im Zeitraum von sechs Monaten bis zwei Jahren zeigten sich keine Nebenwirkungen, die auf die immunmodulatorischen Wirkungen der MSC zurückzuführen seien. Zwei Boxer entwickelten in diesem Zeitraum Hodenkrebs. Ob dieser jedoch auf die Behandlung zurückzuführen sei, stellten die Autoren in Frage. Die tierärztliche Untersuchung ergab eine klinische Verbesserung zu allen Zeitpunkten. Eine Mehrheit der Patientenbesitzer sahen eine klinische Verbesserung. Die Injektion der allogenen neonatalen MSC wurde gut vertragen. Die Patienten bildeten während des Studienzeitraums keine Alloantikörper, auch nicht, wenn sie zwei Injektionen erhielten (CABON et al., 2019).

Taroni et al. (2017) untersuchten die Wirkung von allogenen, neonatalen MSC nach Injektion in Kniegelenke nach Tibial Plateau Leveling Osteotomy (TPLO). Hierzu entnahmen sie während Kaiserschnitten neonatales Gewebe, aus dem die MSC durch Aufbereitung und Anzucht isoliert wurden. Anschließend wurden sie kryokonserviert. Den Studienpatienten wurden mindestens 10×10^6 MSC intraartikulär injiziert. 20 Hunde wurden in die Studie eingeschlossen. 14 Hunde konnten vollständig ausgewertet werden, wobei neun Hunde mit MSC behandelt wurden und fünf Hunde in der NSAID-Kontrollgruppe waren und über einen Monat post OP Firocoxib erhielten. Innerhalb des Studienzeitraumes von 6 Monaten post TPLO zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Lahmheitsscores und der ganganalytischen Untersuchung zwischen beiden Gruppen. Auch die klinische Untersuchung ergab, dass beide Gruppen eine adäquate Schmerzbehandlung erhielten. Zusammengefasst bietet verglichen mit der postoperativen Schmerzbehandlung mit einem NSAID (Firocoxib), die Behandlung mit neonatalen MSC eine ebenso gute Schmerzstillung. Die Auswertung der Knochenheilung mittels Röntgen ergab ein besseres Abschneiden der MSC-Gruppe. Somit stellen die allogenen neonatalen MSC eine gute Alternative zur postoperativen Schmerzbehandlung dar (TARONI et al., 2017).

Eine Multicenterstudie aus Australien untersuchte die Wirkung von allogenen mesenchymalen Stammzellen bei 203 Hunden mit Osteoarthritis. Hierzu entnahmen sie gesunden, jungen Hunden (unter fünf Jahren) während Routine-Kastrationen Fettgewebe aus der Abdominalregion und ließen es in einem Labor aufbereiten und die MSC anzüchten. 128 Hunde erhielten eine einzelne intraartikuläre Injektion, 65 Hunde bekamen sowohl eine intraartikuläre, als auch eine intravenöse Verabreichung der allogenen MSC. Die Tierärzte unterteilten die OA nach dem Kellgren-Lawrence Klassifizierungssystem und die Tierärzte und Patientenbesitzer erhielten Fragebögen bezüglich Lahmheit und Schmerzhaftigkeit vor der Behandlung sowie zehn Wochen danach. 90 % der jungen Hunde (unter neun Jahren) zeigten eine starke Verbesserung, 60% der älteren Hunde eine gute Verbesserung. Bei einem

Hund verschlechterten sich die Symptome nach der Therapie. Dieser war jedoch älter als 14 und zeigte eine allgemeine Verschlechterung seine Konstitution. Hunde, die jünger als neun waren, schnitten im Schnitt bei der Befragung zur Lebensqualität besser ab, als die älteren behandelten Hunde. Intraartikulär behandelte Hunde zeigten eine stärkere Verbesserung als die intraartikulär und intravenös behandelten, jedoch litten die Hunde dieser Gruppe zum Teil auch an Polyarthritiden und wurden daher in die Gruppe eingeteilt. Zudem war der Altersdurchschnitt dieser Gruppe höher (SHAH et al., 2018).

2.6.1.3. Xenogene Regenerative Zelltherapie

Bisher gilt die xenogene regenerative Zelltherapie als möglich, es wurden bisher jedoch nur wenig Studien über Sicherheit der xenogenen Transplantation durchgeführt (WHITWORTH und BANKS, 2014). Die Patienten, die xenogene MSC erhalten, benötigen keine immunsuppressive Therapie (LIN et al., 2012).

Beim Hund wurde die xenogene Transplantation mit MSC aus der Nabelschnur von Pferden, sowie die allogene Stammzelltherapie auf ihre Sicherheit hin überprüft. Obwohl 63% Hunde, die mit allogenen MSC behandelt wurden, Alloantikörper gegen diese ausbildeten und 75% der Hunde, die mit xenogenen MSC behandelt wurden, Antikörper gegen die xenogenen MSC entwickelt haben, konnten keine Nebenwirkungen auch nach mehrmaligen intraartikulären Injektionen beider Therapieformen nachgewiesen werden. Daher beschreiben die Autoren die xenogene Stammzelltherapie bei Hunden als sicher (PUNZON et al., 2023).

Auch die xenogene Stammzelltherapie bei Hunden mit humanen MSC aus dem Fettgewebe wurde als sicher beschrieben (PELATTI et al., 2016). Die Autoren dieser Studie transplantierten fünf Hunden mit Muskeldystrophie des Typs Duchenne mehrfach humane MSC von verschiedenen Spendern. Die Hunde wurden nicht mit immunsuppressiven Medikamenten behandelt. Sie stellten während des Studienzeitraumes keine Nebenwirkungen der Therapie fest.

Die Vorteile der allogenen regenerativen Zelltherapie gelten ebenso für die xenogene Zelltherapie. Die MSC können angezchtet und kryokonserviert werden, sodass sie bei Bedarf dem Patienten sofort zur Verfügung stehen (LIN et al., 2012). Auch hier gilt, dass die Kryokonservierung negative Auswirkungen auf die Qualität der MSC haben kann (DI BELLA et al., 2021; WHALEY et al., 2021). Die Auswahl eines geeigneten Spenders muss jedoch auch bei diesem Verfahren ethisch vertretbar sein. Die Empfänger müssen sich keiner zusätzlichen Operation unterziehen, sodass sie keine weiteren Narkose- und Operationsrisiken haben. Zudem kann sie für Tiere, die keine autologe Stammzelltherapie durchführen lassen

können, geeignet sein. Gleichzeitig bietet die Xenotransplantation von MSC für den Hund den Vorteil, dass sich der Empfänger nicht mit artspezifischen Pathogenen anstecken kann (SASAKI et al., 2019).

Punzon et al. (2022) untersuchte die xenogene Transplantation von umbilikalen MSC des Pferdes bei Hunden mit Osteoarthritis. Sie behandelten 80 Hunde mit angezüchteten und kryokonservierten MSC. Vier Wochen nach der Behandlung zeigten 41 % der behandelten Hunde eine Verbesserung von >5 % von PVF, im Vergleich zu 21 % der Placebogruppe. Nach acht Wochen zeigten 63 % der behandelten Hunde und 8 % der Hunde aus der Placebogruppe eine Verbesserung. Zwölf Wochen nach Behandlung waren es 48 % der mit MSC behandelten Hunde im Vergleich zu 11% aus der Placebogruppe. Ebenso schnitten die behandelten Hunde deutlich besser in der Besitzerbefragung und orthopädischen Untersuchung zu allen Zeitpunkten im Vergleich zur Kontrollgruppe ab. Vier Hunde zeigten nach der Behandlung lokale Schmerzreaktionen und eine verstärkte Lahmheit und benötigten ein NSAID. Jedoch wurde keine langanhaltende (die Besitzer wurden nach 18 Monaten noch einmal befragt) oder systemische Nebenwirkung der Behandlung festgestellt (PUNZON et al., 2022).

Dadurch, dass Pferde keinen Instinkt haben, die Nabelschnur nach der Geburt zu fressen und viel Gewebe für die Gewinnung der MSC vorhanden ist, erscheint die Nabelschnur als Ursprungsgewebe gut geeignet. Außerdem ist es eine Quelle für eine hohe Anzahl an MSC und bietet daher eine schnelle, effektive, sichere und nicht-invasive Behandlungsmöglichkeit für verschiedene Spezies (PUNZON et al., 2022).

Deams et al. (2019) untersuchten die Wirkung von equinen MSC auf die Schmerzhaftigkeit und Lahmheit von Hunden mit OA. Es wurden sechs Hunde mit Cubarthrose in die Studie eingeschlossen. Bevor sie mit MSC behandelt wurden, wurde ihnen 0,9% Kochsalzlösung intraartikulär verabreicht und sie wurden über sechs Wochen beobachtet. Dieser Studienzeitraum diente als vergleichbare Kontrollgruppe. Im Anschluss daran wurden die MSC intraartikulär injiziert. Sie wurden aus dem peripheren Blut der Vena jugularis eines Pferdes gewonnen. Hierfür wurde das Blut in einem Labor aufbereitet, die isolierten MSC angezüchtet und ihre Chondrogenese induziert. Sie wurden kryokonserviert und in einer Dosierung von 2×10^6 intraartikulär verabreicht. Verglichen mit der Kontrollgruppe verbesserten sich die behandelten Tiere anhand der Besitzerbefragung signifikant. Jedoch ergaben die orthopädischen Parameter, die bildgebende Untersuchung und die Untersuchung der Synovia keine signifikanten Unterschiede. Ebenso ergab die ganganalytische Untersuchung keine signifikante Verbesserung der Lahmheiten nach Behandlung mit den xenogenen MSC (DAEMS et al., 2019).

Eine weitere Studie, die die Xenotransplantation von equinen MSCs bei Hunden mit OA untersucht hat, beschrieb die Therapie als sicher, effizient und breit nutzbar. Sie untersuchten die Wirkung von MSC, die aus dem peripheren Blut von Pferden gewonnen wurden und intravenös bei 32 Hunden nach einem induzierten Kreuzbandriss transplantiert wurden. Nach 42 Tagen waren sowohl der Lahmheitsgrad, der Gelenksschmerz und die Gelenksfüllung signifikant geringer, der CBPI zeigte eine signifikante Verbesserung im Vergleich zu präOP. Die pathologische, histopathologische und immunhistochemische Untersuchung bestätigte, dass die Hunde, die mit den MSC behandelt wurden, eine bessere Heilung und eine schwächere Synovitis hatten, als die Kontrollgruppe. Einige der Hunde, die mit MSC behandelt wurden, bildeten jedoch Antikörper gegen die xenogenen MSC aus. Zudem schnitt die Gruppe mit der höchsten MSC-Dosierung ($1,5 \times 10^6$ MSC) schlechter ab, als die Gruppe, die eine geringere Dosierung erhielt ($0,3 \times 10^6$ MSC). Dass eine geringere Dosis eine bessere Wirkung erzielt, lässt sich bei einer intravenösen Applikation mit einer starken Interaktion mit dem Immunsystem erklären. Die Dosierungsempfehlung kann daher nicht auf die intraartikuläre Injektion übertragen werden. Gleichzeitig wurde bei drei Hunden, die mit ^{99m}Tc markierte MSC erhalten haben, eine Einwanderung der MSC in die Kniegelenke nachgewiesen (BEERTS et al., 2023). Ein Produkt aus equinen, umbilikalen MSC wurde 2024 in Europa für die Behandlung von Hunden zugelassen (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2024).

3. Untersuchungsmethoden von Osteoarthrose

Im Folgenden werden Untersuchungsmethoden beschrieben, die sich zur Erfassung des Krankheitsbildes der OA des Hundes etabliert haben. Es ist anzumerken, dass keine der vorgestellten Untersuchungsmethoden und Ergebnismessungen ein wahres Abbild der OA und deren Verlauf abbilden kann (SHARKEY, 2013).

3.1. Tierärztliche Orthopädische Untersuchung

Bei der orthopädischen Untersuchung wird der Hund auf eine bestehende Lahmheit und Schmerzhaftigkeit untersucht. Dabei wird auf eine mögliche Entlastung oder Schonung eines Beines und auf eine Muskelatrophie geachtet. Bei der Adspektion des Patienten in Schritt und Trab kann bei einer Lahmheit der Vordergliedmaße eine Entlastung der schmerzenden Gliedmaße beobachtet werden, da die Hunde beim Auffüßen auf die andere Vordergliedmaße fallen. Sie heben den Kopf, wenn sie mit der schmerzenden Gliedmaße auftreten, um zusätzliches Gewicht von der Gliedmaße zu nehmen. Bei degenerativen Erkrankungen des Ellbogengelenkes schwingt die Gliedmaße während der Beugung nach außen. Hierdurch kann der Beugungswinkel des schmerzenden Ellbogengelenks minimiert werden (FOSSUM, 2013).

Beim Vorführen des Hundes kann der Tierarzt anhand des Gangbildes eine Lahmheitseinteilung vornehmen. Eine in Deutschland verbreitete Grad-Einteilung kann nach folgendem Schema vorgenommen werden: Grad 0: keine Lahmheit; Grad 1: geringgradig undeutlich; Grad 2: geringgradig deutlich; Grad 3: mittelgradig (die Gliedmaße wird intermittierend nicht belastet); Grad 4: hochgradig (die Gliedmaße wird nicht belastet).

Die Tierärztliche Untersuchung der Lahmheit mit Hilfe einer numerischen Skala zeigte sich jedoch in einer Studie als nicht zuverlässig (QUINN et al., 2007). Hierbei verglichen die Autoren die Ergebnisse der Lahmheitsuntersuchung von Tierärzten mit den Ergebnissen der computergestützten Ganganalyse von 21 Hunden mit einer Lahmheit der Hintergliedmaße. Sie stellten nur bei einer hochgradigen Lahmheit eine Korrelation der Ergebnisse fest. Auch die Lahmheitseinschätzung von orthopädischen Chirurgen verglichen mit der computergestützten Ganganalytischen Untersuchung stimmten nur wenig miteinander überein (WAXMAN et al., 2008).

Zudem wurde ein Placeboeffekt von 40 % - 45 % auf die Tierärztliche Untersuchung in einer Studie mit Hunden mit OA gemessen (CONZEMIUS und EVANS, 2012).

3.2. Patientenbesitzerbefragung

In der humanmedizinischen OA-Forschung werden Befragungen bezüglich der Symptome der Patienten mit Osteoarthrose als Goldstandard empfohlen (THORBORG et al., 2010). In der Tiermedizin konnte sich ebenfalls die Besitzerbefragung in der Forschung etablieren, jedoch wird die computergestützte, ganganalytische Untersuchung als Goldstandard bei der Untersuchung von Hunden mit Lahmheiten angesehen (BUDSBERG, 2001; RIALLAND et al., 2012).

Die Besitzerbefragung kann jedoch die Lebensqualität der Hunde erfassen und bietet hierdurch eine weitere Möglichkeit, die Lahmheit und die Schmerzhaftigkeit abzubilden (RIALLAND et al., 2012). Die Autoren plädieren daher dafür, beide Untersuchungsmethoden, die objektive computergestützte Ganganalyse und die Besitzerbefragung ergänzend zueinander bei Hunden mit Osteoarthrose einzusetzen. Conzemius und Evans (2012) konnten einen Placeboeffekt bei der Patientenbesitzerbefragung in einer Studie mit Hunden mit OA messen. Dieser lag bei 57 %, wenn Halter den Therapieerfolg ihrer Hunde mit OA beurteilen sollten. Der Placeboeffekt sollte daher bei der Auswertung und Interpretation von Patientenbesitzerbefragungen in Therapiestudien bedacht werden (CONZEMIUS und EVANS, 2012).

In der caninen Osteoarthroseforschung haben sich mehrere Fragebögen etabliert. Die in der eigenen Studie verwendeten Fragebögen werden daher im Folgenden vorgestellt. Hudson et al. veröffentlichten 2004 den Visual Analog Scale (HVAS) als ein Instrument, das die Lahmheit und Schmerzhaftigkeit von Hunden beurteilen kann. Er wurde nach Schmerzskaleten entwickelt, die beim Menschen genutzt und an den Hund angepasst wurden. Er ist valide für die Verwendung bei leichten bis mittleren Lahmheiten des Hundes (HUDSON et al., 2004). Es konnte eine Korrelation zwischen Ganganalyse (PVF) und dem Fragebogen gemessen werden (QUINN et al., 2007). Der HVAS wurde jedoch nicht spezifisch für die Erfassung der Lahmheit bei Hunden mit OA entwickelt.

Der Canine Brief Pain Inventory (CBPI) wurde entwickelt, um die Ausprägung der Schmerzhaftigkeit und deren Auswirkungen auf den Alltag bei Hunden mit OA beurteilen zu können (BROWN et al., 2007). Über vier Fragen bezüglich des Schweregrades der chronischen Schmerzen kann ein Score kalkuliert werden, der sogenannte "pain severity score" (PSS). Mithilfe von sechs Fragen bezüglich der Auswirkungen auf den Alltag und die Aktivität des Hundes kann der sogenannte "pain interference score" (PIS) berechnet werden. Zusätzlich kann anhand dieses Fragebogens jeder Patient einzeln ausgewertet werden, um

einen individuellen Therapieerfolg zu messen (BROWN et al., 2013b). Brown et al. (2013a) stellten in einer Studie mit 50 Hunden mit einer Hintergliedmaßenlahmheit und 18 Hunden mit einer Vordergliedmaßenlahmheit aufgrund von OA fest, dass es keine Korrelation zwischen der ganganalytischen Untersuchung und den Ergebnissen des Fragebogens nach Schmerzmittelgabe gibt. Die Autoren schlussfolgerten, dass Hundebesitzer eher auf ein verändertes Verhalten und die Aktivität ihrer Tiere achten würden, als auf die Lahmheit, sodass diese beiden Untersuchungsmethoden nicht miteinander korrelieren können (BROWN et al., 2013a). In einer anderen Studie korrelierte der CBPI niedrig signifikant mit dem PVF-Symmetrieindex der Ganganalyse (WALTON et al., 2013).

Der "Liverpool Osteoarthritis in Dogs" (LOAD) Fragebogen wurde 2009 veröffentlicht und zunächst an Hunden mit Ellbogengelenksarthrose getestet (HERCOCK et al., 2009). Mithilfe des LOAD-Scores kann eine Aussage über das Vorliegen und die Schwere einer OA getroffen werden. Walton et al. untersuchten den Fragebogen bei 222 Hunden mit Osteoarthritis in Ellbogen-, Knie- und Hüftgelenken und stellten eine signifikant moderate Korrelation zwischen dem LOAD und dem CBPI fest und eine niedrig signifikante Korrelation zwischen dem LOAD und den PVF-Symmetrieindizes fest (WALTON et al., 2013).

3.3. Ganganalyse

Die Ganganalyse ermöglicht ein objektives Abbild des Gangbildes. Wenn Gliedmaßen während des Ganges oder im Stand auf dem Laufband aufkommen, können Bodenreaktionskräfte gemessen werden. Die Kraftplattform unterhalb des Laufbandes ermöglicht die Messung der Bodenreaktionskräfte mittels eines Kraftaufnehmers. Piezoelektrische Kristalle als Sensorelement können die Dehnung messen, die bei Belastung durch die Gliedmaßen während des Ganges auf dem aufliegenden Laufband entsteht. Die Kinetik beschreibt die Kräfte während der Bewegung. Zur Beschreibung der Kinetik werden häufig die Vertikale Spitzenkraft (engl. Peak Vertical Force (PVF)) und der Vertikale Impuls (VI) angegeben. Die PVF gibt den maximalen Wert der Bodenreaktionskraft während der Standphase an (BUDSBERG et al., 1987). Um diesen Wert vergleichbar für Tiere mit unterschiedlichem Körpergewicht zu machen, wird diese Kraft (in Newton) häufig prozentual zum Körpergewicht angegeben (% kg) (OFF und MATIS, 1997). Der Vertikale Impuls (VI) ist das Integral der gesamten Kraft während der Standphasendauer (% kg KGW*Sekunde) (BUDSBERG et al., 1987). Die Kinematik beschreibt die Geometrie der Bewegung. Zur Erfassung werden die Hunde mit reflektierenden Markern an definierten Knochenpunkten beklebt (OFF und MATIS, 1997). Über verschiedene Kameras im Raum werden diese Marker

erfasst und die maximale Extensions- und Flexionswinkel der Gelenke können errechnet werden (DECAMP et al., 1993). Werden die Kinetik und die Kinematik zusammen betrachtet, ist eine genaue Beschreibung der Mechanik während der Fortbewegung möglich (RAGETLY et al., 2010).

Im Stand haben gesunde Hunde eine Gewichtsverteilung von ca. 30 % des Körpergewichts auf jeder Vordergliedmaße und ca. 20 % des Körpergewichts auf jeder Hintergliedmaße. Der Körperschwerpunkt liegt näher bei den Vordergliedmaßen (BUDSBERG et al., 1987). Während des Trabes vergrößert sich die maximale Gewichtsverteilung auf die Vordergliedmaße auf bis zu 113 % des Körpergewichts (VOSS et al., 2011; MOREAU et al., 2014). Grenzwerte für kinetische und kinematische Parameter der ganganalytischen Untersuchung bei gesunden Hunden wurden bereits veröffentlicht, wobei auch gesunde Hunde bei wiederholten Messungen natürliche Schwankungen in den Messdaten des Gangbildes zeigen (NORDQUIST et al., 2011; PIETSCH et al., 2020, 2021). Werte von PVF der Vordergliedmaße gesunder Hunde werden zwischen 61,6% BW•s und 63,5% BW•s des Körpergewichtes gemessen (BOCKSTAHLER et al., 2007; PIETSCH et al., 2020). Grenzwerte von VI der Vordergliedmaße liegen zwischen 18,9% BW•s und 19,6% BW•s. Intraindividuelle Schwankungen für PVF und VI bei gesunden Hunden liegen bei <10% (PIETSCH et al., 2020).

Lahmende Hunde nehmen deutlich weniger Gewicht auf das betroffene Bein auf und die Werte von PVF werden kleiner (DECAMP, 1997). Hunde mit Cubarthrose entlasten messbar das erkrankte Vorderbein. Das kontralaterale Vorderbein sowie das diagonale Hinterbein werden stärker belastet. Insgesamt kommt es zu einer kompensatorischen Überlastung der gesunden Gliedmaßen und der Wirbelsäule (BOCKSTAHLER et al., 2009). Durch die Ganganalyse konnten Risikofaktoren für das Ausbilden einer OA beim Hund identifiziert werden. So stellt Übergewicht ein Risikofaktor dar und verändert messbar die Biomechanik des Gangbildes von betroffenen Hunden bei der Ganganalytischen Untersuchung. Sie wählen auf dem Laufband ein geringeres Tempo, zeigen größere Schritte mit höheren Bewegungsumfängen und haben höhere Bodenreaktionskräfte verglichen mit normalgewichtigen Hunden. Eine veränderte Biomechanik führt zu einer Veränderung der tragenden Bereiche des Gelenkknorpels und wird als eine Ursache für OA der gewichttragenden Gelenke des Hundes angesehen (BRADY et al., 2013). Die Ganganalyse ist hoch sensitiv und mehrere Faktoren wurden erkannt, die die Messungen der computergestützten Ganganalyse beeinflussen.

Die Messungen der Kinematik können verfälscht werden, wenn Marker unpräzise angebracht

wurden oder verrutschen. Zudem kann der Gesundheitszustand, die Rasse und Körperproportionen den Bewegungsumfang der Gelenke beeinflussen (RAITH, 2010). Ebenso kann es durch körperliche Belastungen vor der ganganalytischen Untersuchung von Hunden mit OA zu Verfälschungen der Bodenreaktionskräfte kommen. Nach körperlicher Belastung sind die Bodenreaktionskräfte der erkrankten Gliedmaßen deutlich geringer als vor der Belastung. Daher sollte vor der Untersuchung körperliche Betätigung erfragt werden, damit Ergebnismessungen nicht verfälscht werden. Dies ist besonders wichtig während Therapiestudien, bei denen die Bodenreaktionskräfte nach einer Therapie mit denen vor der Therapie verglichen werden (BERAUD et al., 2010).

In der caninen Osteoarthroseforschung fehlt ein Konsens, wie die ganganalytischen Messungen ausgewertet und veröffentlicht werden sollten. Durch die fehlende Standardisierung können Ergebnisse der Ganganalyse in Therapiestudien nicht verglichen werden und haben eine geringere Aussagekraft (BELSHAW et al., 2016a). Die ganganalytische Untersuchung ist eine objektive Möglichkeit, einen Behandlungserfolg zu messen und in der Forschung eine wichtige Untersuchungsmethode, da sowohl die Patientenbesitzerbefragung, als auch die Tierärztliche Untersuchung einem Placeboeffekt unterliegen sind (CONZEMIUS und EVANS, 2012). Tierärzte als auch Patientenbesitzer sahen in Placebo-kontrollierten Studien einen Behandlungserfolg, während anhand der Ganganalyse keine Verbesserung der Lahmheit gemessen werden konnte (INNES et al., 2003; MOREAU et al., 2007; HERCOCK et al., 2009).

3.4. Bildgebung

Die Diagnosestellung der Osteoarthrose des Ellbogengelenkes über bildgebende Verfahren ist wichtig, da der behandelnde Tierarzt hierdurch eine Aussage über Zuchteignung und die Prognose bei bestehender Erkrankung hinsichtlich Knorpelschädigung, Gelenkmobilität und Lebensqualität geben kann (KELLER et al., 2011; LEWIS et al., 2013; FARRELL et al., 2014; BERGSTROM et al., 2020).

Die röntgenologische Untersuchung der Gelenke ist daher eine weit verbreitete Methode und auch in den meisten Tierarztpraxen möglich. Durch die röntgenologische Untersuchung können Veränderungen des Knochengewebes dargestellt werden. Typische Veränderungen bei Osteoarthrose sind osteophytäre Zubildungen und Sklerose. Wenngleich diese nicht pathognomonisch sind für die Diagnose sind, denn sie kommen auch bei anderen Formen der Arthritis vor (JOHNSTON, 2018). Ein Nachteil der röntgenologischen Untersuchung ist, dass das Weichteilgewebe nicht beurteilt werden kann.

Um eine Gradeinteilung der Osteoarthrose des Ellbogengelenks vornehmen zu können, hat sich das Protokoll der "International Elbow Working Group" (IEWG) etabliert. Hierzu werden bei Hunden Röntgenaufnahmen in mediolateral gebeugter Projektion beider Ellenbogen angefertigt. Eine kraniokaudale, gestreckte Projektion wird zusätzlich empfohlen. Es wird überprüft, ob arthrotische Veränderungen am Gelenk und Anzeichen einer primären Läsion (FCP, OCD, UAP, Inkongruenz) vorhanden sind. Der Arthrosegrad von 0-3 wird nach Messung der osteophytären Zubildungen bestimmt (INTERNATIONAL ELBOW WORKING GROUP).

Der Goldstandard zur Beurteilung einer Gelenksinkongruenz ist die Computertomographie (CT), da sie Bilder ohne Überlagerung ermöglicht (GEMMILL et al., 2006; MOSTAFA et al., 2019). Sie ermöglicht eine gute Darstellung von osteophytären Zubildungen auch an sehr komplexen Gelenken, wie dem Ellbogengelenk. Durch das CT lassen sich jedoch keine Veränderungen des Weichteilgewebes darstellen (JOHNSTON, 2018). Auch wenn die bildgebende Untersuchung mittels CT bei Hunden mit OA als Goldstandard angesehen wird, konnte eine Studie zeigen, dass die Beurteilung des Schweregrads der Arthrose in den Ellbogengelenken von Hunden durch eine röntgenologische Untersuchung im Allgemeinen mit den Beurteilungen übereinstimmt, die mit der Untersuchung von CT-Scans erzielt wurden (SHUBERT et al., 2022). Die Arthroskopie kann ergänzend zur Diagnosestellung genutzt werden, da das CT nicht immer zuverlässig alle Läsionen des Ellbogengelenkes abbilden kann und mithilfe der Arthroskopie das Weichteilgewebe beurteilt werden kann (MOORES et al., 2008).

Das MRT ermöglicht eine Darstellung des Knochengewebes und des Weichteilgewebes, wie Knorpel, Bänder und Synovium. Jedoch ist der Knorpel des Hundes so dünn, dass nur sehr starke MRTs eine Darstellung der Veränderungen am Knorpel ermöglicht (JOHNSTON, 2018). Sowohl die MRT- als auch die CT- Untersuchungen sind jedoch sehr kostenintensiv und werden meist nur in größeren Kliniken genutzt. Für beide Untersuchungsmethoden müssen die Hunde zudem in Narkose gelegt werden. Die röntgenologische Untersuchung zur Diagnosestellung bei Hunden mit OA wird daher weiterhin am häufigsten durchgeführt (O'NEILL et al., 2020).

III. PUBLIKATION

Efficacy of a Single Injection of Stromal Vascular Fraction in Dogs with Elbow Osteoarthritis: A Clinical Prospective Study

Yvonne Bruns¹, Maike Schroers¹, Stephanie Steigmeier-Raith¹, Anja-Christina Waselau¹, Sven Reese² und Andrea Meyer-Lindenberg^{1,*}

¹ Chirurgische und Gynäkologische Kleintierklinik Ludwig-
Maximilians-Universität München

² Veterinärwissenschaftliches Department Ludwig-
Maximilians-Universität München

* korrespondierende Autorin: Andrea Meyer-Lindenberg

In *Animals*, **2024**

Eingereicht: 20. August 2024

Überarbeitet: 10. September 2024

Akzeptiert: 25. September 2024

Publiziert: 28. September 2024

Article

Efficacy of a Single Injection of Stromal Vascular Fraction in Dogs with Elbow Osteoarthritis: A Clinical Prospective Study

Yvonne Bruns ¹, Maike Schroers ^{1,*}, Stephanie Steigmeier-Raith ¹, Anja-Christina Waselau ¹, Sven Reese ²  and Andrea Meyer-Lindenberg ¹ 

¹ Clinic of Small Animal Surgery and Reproduction, Ludwig-Maximilians-Universität München, 80539 Munich, Germany; bruns.yv@gmail.com (Y.B.); s.steigmeierraith@lmu.de (S.S.-R.); a.waselau@lmu.de (A.-C.W.); ameylin@lmu.de (A.M.-L.)

² Department of Veterinary Sciences, Ludwig-Maximilians-Universität München, 80539 Munich, Germany; sven.reese@lmu.de

* Correspondence: maike.schroers@lmu.de

Simple Summary: Osteoarthritis is a degenerative joint disease. Chronic joint inflammation leads to a loss of joint cartilage. Osteoarthritis is the most common joint disease in dogs and usually develops secondarily as a result of joint incongruence or trauma. Dogs with advanced osteoarthritis often suffer from chronic pain, reduced quality of life and restricted mobility despite pain medication. Conventional treatment options for OA can alleviate the symptoms, but cartilage regeneration is not achieved. Regenerative medicine is increasingly becoming the focus of osteoarthritis research because regenerative cells contribute to tissue healing. The aim of this study was to measure the treatment success of regenerative cell therapy in dogs with chronic osteoarthritis that were no longer responding to pain therapy. The regenerative cells were obtained from the dogs' fatty tissue, processed and applied to the affected joints. Based on the veterinary lameness examination, gait analysis and owner questionnaires, it was assessed whether the regenerative cell therapy led to an improvement in the dogs' lameness and pain. In addition, the animals were X-rayed to measure the progression of osteoarthritis. Some patients showed a therapy-related improvement in lameness and pain. However, the therapy did not have an effect on all patients.



Citation: Bruns, Y.; Schroers, M.; Steigmeier-Raith, S.; Waselau, A.-C.; Reese, S.; Meyer-Lindenberg, A. Efficacy of a Single Injection of Stromal Vascular Fraction in Dogs with Elbow Osteoarthritis: A Clinical Prospective Study. *Animals* **2024**, *14*, 2803. <https://doi.org/10.3390/ani14192803>

Academic Editor: Gerardo Fatone

Received: 20 August 2024

Revised: 10 September 2024

Accepted: 25 September 2024

Published: 28 September 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: This study aimed to assess the efficacy of a single intra-articular injection of autologous stromal vascular fraction (SVF) in dogs with chronic lameness due to advanced elbow osteoarthritis (OA) that were unresponsive to conventional drug therapy. In this clinical, prospective, non-blinded, single-center study, twenty-three dogs received autologous SVF derived from falciform adipose tissue. Primary outcome measures over the six-month study period included clinical-orthopedic and radiographic examinations, objective gait analysis and validated owner questionnaires. In 19 of 23 joints, no progression of OA was visible radiographically. Peak vertical force improved significantly at three months and vertical impulse at six months after the injection compared to baseline. Over 33% of dogs demonstrated treatment-related improvements in lameness based on objective gait analysis. Owner questionnaires indicated significant improvement in clinical signs throughout the study period and 26% of dogs showed treatment-related improvements in pain scores according to the Canine Brief Pain Inventory. No side effects were reported. These findings suggest that autologous regenerative cell therapy may provide a promising treatment option for dogs with advanced OA that do not respond to conventional drug therapy. However, the treatment did not improve the clinical symptoms in all dogs, so it cannot be recommended for all patients.

Keywords: osteoarthritis; cubarthrosis; regenerative cells; stromal vascular fraction; dog

1. Introduction

Osteoarthritis (OA) is a degenerative joint disease that can be extremely painful and is estimated to affect 15% of dogs in Germany [1]. In North America, approx. 20% of

young dogs and approx. 80% of geriatric dogs (>8 years old) develop OA [2]. There are many causes of OA of large joints, but developmental diseases such as dysplasia of the hip or elbow joints are often the underlying cause of OA [3]. Elbow dysplasia (ED) is the most common disease of the elbow joint in dogs [4] and despite various surgical treatment options, the development of cubarthrosis cannot be prevented [5,6]. If there is an incongruence in the elbow joint, joint debridement and the removal of loose cartilage fragments are usually not sufficient to prevent the development of medial compartment syndrome [7]. OA leads to degeneration of the articular cartilage, subchondral bone sclerosis, osteophytosis, synovitis and degeneration of ligaments [8]. Dogs with chronic OA often suffer from pain and limited mobility despite treatment with medication, resulting in a reduced quality of life [9,10].

They are often treated with non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) [4,11]; however, a large number of side effects of the common NSAIDs are known [12]. Knowledge of the side effects of NSAIDs is widespread among veterinarians and owners and leads to a certain caution in giving NSAIDs in the long term. According to Belshaw et al. (2016), this could lead to inadequate analgesia in dogs with OA [13]. Therefore, it seems important to use other analgesic therapeutics if necessary. There are other pharmaceutical treatment options, but these showed a weaker analgesic effect than NSAIDs, were sometimes insufficient in dogs with OA or currently lack sufficient evidence [11,14–17]. Monoclonal antibodies against nerve growth factor are also increasingly being used, and although they reduce the OA-associated pain [18], they cannot repair cartilage damage itself.

Mesenchymal stem cells (MSCs) have become the focus of OA therapies [19]. They can differentiate into various mesodermal cell types [20]. Although MSCs may differentiate into chondrocytes, they appear to have a beneficial effect in OA due to their immunomodulatory paracrine capacity rather than in replacing cartilage damage [21]. In vivo, MSCs migrate to the site of inflammation (so-called homing) and release bioactive factors [22]. They have a trophic, immunomodulatory and anti-inflammatory effect at the site of inflammation [23–25].

An experimental study demonstrated a reduced inflammatory response in a canine cruciate ligament rupture model after intra-articular injection of allogeneic adMSCs compared to the control group by measuring TNF- α , COX-2, IL-1 β , iNOS and IFN- γ [26]. After intravenous and intra-articular injection of autologous bone marrow mesenchymal stem cells (BM-MSCs), reduced systemic and joint inflammation, including reduced IFN- γ and CrP concentration, was measured [27]. In addition, experimental studies in dogs have shown that MSC improves cartilage regeneration according to histomorphological criteria [26,28,29]. The efficacy of MSCs in the treatment of OA in dogs has also been demonstrated after clinical application [30–32]. However, treatment of canine elbow OA with regenerative cells has shown contradictory results in previous studies, as measured by owner surveys and gait analysis [33–35].

As there are no consistent results in the available literature regarding the efficacy of MSC in dogs with elbow OA, the aim of this prospective clinical study was to evaluate regenerative cell therapy in dogs with advanced OA of the elbows over a period of six months. All dogs showed chronic lameness despite previous surgical and medical treatment of medial compartment disease. A modern and time-saving point-of-care procedure (ARC TM system, InGeneron GmbH, Houston, TX, USA) was used to obtain the SVF, which was established in the in-house laboratory.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design

This study was conducted as a clinical, prospective, non-randomized, non-blinded, single-center study at the Clinic for Small Animal Surgery and Reproduction, LMU Munich, and was approved by the Ethics Committee of the Centre of Faculty of Veterinary Medicine of the LMU (No. 31-20-06-2014).

Dogs with chronic lameness due to previously diagnosed and surgically treated medial compartment disease of the elbow joint were included in the study. To be included, the dogs had to exhibit lameness, for at least three months, that no longer showed any improvement despite adequate pain therapy. A specific treatment protocol was not mandatory prior to inclusion in the therapy, as the choice of painkiller was based on the dogs' tolerance. There was no requirement for the dogs to have received nutraceuticals or physiotherapy prior to inclusion in the study; the dogs receiving these treatments prior to inclusion had to continue them constantly during the study in order to rule out any influence on the study results. Study patients who underwent bilateral arthroscopy for medial compartment disease and had bilateral OA with clinical relevance were included in the study for bilateral treatment with SVF. Unilaterally operated dogs that had only unilateral clinically relevant OA were treated unilaterally with SVF. Elbow joint surgery had to have been performed at least six months previously and joint injections in the elbow joint had to have been performed at least three months previously.

Further inclusion criteria were a body weight between 15 kg and a maximum of 60 kg, and a minimum age of nine months. Prerequisites for participation in the study were good general health and unchanged laboratory parameters. They had to show clear lameness (visual lameness score grade two or higher) on one limb, as well as a positive pain response and pathological findings such as crepitation or joint filling. As part of the preliminary examination, the affected elbow joint and that of the contralateral side were examined orthopedically and radiographically. A modified OA score according to the protocol of the International Elbow Working Group (IEWG score) of one was a prerequisite for inclusion in the study. During the gait analysis examination, the dogs had to be cooperative and show clear, measurable lameness on one limb, even if they were affected on both sides. Dogs that were uncooperative on the treadmill were excluded. Exclusion from the study was also due to unclear or unmeasurable lameness of the forelimb during the orthopedic or gait analysis examination. Other orthopedic diseases of the affected limb, of other limbs or of the spine with clinical relevance also led to exclusion from the study. If bone fragments were found radiologically in the affected joint despite a previous CT scan, the dogs were also excluded from the study. If the study patients developed other orthopedic diseases during the study period, they were excluded from further follow-up examinations.

The owners had to agree to return to the follow-up examinations for up to six months after the injection of the regenerative cells. Early termination of the study was possible after examination of the dog for three months if the owners wanted to have another therapy carried out for the dog and the regenerative cell therapy had led to a worsening of or no improvement in lameness and pain. The owners had to agree not to start any other therapy during the study period and to discuss changes in medication with the study leaders. No patient received permanent analgesic therapy during the study period; emergency administration of an NSAID or metamizol was permitted in the event of worsening lameness or clear signs of pain. This had to be discontinued at least 24 h before all examinations.

2.2. Cell Collection, Preparation and Injection

This study used the "Transpose RT cell therapy" from InGeneron (InGeneron GmbH, Munich, Germany), which can be used to obtain stromal vascular fraction (SVF) from the adipose tissue of dogs for autologous regenerative cell therapy. The falciform fat tissue was routinely removed under intubation anesthesia in the operating room of the Clinic for Small Animal Surgery and Reproduction, LMU Munich, using diazepam (0.5 mg/kg i.v.) (Solupam[®], Dechra Veterinary Products Deutschland GmbH, Aulendorf, Germany), Propofol (2–4 mg/kg i.v.) (Narcofol, CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Germany), Isoflurane (1.2–1.4 volume%) (Isoflurane CP[®], Fa. CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Germany) and, for analgesia, methadone (0.2 mg/kg i.v.) (Comfortan[®], Dechra Veterinary Products Deutschland GmbH, Aulendorf, Germany). During the induction of anesthesia, the dogs received a single intravenous dose of amoxicillin—clavulanic acid (12.5 mg/kg i.v.) (AmoxiClav, CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Germany).

The adipose tissue (approx. 10 g) was removed via an incision (3–5 cm) in the linea alba. It was immediately transported to the in-house laboratory in a sterile centrifuge tube for further processing. After a routine closure of the laparotomy wound, the patients received a single dose of buprenorphine (0.02 mg/kg i.v.) (Buprenodale, Dechra Veterinary Products Deutschland GmbH, Aulendorf, Germany). The fatty tissue was sterilely minced in the in-house laboratory and processed in a sterile centrifuge tube according to the manufacturer's instructions (InGeneron GmbH, München, Deutschland). The production of the SVF has already been described in more detail by the authors [36,37]. The SVF was mixed with 1 mL of Ringer's lactate per joint to be treated. A quantity of 0.1 mL of the prepared solution was isolated using a live/dead stain and tested for cell count and viability (Trypan blue and SYTO™ 13, Invitrogen, (Waltham, MA, USA)). A quantity of 0.9 mL of the solution was injected into the affected elbow joint from the medial side under sterile conditions immediately after preparation [37].

The dogs were discharged on the same day and the owners were given an NSAID as required and amoxicillin—clavulanic acid (Amoxiclav, CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Germany) (12.5 mg/kg two times a day) for a further 5 days. The stitches were removed after 10–14 days.

2.3. Outcome Measures

During the orthopedic examination, the elbow joints were palpated to detect any increased joint filling. The joints were passively manipulated so that restricted mobility as well as painful defensive reactions or crepitation could be recorded.

To determine the visual lameness score, the patients were presented by the owners walking and trotting on a lead. The degree of lameness was assessed by the same two veterinarians (first and second author) according to the following scheme: Grade 0: no lameness; Grade 1: indistinct low grade; Grade 2: low grade; Grade 3: moderate grade (the limb is not loaded intermittently); and Grade 4: high grade. A clinical improvement in lameness was defined as an improvement of at least one degree of lameness.

The elbow joints were X-rayed in a slightly extended position in the mediolateral and craniocaudal beam paths without sedation (Siemens Axiom Luminos dRF). Cubarthrosis was assessed using a modified IEWG scheme, which was extended by two grades (Table 1) (www.vet-iewg.org (accessed on 20 July 2024)) [38]. To assess osteoarthritis progression, the X-ray images from the follow-up examinations were compared with those from the preliminary examination.

Table 1. Modified, extended IEWG scheme.

OA Score	Osteophytes in mm
0	0
1	0–2
2	2–5
3	5–7
4	7–9
5	>9

All treadmill examinations were carried out in the clinic's gait analysis laboratory.

For the computerized gait analysis, the dogs were walked on a force plate treadmill with 4 Kistler force plates (Spezialelemente Deutsche Sporthochschule Köln, Cologne, Germany) to measure the ground reaction forces, namely peak vertical force (PVF) and vertical impulse (VI). To record the kinematics, reflective markers were attached to 46 specific bone points on the forelimbs, hind limbs and spine of the dogs, which were recorded by an optical system (Vicon MX3+, Vicon Nexus Motion Systems Ltd., Oxford, UK, Quadruped Locomotion Software, in-house software of Ludwig-Maximilians Universität München). The kinematic data were analyzed to determine the range of motion (ROM) of the joints. For reporting and measurement, the present study followed the best practices for gait analysis

from Conzemius et al. [39]. For all trials, the dogs were led by the same person, either the owner or a clinic employee. The optimum speed was adapted to the size and ability of each dog during the preliminary examination and used for all further gait analyses. Before all recordings, the dogs were allowed to acclimate to the treadmill until they showed a steady and natural gait pattern. Then, at least two trials of three uninterrupted minutes each were recorded. All recordings while walking and trotting were analyzed. As many steps as possible were evaluated from each trial and analyzed in graphic and numeric form. Only those steps indicating even and correct foot placement on the force plates were selected and statistically evaluated. The ground reaction forces, namely peak vertical force (PVF) and vertical impulse (VI), as well as the range of motion (ROM) were recorded. The individual therapy success of each patient was calculated with the evaluation of PVF and VI. This was defined according to Conzemius et al. (2012) as the increase in PVF and VI by $\geq 5\%$ at follow-up examinations compared to the examination before treatment [40].

In addition to the objective and subjective lameness examinations, the owners were interviewed at each examination using three different validated questionnaires to record their assessment of their dogs' lameness and pain. The Hudson Visual Analogue Scale (HVAS) was used to assess lameness and painfulness in dogs [41]. The HVAS Mood Score and the HVAS Movement Score were recorded, as well as the sum of the two as the HVAS Sum Score. In addition, the Liverpool Osteoarthritis in Dogs Index (LOAD) was used, in which a score is calculated from the sum of all questions [42]. The LOAD was not used from the outset of the study. It was introduced in the study protocol after the study commenced. OA-associated chronic pain was recorded using the Canine Brief Pain Inventory (CBPI) [43]. It is divided into two parts: Pain Severity Score (PSS) and Pain Interference Score (PIS). This questionnaire can also be used to record the individual patient's therapy success [44]. Treatment success is defined as a decrease of ≥ 1 in PSS and ≥ 2 in PIS recorded during a follow-up examination in relation to the preliminary examination, which had to record values of >2 in PSS and PIS [44].

2.4. Follow-Up Examinations

Follow-up examinations were carried out at one, two, three, six months and, if voluntarily, at twelve months after injection. A general clinical examination, a clinical orthopedic examination and a gait analysis were carried out at all five time points. As part of each follow-up examination, the owners were asked about the side effects of the therapy. In addition, the owners completed the questionnaires described above. For this purpose, they were not informed of the results of their last questionnaires to prevent any influence. At the follow-up examinations three and six, as well as twelve months after injection, the elbow joints were X-rayed to assess osteoarthritis progression.

2.5. Statistical Analysis

Statistical analysis was conducted using IBM SPSS 28.0 software (IBM Deutschland GmbH, Böblingen, Germany). First, a descriptive statistical analysis of the baseline data (body weight, height at withers, age, OA score, number of injected cells) was performed. After testing for normal distribution with the Shapiro—Wilk test, the mean and standard deviation were calculated for normally distributed data. For non-normally distributed data, the median and interquartile range (IQR) were reported instead. Additionally, the range (minimum and maximum) was determined for all data.

The results of the follow-up examinations were compared with the results of the initial examination to make a statement on the development of lameness and pain after treatment. In animals treated on both sides, only the limb in which greater lameness was measured before treatment using computer-assisted gait analysis was included in the statistical analysis. The main aim of the study was therefore describing the time course of the various outcome measures (owner interview, veterinary examination with recording of the visual lameness score, computer-assisted gait analysis examination). The analysis was carried out using mixed generalized linear models. The mixed models included the

dog as a grouping variable with a random intercept. Time was analyzed as a categorical variable due to different time intervals between measurements, with the time point prior to cell injection set as the reference. Covariates included in each model were weight, height at withers, age, OA score and the number of regenerative cells injected. The effects of these covariates themselves were of minor importance; rather, their corrective influence on the time course was important. The only exception to the linear model was the five-point scale of the visual lameness score. For technical reasons, an ordinal mixed model without consideration of the individual dogs had to be used as a random effect for this multinomial parameter. Patients who withdrew from the study early (after 3 months at the earliest) were also considered in the statistical analysis. To calculate the standard deviation, the results were defined in terms of the population. For all statistical analyses, $p < 0.05$ was considered significant.

3. Results

3.1. Patients

The study included 23 dogs (28 treated elbow joints: 18 dogs were treated unilaterally/5 dogs were treated bilaterally) (Table 2). Ten were female (eight of which were neutered) and thirteen were male (one of which was neutered). The following breeds were represented: seven Labrador Retrievers, five mixed breeds, three Golden Retrievers, two German Shepherds, two Flat-coated Retrievers, one Rottweiler, one Magyar Vizslar, one Black Russian Terrier and one Briard. Two dogs (both treated unilaterally) dropped out of the study after three months because the regenerative cell therapy had no effect on them and the owners wanted to have another therapy carried out. Twenty-one dogs could be followed up with for six months. In addition, six dogs could be followed up with twelve months after treatment.

Table 2. Morphometric data of the 23 dogs.

	Minimum	Maximum	Mean ± Standard Deviation
Weight	18.0 kg	60.0 kg	34.5 ± 10.6 kg
Height at withers	45.0 cm	70.0 cm	59.7 ± 6.6 cm
OA Score	1	5	3.3 ± 1.1
Number of injected regenerative cells	3.5 Mio	14.5 Mio	8.2 ± 3.0 Mio
	Min	Max	Median interquartile range
Age	0.8 years	12.0 years	8.3 2.8–10.0 years

3.2. Visual Lameness Score

The visual lameness score of the dogs decreased descriptively over time. Significant improvements were measurable at one month ($p = 0.002$), two months ($p < 0.001$) and six months ($p = 0.002$) (Table 3). On average, the patients had a score of 2.3 at the preliminary examination. Nine patients improved permanently over all follow-up examinations. Thirteen patients showed an improvement at individual follow-up examinations based on the visual lameness score. One patient showed no improvement on the lameness score.

Table 3. Statistical analysis of the owner questionnaires: Liverpool Osteoarthritis in Dogs Index (LOAD), Canine Brief Pain Inventory (CBPI) and Hudson Visual Analogue Scale (HVAS). Visual lameness score and gait analysis. Peak vertical force (PVF), vertical impulse (VI) and range of motion (ROM). Significance ($p < 0.05$) is marked with *.

	LOAD	CBPI PSS	CBPI PIS	HVAS Mood Score	HVAS Movement Score	HVAS Sum Score	Visual Lameness Score	PVF	VI	ROM
1 month	$p < 0.001$ *	$p = 0.002$ *	$p < 0.001$ *	$p = 0.105$	$p < 0.001$ *	$p = 0.001$ *	$p = 0.002$ *	$p = 0.080$	$p = 0.157$	$p = 0.453$
2 months	$p < 0.001$ *	$p = 0.0002$ *	$p < 0.001$ *	$p = 0.017$ *	$p < 0.001$ *	$p < 0.001$ *	$p < 0.001$ *	$p = 0.100$	$p = 0.108$	$p = 0.019$ *
3 months	$p < 0.001$ *	$p = 0.017$ *	$p = 0.003$ *	$p = 0.046$ *	$p < 0.001$ *	$p = 0.002$ *	$p = 0.070$	$p = 0.049$ *	$p = 0.089$	$p = 0.554$
6 months	$p = 0.004$ *	$p = 0.020$ *	$p = 0.005$ *	$p = 0.064$	$p = 0.007$ *	$p = 0.010$ *	$p = 0.002$ *	$p = 0.100$	$p = 0.037$ *	$p = 0.242$
12 months	$p = 0.006$ *	$p = 0.020$ *	$p = 0.009$ *	$p = 0.033$ *	$p = 0.015$ *	$p = 0.011$ *	$p = 0.366$	$p = 0.090$	$p = 0.077$	$p = 0.863$

3.3. Osteoarthritis Progression

The OA scores of the dogs are listed in Table 4. The mean OA score for the cohort was 3.30. Four joints showed radiographic evidence of osteoarthritis progression by one grade during the study period. The other dogs showed no radiographic evidence of osteoarthritis progression.

Table 4. Modified and expanded IEWG score of the joints that were statistically analyzed.

OA Score	Osteophytes in mm	Number of Joints
0	0	0
1	0.1–2	1
2	2.1 bis 5	4
3	5.1 bis 7	7
4	7.1 bis 9	9
5	>9	2
Total		23

3.4. Gait Analysis

The mean PVF of all treated limbs increased descriptively over time. At the three-month follow-up, there was a significant increase compared to baseline ($p = 0.049$) (Table 3). The VI of the treated limbs increased descriptively over time and there was a significant increase six months post-injection compared to baseline ($p = 0.037$) (Table 3, Table 5). The mean values of the PVF and VI at the individual time points of the study are summarized in Table 5. During the entire study period, >33% of the dogs showed an improvement in VI and PVF of $\geq 5\%$ (Table 6). The mean ROM of the treated elbow joints increased descriptively over time after therapy, with a maximum at two months post-injection (Table 3). This time point was the only one that showed a significant improvement compared to baseline ($p = 0.019$) (Table 3). The ground reaction forces could not be evaluated in three follow-up examinations (one two-month follow-up and two three-month follow-ups) due to technical problems with the treadmill.

Table 5. Results of PVF and VI at all examinations. Summarized as mean \pm standard deviation.

	Baseline	1 Month	2 Months	3 Months	6 Months	12 Months
Number of dogs examined	23	23	22	21	21	6
PVF	52.8 ± 6.8	54.9 ± 5.5	55.0 ± 8.5	55.4 ± 7.4	54.7 ± 6.6	56.1 ± 4.6
VI	17.2 ± 2.2	18.0 ± 2.3	18.3 ± 3.1	18.3 ± 2.2	18.5 ± 2.8	19.1 ± 1.7

Table 6. Number of dogs in % and absolute terms that showed a clinical improvement in PVF and VI of $\geq 5\%$ at the individual follow-up examinations in relation to the baseline examination.

(Number of Dogs Examined)	1 Month (23)	2 Months (22)	3 Months (21)	6 Months (21)	12 Months (6)
PVF and VI $\geq 5\%$	8 (35%)	9 (41%)	7 (33%)	9 (43%)	3 (50%)

3.5. Owner Questionnaires

The HVAS Sum Score decreased descriptively over time. There were significant improvements in the HVAS Sum Score at all time points post-injection compared to baseline. Individually, there were significant improvements in the HVAS Mood Score at two and three months after treatment. The HVAS Movement Score improved significantly at all time points (Table 3). The LOAD score decreased descriptively over time. Significant improvements were recorded at all time points compared to baseline (Table 3). There was a lack of questionnaire data for four patients of this questionnaire. Both the CBPI PSS and the CBPI PIS improved significantly at all time points compared to baseline. There was an improvement in both scores (CBPI PSS and PIS) after therapy in 26% of patients after one month, 35% of patients after two months, 26% of patients after three months and 30% of patients after six months (Table 7). The questionnaires of one dog for the control examination after six months were missing and could therefore not be evaluated for the statistics.

Table 7. Number of dogs in % and absolute terms that showed a clinical improvement based on the CBPI at the individual follow-up examinations in relation to the baseline examination.

Time Point (Number of Dogs)	1 Month (23)	2 Months (23)	3 Months (23)	6 Months (20)	12 Months (6)
Number of dogs (in%)	6 (26%)	8 (35%)	6 (26%)	6 (30%)	4 (67%)

3.6. Long-Term Follow-Up

Six dogs could be followed up with twelve months post-injection. The mean visual lameness score improved from 2.3 pre-injection (of these six dogs) to 1.5 at twelve months post-injection, although the improvement was not significant compared to pre-injection. All questionnaires showed a significant improvement compared to baseline. The individual evaluation of the CBPI PSS and PIS revealed a therapy-related improvement in 66.7% of dogs (Table 7).

No kinetic or kinematic parameters improved significantly at this time point compared to baseline (Table 3). Additionally, 50% of the dogs showed an improvement in VI and PVF of $\geq 5\%$ (Table 6).

3.7. Covariates

Weight had a significant influence on ROM ($p = 0.017$), HVAS Mood ($p = 0.014$), HVAS Sum ($p = 0.044$) and CBPI PIS ($p = 0.032$). The results showed that a higher weight was associated with an increasing ROM, as well as higher HVAS Mood and Sum Scores, and a higher CBPI PIS. The height at the withers of the dogs had no significant influence on the results of the investigations. Age had a significant influence on ROM ($p = 0.013$), HVAS Mood ($p < 0.001$), Visual Lameness Score ($p < 0.001$), LOAD ($p = 0.002$), HVAS Movement Score ($p < 0.001$), HVAS Sum Score ($p < 0.001$), CBPI PIS ($p < 0.001$) and CBPI PSS ($p < 0.001$). It was found that the older the animals were at the initial examination, the higher their ROM and the higher their scores on the LOAD, HVAS Movement and Sum Score, as well as CBPI PIS and PSS owner questionnaires. However, it was also found that the older the dogs were, the higher their visual lameness scores were. The OA score had a significant influence on the CBPI PIS ($p = 0.003$). Dogs with a high OA score tended to have a lower CBPI

PIS. The injected regenerative cell count had a significant influence on the PVF ($p = 0.002$), HVAS Movement Score ($p = 0.020$) and HVAS Sum Score ($p = 0.021$). The higher the injected cell count, the higher the PVF values and the lower the HVAS Movement and Sum Scores.

3.8. Side Effects of the Therapy

No wound healing disorders or side effects of the therapy were observed in any of the dogs.

4. Discussion

Dogs suffering from advanced OA are often in pain and frequently show chronic lameness [9,10]. Many patients cannot be helped despite surgery or conventional medical pain therapy. The aim of this study was therefore to measure the treatment success of autologous SVF in dogs with chronic lameness due to elbow osteoarthritis. The dogs no longer responded to pain therapy. To measure treatment success, orthopedic examination, gait analysis and owner questionnaires were carried out before treatment and at one, two, three and six months after treatment. At 3-month intervals, the dogs were examined radiographically to check for osteoarthritis progression.

The patient cohort included 23 dogs, some with bilateral elbow osteoarthritis. All dogs had developed elbow osteoarthritis due to medial compartment disease and had already been treated surgically. Two patients dropped out of the study after three months because the therapy did not result in an improvement in lameness (as measured by gait analysis and orthopedic examination). The visual lameness score improved significantly at one month, two months and six months after treatment (Table 3). The treatment success of regenerative cell therapy based on the subjective lameness examination could be demonstrated in the present study, which is comparable to the results of Black et al. (2008), who measured significant improvements in veterinary examination scores over a period of six months after treatment with autologous MSCs in dogs with elbow osteoarthritis [45]. Due to different examination methods in both studies, a direct comparison is not permissible, so the results can only show a tendency. The classification of lameness using a numerical scale, as used in the present study, did not always prove to be reliable in comparison to computer-assisted gait analysis in other studies [46,47]. This is also consistent with the results of the present study. The gait analysis and lameness examinations showed significant improvements at different follow-up examinations. The gait analysis examination showed significant improvements after three (PVF) and six months (VI), while the visual lameness examination showed an improvement in lameness after one and two months compared to baseline. A placebo effect was also demonstrated in the lameness examination by a veterinarian [40], which could also have influenced the results of the subjective visual lameness score in the present, non-blinded study. Significant improvements in gait analysis could only be measured at one time point for PVF and VI. Significance for PVF was measured at the three-month examination and for VI at the six-month examination. The gait analysis of the dogs is the only objective method in the present non-blinded study. The permanent treatment success of SVF in dogs with advanced cubarthritis could not be objectively proven. However, on average, more force was permanently transferred to the treated limb over the study period of six months. In previous research, the gait analysis after regenerative cell therapy in dogs with elbow osteoarthritis showed contradictory results. Pavarotti et al. (2020) measured a significant improvement in PVF and VI at all follow-up examinations up to six months after the treatment of 21 dogs with osteoarthritis in various joints with autologous SVF from the fatty tissue of the lumbar region (without enzymatic preparation) [35]. In contrast, Olsen et al. (2019) measured no significant improvements in PVF and VI in the study period of six months [33]. They treated 13 dogs with elbow osteoarthritis with allogeneic MSCs from the inguinal adipose tissue, which were injected intravenously three times at two-week intervals. Similarly, Kim et al. (2019) did not measure any significant improvements after treating 28 dogs with cubarthritis [34]. The dogs showed chronic lameness and were treated intra-articularly with allogeneic umbilical mesenchymal stem cells. Since

all the studies mentioned used different procedures for the harvesting and preparation of the regenerative cells, the treatment success of regenerative cells in dogs with elbow osteoarthritis could depend on the procedure. For the treatment of dogs with allogeneic regenerative cells, the cells are often cultivated *in vitro* and cryopreserved, whereas in the present study, the regenerative cells were harvested and prepared immediately before injection without cryopreservation. Cryopreservation of MSCs can reduce the quality of MSC products [48]. The collection site of the adipose tissue could also influence the *in vivo* properties of the cell products. Several studies have demonstrated different *in vitro* properties of MSCs depending on the tissue source [49–51]. The source of adipose tissue, the preparation method, including cryopreservation if necessary, and the type of injection are therefore variables that could have a significant effect on treatment success. Further studies should compare the therapeutic effects of these different methods in dogs with elbow osteoarthritis.

In the present study, cut-off values were used to record an improvement in lameness as a result of therapy for each dog [40]. A spontaneous improvement in PVF and VI of $\geq 5\%$ in dogs with OA is rare [39] and is therefore suitable for defining a therapy-related improvement in lameness over the study period [40].

Based on the individual evaluations, 33% to 43% of the dogs in the present study showed a therapy-related improvement in lameness over the entire study period. Punzón et al. (2022) also used these cut-off values to measure the effect of equine umbilical stem cell xenotransplantation in dogs with hip and elbow osteoarthritis over three months [52]. In the aforementioned study, the dogs had orthopedic discomfort and showed no improvement for at least three months before enrollment in the study. After treatment with xenogeneic umbilical stem cells, 41% to 63% of the dogs showed treatment-related improvement, while 8% to 21% of the dogs improved in the placebo group of the aforementioned study. More dogs responded to xenogeneic umbilical stem cell therapy in the study by Punzón et al. (2022) than to autologous regenerative cell therapy in the present study. However, dogs with coxarthrosis were also treated in the aforementioned study, and this may have influenced the results. In more than half of the dogs in the present study, there was no measurable improvement in lameness based on gait analysis during the study period. These dogs may not have responded to the cell therapy. No improvement may have been possible in these dogs because the osteophyte growths have led to an irreversible mechanical restriction. The present study included dogs that no longer responded to conservative pain therapy and most of the dogs suffered from severe cubarthrosis. A successful therapy was therefore not only defined by a lameness examination in the present study, but also by questionnaires, which subjectively examine the effects of cell therapy on the dogs' pain and quality of life.

However, in previous research, the results of questionnaires investigating the effect of regenerative cell therapy in dogs with OA are contradictory. While Kim et al. (2019) using the HVAS and Pavarotti et al. (2020) using the CBPI measured an improvement after treatment [34,35], the results of the LOAD and CBPI in the study by Olsen et al. (2019) showed no improvement after treatment [33]. The results of the LOAD of the present study showed a significant improvement in lameness at all time points compared to baseline. This questionnaire has a clear focus on recording the lameness of the dogs and the result is consistent with the result of the HVAS Movement Score, which also improved significantly at all follow-up examinations. A significant improvement in the HAVS Sum Score was also measured at all time points. This is comparable to the study by Kim et al. (2019), which examined the effect of umbilical stem cells in dogs with cubarthrosis [34]. In the six-month study period, the HVAS Mood and Sum Scores improved significantly at all time points, but not the HVAS Movement Score. In the present study, the HVAS Mood Score improved significantly only at the follow-up examinations after two and three months. Based on the results of the HVAS in the present study, the owners therefore saw a clear improvement in the dogs' gait (the HVAS Movement Score improved significantly at all time points), but not always an improvement in the dogs' quality of life and mood. The evaluation of the CBPI PSS and PIS showed a significantly improved pain situation in the dogs during the entire

study period. When the dogs were individually evaluated according to the thresholds described by Brown and Farrar (2013) [44], an individual therapeutic improvement in the CBPI was observed in 26% to 35% of the dogs at all time points. However, this success rate is only comparable to the success rate of the placebo group in an allogeneic MSC study by Kim et al. (2019), where 14% to 28% of the dogs in the placebo group improved, while 46% to 54% of the dogs treated with stem cells improved during the six-month study period [34]. Since the dogs in the present study suffered from chronic pain and were no longer responding to analgesic drug therapy, this could have led to a lower success rate in the present study compared to the study by Kim et al. (2019). Based on the CBPI, treatment with autologous regenerative cells in dogs with advanced cubarthritis may not be recommended, as it only led to therapeutic pain relief in a few patients. A direct comparison with a placebo group is missing in the present study and represents a major limitation. Due to the chronic pain and advanced stage of the disease in patients, a placebo group was not included for ethical reasons.

To determine the long-term effect of regenerative cell therapy, all patients were invited to a 12-month follow-up, but only six patients attended. The validity of the results is therefore limited. The evaluation of the LOAD and HVAS showed a significant improvement compared to the baseline examination. The gait analysis and the visual lameness score of the orthopedic examination were not significant at this time point. The mean results of PVF and VI at the 12-month check-up, compared to before the therapy, also suggest a sustained increase in the force applied to the limbs (these six patients had a mean PVF of 52.4 and VI of 17.4 at the pre-examination, compared to a PVF of 56.1 and VI of 19.1 at the 12-month check-up). The evaluation of the CBPI showed a therapeutic improvement in 67% of the patients (4/6). Additionally, 50% of the dogs showed an improvement in VI and PVF of $\geq 5\%$. In three of the six dogs, a long-term effect of the treatment with regenerative cells could be demonstrated. So far, the effect of therapy in dogs with cubarthritis using MSCs has been investigated up to six months after injection [34,45,53]. Therefore, long-term results over 12 months with a larger number of study patients would be useful to obtain results with higher evidence.

The analysis of the covariates showed that dogs with a higher weight tended to show an improvement in ROM and the questionnaires. The results of this study contrast with previous research findings and the reason for this is unclear. A limitation of the present study was that only the weight of the dogs was recorded and not their body condition score. Pro-inflammatory cytokines are increasingly released in obesity and appear to drive the inflammatory process further in OA [54]. In addition, the injection of MSCs promoted cartilage degeneration and synovial inflammation in rats that were fed a high-fat diet and suffered from mild metabolic syndrome. The authors of the study concluded that patients with mild metabolic syndrome do not respond to MSC therapy [55]. Therefore, it should be investigated in follow-up studies whether the BCS also has an influence on the success of regenerative cell therapy in dogs.

Dogs of an older age tended to show an improvement in ROM and the questionnaires. This result contrasts with previous research. Cartilage degenerates with age and has a reduced regenerative capacity and functionality [56]. In addition, stem cells from younger dogs are better suited for therapy, as they have a higher proliferation capacity and differentiation rate [49].

A higher number of injected regenerative cells was a prognostic factor associated with an increasing PVF, as well as lower HVAS Movement and Sum Scores during the study period. The higher the number of injected cells, the greater the positive effect of the therapy. Before each injection, 0.1 mL of the stromal vascular fraction was taken and tested for cell count and viability. The *in vitro* properties of the injected regenerative cells in the present study were not examined, and this is a further limitation of the study.

The dogs with a higher OA score showed an increasing impairment in quality of life during the study period, as measured by the CBPI PIS. However, the study cohort had a very high mean OA score of 3.0. Only four patients had an OA score of 2 and there was

one patient with an OA score of 1. Further studies should therefore investigate whether a lower OA score leads to greater therapeutic success, as dogs with a low OA score were under-represented in the present study.

The point-of-care procedure for regenerative cell harvesting and processing was carried out in the clinic. The required amount of falciform fat tissue could have been harvested from each dog. The harvesting of subcutaneous fat tissue to obtain regenerative cells would also have been possible and would not have required a laparotomy. However, it is not possible to remove sufficient subcutaneous fat tissue from all patients, as the amount of subcutaneous fat depends on the patient's BCS [50]. But, opening the abdominal cavity is a surgical procedure that is associated with risks. These include the risk of anesthesia and the risk of infection, wound healing disorders and bleeding, so this invasive procedure cannot be recommended for every patient. In the present study, no dog experienced complications. Using the procedure, an average of 8.33 million regenerative cells were isolated and injected intra-articularly. The lowest number of cells was 3.51 million and the maximum number was 14.46 million. The number of autologous ADMSCs injected in the published studies in dogs varies from 1 million to >15 million cells [57], so a comparatively large number of regenerative cells could be obtained in the present study. The use of allogeneic stem cells is significantly less invasive for the patient and involves no additional risk of anesthesia. The "Committee for Medicinal Products for Veterinary Use" (CMPV) of the European Medicine Agency (EMA) has described screenings for infectious diseases in its guidelines for allogeneic cell therapy in dogs, as it carries the risk of transmitting diseases. In addition, antibodies against allogeneic and xenogeneic MSCs have been detected in dogs after multiple MSC transplantations, but these did not lead to side effects of the therapy [58]. But, allogeneic and xenogeneic transplantation has already been successfully carried out in dogs with cubarthritis and has been described as safe [52,58]. An advantage of allogeneic cell therapy over autologous cell therapy is that the characteristics of the donor can be determined, ensuring that the MSCs are of the highest possible quality [49].

5. Conclusions

The results of the orthopedic examination and questionnaires showed that a single injection of autologous SVF significantly improved the lameness and quality of life of dogs with chronic lameness due to progressive, therapy-resistant elbow osteoarthritis over six months. This was not confirmed by the objective gait analysis, as no permanent significant improvement in lameness was measured. However, some of the dogs showed a therapeutically induced improvement in lameness and pain over six months. Further studies should investigate the effect of SVF in dogs with advanced OA.

Author Contributions: Conceptualization, M.S., S.S.-R., A.-C.W. and A.M.-L.; Data curation, Y.B., M.S., S.S.-R., A.-C.W. and A.M.-L.; Formal analysis, Y.B. and S.R.; Funding acquisition, A.M.-L.; Investigation, Y.B., M.S., S.S.-R., A.-C.W. and A.M.-L.; Methodology, Y.B., M.S., A.-C.W. and A.M.-L.; Project administration, M.S. and A.M.-L.; Validation, S.R.; Visualization, Y.B. and S.R.; Writing—original draft, Y.B.; Writing—review and editing, M.S., S.S.-R., A.-C.W., S.R. and A.M.-L. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The animal study protocol was approved by the Ethics Committee of the Centre of the Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University Munich (No. 31-20-06-2014).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data that support the findings of this study are available from the corresponding author.

Acknowledgments: The authors acknowledge the support by the company InGeneron Inc., Houston, TX, USA, which provided the ARC Tissue Processing Unit, Matrase Reagents and Processing Kits for the study patients.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

References

1. Brunnberg, L.; Waibl, H.; Lehmann, J. *Lahmheiten beim Hund: Untersuchen/Erkennen/Behandeln*; Procane Claudio Brunnberg: Kleinmachnow, Germany, 2014.
2. Johnston, S.A. Osteoarthritis. Joint anatomy, physiology, and pathobiology. *Vet. Clin. N. Am. Small Anim. Pract.* **1997**, *27*, 699–723. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Meeson, R.L.; Todhunter, R.J.; Blunn, G.; Nuki, G.; Pitsillides, A.A. Spontaneous dog osteoarthritis—A One Medicine vision. *Nat. Rev. Rheumatol.* **2019**, *15*, 273–287. [[CrossRef](#)]
4. O'Neill, D.G.; Brodbelt, D.C.; Hodge, R.; Church, D.B.; Meeson, R.L. Epidemiology and clinical management of elbow joint disease in dogs under primary veterinary care in the UK. *Canine Med. Genet.* **2020**, *7*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Barthelemy, N.P.; Griffon, D.J.; Ragetly, G.R.; Carrera, I.; Schaeffer, D.J. Short- and long-term outcomes after arthroscopic treatment of young large breed dogs with medial compartment disease of the elbow. *Vet. Surg.* **2014**, *43*, 935–943. [[CrossRef](#)]
6. Michelsen, J. Canine elbow dysplasia: Aetiopathogenesis and current treatment recommendations. *Vet. J.* **2013**, *196*, 12–19. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Vezzoni, A.; Benjamino, K. Canine Elbow Dysplasia: Ununited Anconeal Process, Osteochondritis Dissecans, and Medial Coronoid Process Disease. *Vet. Clin. N. Am. Small Anim. Pract.* **2021**, *51*, 439–474. [[CrossRef](#)]
8. Loeser, R.F.; Goldring, S.R.; Scanzello, C.R.; Goldring, M.B. Osteoarthritis: A disease of the joint as an organ. *Arthritis Rheum.* **2012**, *64*, 1697–1707. [[CrossRef](#)]
9. Rychel, J.K. Diagnosis and treatment of osteoarthritis. *Top. Companion Anim. Med.* **2010**, *25*, 20–25. [[CrossRef](#)]
10. Sinusas, K. Osteoarthritis: Diagnosis and treatment. *Am. Fam. Physician* **2012**, *85*, 49–56.
11. Pye, C.; Bruniges, N.; Peffers, M.; Comerford, E. Advances in the pharmaceutical treatment options for canine osteoarthritis. *J. Small Anim. Pract.* **2022**, *63*, 721–738. [[CrossRef](#)]
12. Monteiro-Steagall, B.P.; Steagall, P.V.; Lascelles, B.D. Systematic review of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced adverse effects in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* **2013**, *27*, 1011–1019. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Belshaw, Z.; Asher, L.; Dean, R.S. The attitudes of owners and veterinary professionals in the United Kingdom to the risk of adverse events associated with using non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) to treat dogs with osteoarthritis. *Prev. Vet. Med.* **2016**, *131*, 121–126. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Budsberg, S.C.; Torres, B.T.; Kleine, S.A.; Sandberg, G.S.; Berjeski, A.K. Lack of effectiveness of tramadol hydrochloride for the treatment of pain and joint dysfunction in dogs with chronic osteoarthritis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2018**, *252*, 427–432. [[CrossRef](#)]
15. Malek, S.; Sample, S.J.; Schwartz, Z.; Nemke, B.; Jacobson, P.B.; Cozzi, E.M.; Schaefer, S.L.; Bleedorn, J.A.; Holzman, G.; Muir, P. Effect of analgesic therapy on clinical outcome measures in a randomized controlled trial using client-owned dogs with hip osteoarthritis. *BMC Vet. Res.* **2012**, *8*, 185. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Budsberg, S.C.; Kleine, S.A.; Norton, M.M.; Sandberg, G.S. Comparison of two inhibitors of E-type prostanoid receptor four and carprofen in dogs with experimentally induced acute synovitis. *Am. J. Vet. Res.* **2019**, *80*, 1001–1006. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. de Salazar Alcala, A.G.; Gioda, L.; Dehman, A.; Beugnet, F. Assessment of the efficacy of firocoxib (Previcox®) and grapiprant (Galliprant®) in an induced model of acute arthritis in dogs. *BMC Vet. Res.* **2019**, *15*, 309. [[CrossRef](#)]
18. Corral, M.J.; Moyaert, H.; Fernandes, T.; Escalada, M.; Kira, S.T.J.; Walters, R.R.; Stegemann, M.R. A prospective, randomized, blinded, placebo-controlled multisite clinical study of bedinvetmab, a canine monoclonal antibody targeting nerve growth factor, in dogs with osteoarthritis. *Vet. Anaesth. Analg.* **2021**, *48*, 943–955. [[CrossRef](#)]
19. Whitworth, D.J.; Banks, T.A. Stem cell therapies for treating osteoarthritis: Present or premature? *Vet. J.* **2014**, *202*, 416–424. [[CrossRef](#)]
20. Horwitz, E.M.; Le Blanc, K.; Dominici, M.; Mueller, I.; Slaper-Cortenbach, I.; Marini, F.C.; Deans, R.J.; Krause, D.S.; Keating, A.; International Society for Cellular, T. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* **2005**, *7*, 393–395. [[CrossRef](#)]
21. Liang, X.; Ding, Y.; Zhang, Y.; Tse, H.F.; Lian, Q. Paracrine mechanisms of mesenchymal stem cell-based therapy: Current status and perspectives. *Cell Transplant.* **2014**, *23*, 1045–1059. [[CrossRef](#)]
22. Meirelles Lda, S.; Fontes, A.M.; Covas, D.T.; Caplan, A.I. Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2009**, *20*, 419–427. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Caplan, A.I.; Dennis, J.E. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *J. Cell Biochem.* **2006**, *98*, 1076–1084. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Freitag, J.; Bates, D.; Boyd, R.; Shah, K.; Barnard, A.; Huguenin, L.; Tenen, A. Mesenchymal stem cell therapy in the treatment of osteoarthritis: Reparative pathways, safety and efficacy—A review. *BMC Musculoskelet. Disord.* **2016**, *17*, 230. [[CrossRef](#)]
25. Sasaki, A.; Mizuno, M.; Mochizuki, M.; Sekiya, I. Mesenchymal stem cells for cartilage regeneration in dogs. *World J. Stem Cells* **2019**, *11*, 254–269. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Yun, S.; Ku, S.K.; Kwon, Y.S. Adipose-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma synergistically ameliorate the surgical-induced osteoarthritis in Beagle dogs. *J. Orthop. Surg. Res.* **2016**, *11*, 9. [[CrossRef](#)]

27. Muir, P.; Hans, E.C.; Racette, M.; Volstad, N.; Sample, S.J.; Heaton, C.; Holzman, G.; Schaefer, S.L.; Bloom, D.D.; Bleedorn, J.A.; et al. Autologous Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Modulate Molecular Markers of Inflammation in Dogs with Cruciate Ligament Rupture. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0159095. [CrossRef]
28. Kazemi, D.; Shams Asenjan, K.; Dehdilani, N.; Parsa, H. Canine articular cartilage regeneration using mesenchymal stem cells seeded on platelet rich fibrin: Macroscopic and histological assessments. *Bone Jt. Res.* **2017**, *6*, 98–107. [CrossRef]
29. Yamasaki, S.; Hashimoto, Y.; Takigami, J.; Terai, S.; Mera, H.; Nakamura, H.; Wakitani, S. Effect of the direct injection of bone marrow mesenchymal stem cells in hyaluronic acid and bone marrow stimulation to treat chondral defects in the canine model. *Regen. Ther.* **2015**, *2*, 42–48. [CrossRef]
30. Cabon, Q.; Febre, M.; Gomez, N.; Cachon, T.; Pillard, P.; Carozzo, C.; Saulnier, N.; Robert, C.; Livet, V.; Rakic, R.; et al. Long-Term Safety and Efficacy of Single or Repeated Intra-Articular Injection of Allogeneic Neonatal Mesenchymal Stromal Cells for Managing Pain and Lameness in Moderate to Severe Canine Osteoarthritis Without Anti-inflammatory Pharmacological Support: Pilot Clinical Study. *Front. Vet. Sci.* **2019**, *6*, 10. [CrossRef]
31. Guercio, A.; Di Marco, P.; Casella, S.; Cannella, V.; Russotto, L.; Purpari, G.; Di Bella, S.; Piccione, G. Production of canine mesenchymal stem cells from adipose tissue and their application in dogs with chronic osteoarthritis of the humeroradial joints. *Cell Biol. Int.* **2012**, *36*, 189–194. [CrossRef]
32. Shah, K.; Drury, T.; Roic, I.; Hansen, P.; Malin, M.; Boyd, R.; Sumer, H.; Ferguson, R. Outcome of Allogeneic Adult Stem Cell Therapy in Dogs Suffering from Osteoarthritis and Other Joint Defects. *Stem Cells Int.* **2018**, *2018*, 7309201. [CrossRef] [PubMed]
33. Olsen, A.; Johnson, V.; Webb, T.; Santangelo, K.S.; Dow, S.; Duerr, F.M. Evaluation of Intravenously Delivered Allogeneic Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Elbow Osteoarthritis in Dogs: A Pilot Study. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* **2019**, *32*, 173–181. [CrossRef] [PubMed]
34. Kim, S.E.; Pozzi, A.; Yeh, J.C.; Lopez-Velazquez, M.; Au Yong, J.A.; Townsend, S.; Dunlap, A.E.; Christopher, S.A.; Lewis, D.D.; Johnson, M.D.; et al. Intra-Articular Umbilical Cord Derived Mesenchymal Stem Cell Therapy for Chronic Elbow Osteoarthritis in Dogs: A Double-Blinded, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Front. Vet. Sci.* **2019**, *6*, 474. [CrossRef] [PubMed]
35. Pavarotti, G.S.; Hivernaud, V.; Brincin, M.; Roche, R.; Barreau, P.; Festy, F.; Gauthier, O. Evaluation of a Single Intra-Articular Injection of Autologous Adipose Tissue for the Treatment of Osteoarthritis: A Prospective Clinical Study in Dogs. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* **2020**, *33*, 258–266. [CrossRef] [PubMed]
36. Schroers, M.; Bruns, Y.; Waselau, A.C.; Steigmeier-Raith, S.; Meyer-Lindenberg, A. Autologous point-of-care stromal vascular fraction transplantation in dogs with advanced osteoarthritis of the knee and hip joints. *Aust. Vet. J.* **2024**, *102*, 41–46. [CrossRef]
37. Schroers, M.; Schermuck, Y.; Steigmeier-Raith, S.; Waselau, A.-C.; Meyer-Lindenberg, A. Rapid autologous point-of-care transplantation of the adipose-derived stromal vascular fraction in a dog with cubarthritis. *Vet. Rec. Case Rep.* **2022**, *10*, e498. [CrossRef]
38. International Elbow Working Group (IEWG) Protocol. Available online: <http://www.vet-iewg.org/wp-content/uploads/2017/02/proceedings2011iewg.pdf> (accessed on 20 July 2024).
39. Conzemius, M.G.; Torres, B.T.; Muir, P.; Evans, R.; Krotscheck, U.; Budsberg, S. Best practices for measuring and reporting ground reaction forces in dogs. *Vet. Surg.* **2022**, *51*, 385–396. [CrossRef]
40. Conzemius, M.G.; Evans, R.B. Caregiver placebo effect for dogs with lameness from osteoarthritis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2012**, *241*, 1314–1319. [CrossRef]
41. Hudson, J.T.; Slater, M.R.; Taylor, L.; Scott, H.M.; Kerwin, S.C. Assessing repeatability and validity of a visual analogue scale questionnaire for use in assessing pain and lameness in dogs. *Am. J. Vet. Res.* **2004**, *65*, 1634–1643. [CrossRef]
42. Hercock, C.A.; Pinchbeck, G.; Giejda, A.; Clegg, P.D.; Innes, J.F. Validation of a client-based clinical metrology instrument for the evaluation of canine elbow osteoarthritis. *J. Small Anim. Pract.* **2009**, *50*, 266–271. [CrossRef]
43. Brown, D.C.; Boston, R.C.; Coyne, J.C.; Farrar, J.T. Development and psychometric testing of an instrument designed to measure chronic pain in dogs with osteoarthritis. *Am. J. Vet. Res.* **2007**, *68*, 631–637. [CrossRef] [PubMed]
44. Brown, D.C.; Bell, M.; Rhodes, L. Power of treatment success definitions when the Canine Brief Pain Inventory is used to evaluate carprofen treatment for the control of pain and inflammation in dogs with osteoarthritis. *Am. J. Vet. Res.* **2013**, *74*, 1467–1473. [CrossRef] [PubMed]
45. Black, L.L.; Gaynor, J.; Adams, C.; Dhupa, S.; Sams, A.E.; Taylor, R.; Harman, S.; Gingerich, D.A.; Harman, R. Effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on clinical signs of chronic osteoarthritis of the elbow joint in dogs. *Vet. Ther.* **2008**, *9*, 192–200. [PubMed]
46. Quinn, M.M.; Keuler, N.S.; Lu, Y.; Faria, M.L.; Muir, P.; Markel, M.D. Evaluation of agreement between numerical rating scales, visual analogue scoring scales, and force plate gait analysis in dogs. *Vet. Surg.* **2007**, *36*, 360–367. [CrossRef]
47. Waxman, A.S.; Robinson, D.A.; Evans, R.B.; Hulse, D.A.; Innes, J.F.; Conzemius, M.G. Relationship between objective and subjective assessment of limb function in normal dogs with an experimentally induced lameness. *Vet. Surg.* **2008**, *37*, 241–246. [CrossRef]
48. Di Bella, S.; Cannella, V.; Mira, F.; Di Marco, P.; Lastra, A.; Gucciardi, F.; Purpari, G.; Guercio, A. The Effect of a 7 Year-Long Cryopreservation on Stemness Features of Canine Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells (cAD-MSC). *Animals* **2021**, *11*, 1755. [CrossRef]
49. Volk, S.W.; Wang, Y.; Hankenson, K.D. Effects of donor characteristics and ex vivo expansion on canine mesenchymal stem cell properties: Implications for MSC-based therapies. *Cell Transplant.* **2012**, *21*, 2189–2200. [CrossRef] [PubMed]

50. Bahamondes, F.; Flores, E.; Cattaneo, G.; Bruna, F.; Conget, P. Omental adipose tissue is a more suitable source of canine Mesenchymal stem cells. *BMC Vet. Res.* **2017**, *13*, 166. [[CrossRef](#)]
51. Guercio, A.; Di Bella, S.; Casella, S.; Di Marco, P.; Russo, C.; Piccione, G. Canine mesenchymal stem cells (MSCs): Characterization in relation to donor age and adipose tissue-harvesting site. *Cell Biol. Int.* **2013**, *37*, 789–798. [[CrossRef](#)]
52. Punzon, E.; Salguero, R.; Totusaus, X.; Mesa-Sanchez, C.; Badiella, L.; Garcia-Castillo, M.; Pradera, A. Equine umbilical cord mesenchymal stem cells demonstrate safety and efficacy in the treatment of canine osteoarthritis: A randomized placebo-controlled trial. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2022**, *260*, 1947–1955. [[CrossRef](#)]
53. Vilar, J.M.; Batista, M.; Morales, M.; Santana, A.; Cuervo, B.; Rubio, M.; Cugat, R.; Sopena, J.; Carrillo, J.M. Assessment of the effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells in osteoarthritic dogs using a double blinded force platform analysis. *BMC Vet. Res.* **2014**, *10*, 143. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Guilak, F. Biomechanical factors in osteoarthritis. *Best. Pract. Res. Clin. Rheumatol.* **2011**, *25*, 815–823. [[CrossRef](#)]
55. Warmink, K.; Rios, J.L.; Varderdou-Minasian, S.; Torres-Torrillas, M.; van Valkengoed, D.R.; Versteeg, S.; Eijkelkamp, N.; Weinans, H.; Korthagen, N.M.; Lorenowicz, M.J. Mesenchymal stem/stromal cells-derived extracellular vesicles as a potentially more beneficial therapeutic strategy than MSC-based treatment in a mild metabolic osteoarthritis model. *Stem Cell Res. Ther.* **2023**, *14*, 137. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Buckwalter, J.A.; Mankin, H.J.; Grodzinsky, A.J. Articular cartilage and osteoarthritis. *Instr. Course Lect.* **2005**, *54*, 465–480. [[PubMed](#)]
57. Brondeel, C.; Pauwelyn, G.; de Bakker, E.; Saunders, J.; Samoy, Y.; Spaas, J.H. Review: Mesenchymal Stem Cell Therapy in Canine Osteoarthritis Research: “Experientia Docet” (Experience Will Teach Us). *Front. Vet. Sci.* **2021**, *8*, 668881. [[CrossRef](#)]
58. Punzon, E.; Garcia-Castillo, M.; Rico, M.A.; Padilla, L.; Pradera, A. Local, systemic and immunologic safety comparison between xenogeneic equine umbilical cord mesenchymal stem cells, allogeneic canine adipose mesenchymal stem cells and placebo: A randomized controlled trial. *Front. Vet. Sci.* **2023**, *10*, 1098029. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

IV. DISKUSSION

Osteoarthrose ist eine weit verbreitete Erkrankung und kann trotz intensiver Forschungsarbeit bisher nicht geheilt werden. Schätzungsweise 15 % der Hunde leiden in Deutschland an OA (BRUNNBERG, 2014), während die Zahl in Nordamerika auf 20% der jungen Hunde und 80% der geriatrischen Hunde (>8 Jahre alt) geschätzt wird (JOHNSTON, 1997). Die ED ist die häufigste Erkrankung des Ellbogengelenkes des Hundes (O'NEILL et al., 2020) und stellt damit die häufigste Grunderkrankung für die Cubarthrose dar. Die regenerative Zelltherapie ist eine Behandlungsoption für Hunde mit Osteoarthrose. Ziel dieser Studie war es, den Behandlungserfolg der regenerativen Zelltherapie bei Hunden mit Cubarthrose zu messen, die eine chronische Lahmheit aufwiesen, bereits operativ behandelt waren und auf eine medikamentöse Schmerztherapie nicht mehr ansprachen. Zur Gewinnung der SVF wurde den Studienpatienten falciformes Fettgewebe entnommen, das im hauseigenen Labor mit dem ARC-System von InGeneron enzymatisch aufbereitet wurde. Dadurch konnten die regenerativen Zellen aus dem Fettgewebe isoliert werden. Anschließend wurden sie den Studienpatienten intraartikulär in die betroffenen Ellbogengelenke injiziert. Der Behandlungserfolg wurde mittels tierärztlicher Lahmheitsuntersuchung, Ganganalyse und Befragung der Besitzer gemessen. Zusätzlich wurden die Patienten im Abstand von drei Monaten röntgenologisch untersucht, um eine Progression der OA zu überprüfen.

Die Patientenkohorte umfasste 23 Hunde mit einer Cubarthrose als Folge einer medialen Kompartimenterkrankung (BRUNS et al., 2024). Studienpatienten, die beidseitig arthroskopiert wurden und beidseitig unter einer Cubarthrose mit klinischer Relevanz litten, wurden beidseitig behandelt. Einseitig operierte Hunde, die nur auf einer Seite eine klinisch relevante OA hatten, wurden einseitig behandelt, auch wenn es bei ihnen im kontralateralen Ellbogengelenk osteoarthrotische Veränderungen gab. Eine Behandlung erfolgte ausschließlich, wenn es hierfür eine klinische Indikation gab. Bei beidseitig behandelten Hunden wurde nur die Gliedmaße für die statistische Auswertung berücksichtigt, die bei der Voruntersuchung in der orthopädischen Untersuchung und der Ganganalyse die stärkere Lahmheit aufwies.

Zwei Patienten sind nach drei Monaten aus der Studie ausgestiegen, da die Therapie keine Verbesserung der Lahmheit, gemessen an der Ganganalyse und der orthopädischen Untersuchung, ergab (BRUNS et al., 2024).

In der vorliegenden Studie wurden die Patienten zur Erfassung des visuellen Lahmheitsscores von ihren Haltern an der Leine vorgeführt. Die Lahmheiten wurden anhand einer numerischen Skala von eins (keine Lahmheit) bis vier (dauerhafte Entlastung der Gliedmaße) erfasst. Die Auswertung des visuellen Lahmheitsscores ergab eine signifikante Verbesserung der Patienten nach einem Monat, zwei Monaten und sechs Monaten nach der Behandlung. Ein Behandlungserfolg der regenerativen Zelltherapie anhand der subjektiven Lahmheitsuntersuchung konnte in der vorliegenden Studie nachgewiesen werden (BRUNS et al., 2024). Dies ist vergleichbar mit den Ergebnissen von Black et al. (2008), die nach der Behandlung mit autologen MSC bei Hunden mit Cubarthrose signifikante Verbesserungen der Tierärztlichen Untersuchungsscores über einen Zeitraum von sechs Monaten gemessen haben (BLACK et al., 2008). Die Untersuchungsmethoden in beiden genannten Studien unterscheiden sich, weshalb ein direkter Vergleich der Ergebnisse nicht möglich ist. Die Lahmheitseinteilung anhand einer numerischen Skala, wie in der vorliegenden Studie verwendet, erwies sich im Vergleich zur computergestützten Ganganalyse in anderen Studien als nicht immer zuverlässig (QUINN et al., 2007; WAXMAN et al., 2008). Verglichen miteinander zeigten in der vorliegenden Studie sowohl die Ganganalyse als auch die visuelle Lahmheitsuntersuchung zu einzelnen Folgeuntersuchungen eine Verbesserung im Vergleich zur Voruntersuchung. Die ganganalytische Untersuchung ergab signifikante Verbesserungen von PVF nach drei und von VI nach sechs Monaten, während die visuelle Lahmheitsuntersuchung bereits nach einem und zwei Monaten eine Verbesserung der Lahmheit zeigte (BRUNS et al., 2024). Für die Lahmheitsuntersuchung eines Tierarztes wurde jedoch ein Placeboeffekt nachgewiesen (CONZEMIUS und EVANS, 2012), der auch in der vorliegenden, nicht verblindeten Studie auf diese Untersuchungsmethode Einfluss genommen haben könnte.

Die ganganalytische Untersuchung ermöglicht eine objektive Lahmheitserfassung durch die Auswertung der Kinetik und Kinematik des Gangbildes und wird daher bevorzugt in der veterinären Osteoarthroseforschung eingesetzt (BUDSBERG, 2001). In der computergestützten Ganganalyse konnte bei Hunden mit Cubarthrose eine geringere Belastung der erkrankten Vordergliedmaße gemessen werden (BOCKSTAHLER et al., 2009). Eine dauerhafte signifikante Verbesserung der Lahmheit nach der regenerativen Zelltherapie konnte anhand der Ganganalyse nicht nachgewiesen werden (BRUNS et al., 2024). Eine signifikante Verbesserung von PVF konnte nach drei Monaten und von VI nach sechs Monaten nach der Injektion nachgewiesen werden (BRUNS et al., 2024). Die

Studienpatienten nahmen über den Untersuchungszeitraum von sechs Monaten im Mittel dauerhaft mehr Kraft auf die behandelte Gliedmaße auf (BRUNS et al., 2024). Die ganganalytische Untersuchung nach regenerativer Zelltherapie bei Hunden mit Cubarthrose ergab in der zugänglichen Literatur widersprüchliche Ergebnisse. Pavarotti et al. (2020) konnten nach der Behandlung von 21 Hunden mit Osteoarthrose in verschiedenen Gelenken mit autologer SVF aus dem Fettgewebe der Lumbalregion (ohne enzymatische Aufbereitung) eine signifikante Verbesserung des PVF und des VI zu allen Untersuchungsterminen bis sechs Monate nach Injektion im Vergleich zur Voruntersuchung nachweisen (PAVAROTTI et al., 2020). Im Gegensatz dazu konnten Olsen et al. (2019) keine signifikanten Verbesserungen von PVF und VI durch die regenerative Zelltherapie bei Hunden mit Cubarthrose im Studienzeitraum von sechs Monaten nachweisen (OLSEN et al., 2019). Sie behandelten 13 Hunde mit allogenen MSC aus dem inguinalen Fettgewebe. Diese wurden drei Mal im Abstand von zwei Wochen intravenös injiziert. Ebenso konnten Kim et al. (2019) nach der intraartikulären Injektion von allogenen umbilikalen MSC bei 28 Hunden keine signifikante Verbesserung über den Studienzeitraum messen (KIM et al., 2019). Da in den genannten Studien sehr unterschiedliche Verfahren zur Gewinnung und Aufbereitung der regenerativen Zellen verwendet wurden, könnte der Erfolg der Behandlung mit regenerativen Zellen bei der Cubarthrose von der Wahl des Verfahrens abhängen.

Für die Behandlung von Hunden mit allogenen regenerativen Zellen werden diese häufig *in vitro* kultiviert und kryokonserviert, während in der vorliegenden Studie die regenerativen Zellen direkt vor der Injektion entnommen und aufbereitet wurden, so dass auf eine Kryokonservierung verzichtet werden konnte (BRUNS et al., 2024). Die Kryokonservierung kann die Qualität von MSC-Produkten mindern (DI BELLA et al., 2021). Ebenso könnte der Entnahmeort des Fettgewebes die *in-vivo* Eigenschaften der Zellprodukte und damit den Behandlungserfolg beeinflussen. Mehrere Studien haben nachgewiesen, dass die *in-vitro* Eigenschaften der MSC abhängig vom Entnahmeort des Gewebes zur Gewinnung der MSC sind (VOLK et al., 2012; GUERCIO et al., 2013; BAHAMONDES et al., 2017). Einschlusskriterien wie die Fettgewebsquelle, das Aufbereitungsverfahren mit ggf. Kryokonservierung und die Art der Injektion sind daher Variablen, die einen erheblichen Effekt auf den Behandlungserfolg haben könnten. In weiteren Studien sollte der therapeutische Effekt verschiedener Methoden bei Hunden mit Cubarthrose verglichen werden.

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob einzelne Hunde auf die regenerative

Zelltherapie ansprechen, auch wenn die gepoolte Auswertung der Ganganalyse nur zu zwei Zeitpunkten signifikante Verbesserungen zeigte. Hierfür wurden die Grenzwerte von Conzemius et al. (2012) genutzt. Um diese festzulegen haben Conzemius et al. (2012) 58 Hunde mit OA mit einem Placebo behandelt und über einen Zeitraum von 42 Tagen in regelmäßigen Abständen ganganalytisch untersucht. Sie stellten hierbei fest, dass eine spontane Verbesserung von PVF und VI von $\geq 5\%$ selten ist (CONZEMIUS und EVANS, 2012) und sich daher eignet, um eine therapiebedingte Verbesserung zu definieren (CONZEMIUS et al., 2022). Anhand dieser individuellen Auswertung zeigten im gesamten Studienzeitraum 33 % bis 44 % der Hunde in der vorliegenden Studie eine therapiebedingte Verbesserung der Lahmheit (BRUNS et al., 2024). Punzón et al. (2022) nutzten ebenso die Grenzwerte von Conzemius et al. (2012), um die Wirkung der Xenotransplantation von equinen umbilikalen MSC bei Hunden mit Hüftgelenks- und Cubarthrose über drei Monate zu untersuchen (PUNZON et al., 2022).

Die Hunde der genannten Studie wiesen vor der Behandlung eine deutliche Lahmheit auf und zeigten seit mindestens 3 Monaten keine Verbesserung. Nach der Behandlung mit xenogenen umbilikalen Stammzellen wurde bei 41 % bis 63 % der Hunde eine therapiebedingte Verbesserung gemessen, während sich in der Placebogruppe der genannten Studie 8 % bis 21 % der Hunde verbesserten. Es sprachen mehr Hunde in der Studie von Punzón et al. (2022) auf die xenogene umbilikale Stammzelltherapie, als auf die autologe regenerative Zelltherapie der vorliegenden Studie an. Jedoch wurden in der genannten Studie Hunde mit Cub- und Coxarthrose behandelt, sodass dies das Ergebnis der Studie beeinflusst haben könnte. 20-30% der Patienten in der vorliegenden Studie zeigten eine therapiebedingte Verbesserung der Lahmheit durch die regenerative Zelltherapie, jedoch wurde bei der Mehrheit der Patienten keine Verbesserung der Lahmheit gemessen (BRUNS et al., 2024). Hierfür könnte die Auswahl der Patienten eine Rolle gespielt haben. Die Studienpatienten der vorliegenden Studie hatten eine fortgeschrittene OA mit starken strukturellen Veränderungen des Gelenkes und osteophytären Zubildungen. Der mittlere Arthrosegrad nach einem modifizierten IEWG Schema betrug 3,3 (BRUNS et al., 2024). Sieben Patienten hatten einen Arthrosegrad 3, neun Patienten hatten einen Arthrosegrad 4 und zwei Patienten hatten einen Arthrosegrad 5 (BRUNS et al., 2024). Bei diesen Patienten ist von einer Versteifung des Gelenkes auszugehen. Die Auswertung der Kinematik ergab, dass die ROM zwar deskriptiv über die Zeit nach der Therapie anstieg, nach zwei Monaten post injectionem eine signifikante Erhöhung im Vergleich zur Voruntersuchung gemessen wurde. Diese Ergebnisse könnten

gleichzeitig auch die kinetischen Ergebnisse beeinflusst haben, da eine Versteifung des Gelenks zu einer persistierenden Lahmheit führt, die durch eine analgetische Therapie nicht mehr beeinflusst werden kann. Osteophytäre Zubildungen können zu einer Bewegungseinschränkung des Gelenkes führen, die nicht mehr reversibel ist.

Ein Therapieerfolg wurde daher nicht ausschließlich durch eine Lahmheitsuntersuchung definiert, sondern zusätzlich durch eine Besitzerbefragung, die die Auswirkungen der Zelltherapie auf die Schmerzhaftigkeit und Lebensqualität der Hunde untersucht.

Die in der vorliegenden Studie genutzten validierten Fragebögen erfassen die chronischen Schmerzen und Veränderungen der Lahmheit von Hunden mit Osteoarthritis (HUDSON et al., 2004; BROWN et al., 2013b; BROWN et al., 2013a; WALTON et al., 2013). In der eigenen Studie beurteilten die Patientenbesitzer die Lahmheit und Schmerzhaftigkeit ihrer Hunde vor und nach der Therapie zu allen Untersuchungszeitpunkten. Der Hudson Visual Analogue Scale (HVAS) erfasst die Lahmheit und Schmerzhaftigkeit von Hunden mit orthopädischen Erkrankungen (HUDSON et al., 2004). Er hat sich als besonders zuverlässig zur Erfassung einer milden bis moderaten Lahmheit gezeigt (HUDSON et al., 2004) und es konnte eine Korrelation zwischen der Ganganalyse (PVF) und dem Fragebogen gemessen werden (QUINN et al., 2007). Da der HVAS nicht spezifisch für die Erfassung der Lahmheit bei Hunden mit Osteoarthritis entwickelt wurde, wurde in der eigenen Studie zusätzlich der Liverpool Osteoarthritis in Dogs Index (LOAD) verwendet. Der LOAD erfasst die Schwere der Lahmheit bei Hunden mit Osteoarthritis und wurde an 26 Hunden mit Cubarthritis validiert (HERCOCK et al., 2009). Um zusätzlich einen validierten Fragebogen zu nutzen, dessen Schwerpunkt auf der Erfassung von chronischen Schmerzen bei Hunden mit OA liegt, wurde der CBPI genutzt (BROWN et al., 2007). Zusätzlich wurde mit Hilfe dieses Fragebogens der individuelle Therapieerfolg für jeden Hund ausgewertet (BROWN et al., 2013b). Der Behandlungserfolg wurde definiert in einer Abnahme von ≥ 1 für PSS und ≥ 2 für PIS einer Folgeuntersuchung bezogen auf die Voruntersuchung (diese musste > 2 in PSS und PIS sein).

Die Ergebnisse von Besitzerbefragungen, die die Wirkung der regenerativen Zelltherapie bei Hunden mit OA untersuchten, sind bisher widersprüchlich. Während Kim et al. (2019) mittels des HVAS und Pavarotti et al. (2020) mittels des CBPI's eine Verbesserung nach der Behandlung messen konnten (KIM et al., 2019; PAVAROTTI et al., 2020), die Ergebnisse des LOAD und CBPI in der Studie von Olsen et al. (2019) keine Verbesserung nach der

Behandlung ergeben (OLSEN et al., 2019). Die Ergebnisse des LOAD der vorliegenden Studie ergaben eine signifikante Verbesserung der Lahmheit zu allen Zeitpunkten im Vergleich zu den Messungen vor der Regenerativen Zellinjektion (BRUNS et al., 2024). Dass die Besitzer der vorliegenden Studie eine deutliche Verbesserung der Lahmheit anhand des LOADs beobachteten, wurde durch den HVAS Movement Score bestätigt, der sich zu allen Folgeuntersuchungen signifikant verbesserte (BRUNS et al., 2024). In der vorliegenden Studie wurde eine signifikante Verbesserung des HVAS Sum Scores zu allen Zeitpunkten gemessen (BRUNS et al., 2024). Das Ergebnis ist vergleichbar mit der Studie von Kim et al., die die Wirkung von umbilikalen Stammzellen bei Hunden mit Cubarthrose untersuchten (KIM et al., 2019). Im Untersuchungszeitraum von sechs Monaten der genannten Studie verbesserten sich der HVAS Mood und Sum Score signifikant zu allen Zeitpunkten, nicht jedoch der HVAS Movement Score. In der vorliegenden Studie verbesserte sich der HVAS Mood Score zu den Folgeuntersuchungen nach zwei und drei Monaten signifikant (BRUNS et al., 2024). Anhand dieses Fragebogens sahen die Patientenbesitzer der vorliegenden Studie eine deutliche Verbesserung des Ganges der Hunde (der HVAS Movement Score verbesserte sich signifikant zu allen Zeitpunkten), jedoch nicht immer eine Verbesserung der Lebensqualität der Hunde. Die Studienpatienten der vorliegenden Studie litten unter einer chronischen Cubarthrose, die vor der Therapie bereits einen starken negativen Einfluss auf die Lebensqualität genommen hat. Eine medikamentelle Analgesie hatte bei ihnen nicht mehr zu einer sichtbaren Verbesserung der Erkrankung geführt. Auch die regenerative Zelltherapie konnte nicht die negativen Auswirkungen der Cubarthrose auf die Lebensqualität reduzieren (BRUNS et al., 2024).

Die Auswertung des CBPI (Sowohl CBPI PSS als auch PIS) ergab eine signifikant verbesserte Schmerzsituation der Studienpatienten während des gesamten Studienzeitraumes. Bei der Auswertung der Hunde der vorliegenden Studie nach den von Brown und Farrar (2013) beschriebenen Grenzwerten (BROWN et al., 2013b), ergab sich eine individuelle therapeutisch bedingte Verbesserung des CBPI bei 26% bis 35% der Hunde zu allen Zeitpunkten (BRUNS et al., 2024).

Diese Erfolgsrate ist vergleichbar mit der Erfolgsrate der Placebogruppe in einer allogenen MSC-Studie von Kim et al. (2019), in der sich 14 % bis 28 % der Hunde der Placebogruppe verbesserten. 46 % bis 54 % der mit MSC behandelten Hunde verbesserten sich in der genannten Studie über den Studienzeitraum von sechs Monaten (KIM et al., 2019). Da es sich bei den Hunden der vorliegenden Studie um chronische Schmerzpatienten handelte, die

bereits nicht mehr auf eine medikamentelle analgetische Therapie ansprechen, könnte dies zu einer niedrigeren Erfolgsrate der eigenen Studie im Vergleich zur Studie von Kim et al. (2019) geführt haben. Der direkte Vergleich zu einer Placebogruppe in der vorliegenden Studie fehlt und stellt eine Limitation dieser Studie dar (BRUNS et al., 2024). Aufgrund der fortgeschrittenen Erkrankung wurde aus ethischen Gründen auf eine Placebogruppe verzichtet. Gemessen am CBPI ist die Behandlung mit autologen regenerativen Zellen bei Hunden mit fortgeschrittener Cubarthrose nur eingeschränkt empfehlenswert, da sie nur bei einzelnen Patienten zu einer therapeutischen Schmerzlinderung führte. OA ist eine komplexe Erkrankung, deren Behandlung anspruchsvoll ist und individuell an den Patienten angepasst werden muss. Eine adäquate Schmerzlinderung für jeden Patienten ist bisher auch beim Menschen nicht möglich (YU et al., 2022) und stellt beim Hund eine große Herausforderung dar.

In der humanmedizinischen OA-Forschung werden Befragungen bezüglich der Symptome der Osteoarthrosepatienten als Goldstandard empfohlen (THORBORG et al., 2010). In der tiermedizinischen Forschung wird der Zustand des Tieres über den Patientenbesitzer eingeschätzt. Ein Placeboeffekt ist für die Besitzerbefragung nachgewiesen worden (CONZEMIUS und EVANS, 2012) und dieser dürfte auch die Ergebnisse der vorliegenden Studie beeinflusst haben (BRUNS et al., 2024). Die Diskrepanz zwischen der Besitzerbefragungen und der objektiven Ganganalyse, wie sie in der vorliegenden Studie gemessen wurde, wurden bereits in verschiedenen Studien beschrieben (WALTON et al., 2013; KIM et al., 2019; OLSEN et al., 2019). Die Laufbanduntersuchung und der CBPI haben verglichen miteinander eine geringe Korrelation (BROWN et al., 2013a). Die Patientenbesitzer achten eher auf ein verändertes Verhalten als auf die Lahmheit ihrer Tiere, sodass die beiden Untersuchungsmethoden nicht miteinander korrelieren können (BROWN et al., 2013a).

Die Ganganalyse kann jedoch die Besitzerbefragung nicht ersetzen, da die Besitzer die Hunde in ihrer natürlichen Umgebung beurteilen und daher den Effekt einer Therapie auf die Lebensqualität und Bewegungsfreude der Hunde beurteilen können. Die ganganalytische Untersuchung und die Lahmheitsuntersuchung bilden das Gangbild der Tiere zu einem einzelnen Zeitpunkt, unter Stress und innerhalb einer für sie ungewohnten Umgebung ab. Die Patientenbesitzerbefragung kann daher auch Veränderungen im Verhalten der Tiere widerspiegeln, die eine Verbesserung darstellen, die über die Ganganalyse und Lahmheitsuntersuchung des Tierarztes nicht abzubilden sind (BROWN et al., 2013a).

Aufgrund des bereits beschriebenen Placeboeffekts sollte die Besitzerbefragung jedoch nur ergänzend zur Ganganalyse betrachtet werden und vorsichtig interpretiert werden.

Die OA der Ellenbogengelenke wurde mit Hilfe eines an die Studie angepassten IEWG-Schemas eingeteilt (BRUNS et al., 2024). Bei vier Hunden kam es zu einer röntgenologisch nachweisbaren Arthroseprogression um mindestens ein Grad während des Studienzeitraumes von zwölf Monaten (BRUNS et al., 2024). Aufgrund der Modifizierung lassen sich diese Zahlen nicht mit anderen Studien vergleichen. Durch die fehlende Kontrollgruppe kann zudem keine Aussage darüber getroffen werden, inwieweit dieses Ergebnis einen Behandlungserfolg darstellt.

Um einen Langzeiteffekt der regenerativen Zelltherapie zu bestimmen, wurden in der vorliegenden Studie alle Patienten zu einer 12 Monatskontrolle eingeladen, zu der jedoch nur sechs Patienten erschienen (BRUNS et al., 2024). Die Aussagekraft der Ergebnisse ist daher eingeschränkt. Die Auswertung des LOAD und HVAS zeigte eine signifikante Verbesserung in Bezug auf die Voruntersuchung. Die Ganganalytische Untersuchung und der visuelle Lahmheitsscore der orthopädischen Untersuchung waren zu diesem Untersuchungszeitpunkt nicht signifikant. Die gemittelten Ergebnisse von PVF und VI zur 12 Monatskontrolle im Vergleich zu vor der Therapie lassen auf eine anhaltend höhere Kraftaufnahme auf die Gliedmaße schließen (diese sechs Patienten hatten in der Voruntersuchung einen mittleren PVF von 52,4 und VI 17,4 im Vergleich zur 12 Monatskontrolle PVF 56,1 und VI 19,1).

Die Auswertung des CBPI ergab eine therapeutisch bedingte Verbesserung bei 67 % der Patienten (vier von sechs Hunde). Die Auswertung der therapeutisch bedingten Verbesserung der Lahmheit ergab, dass 50% der Hunde eine Verbesserung von VI und PVF ≥ 5 % zeigten (BRUNS et al., 2024). Bei drei von sechs nachuntersuchten Hunden konnte ein Langzeiteffekt der Behandlung mit regenerativen Zellen nachgewiesen werden. Bisher wurde ein Effekt der Therapie bei Hunden mit Cubarthrose mittels MSC bis 6 Monate nach Injektion untersucht (BLACK et al., 2008; VILAR et al., 2014; KIM et al., 2019). Daher wären Langzeitergebnisse über 12 Monate mit einer größeren Anzahl von Studienpatienten sinnvoll, um Ergebnisse mit höherer Evidenz zu erhalten.

Es wurden Korrelationen der Kovariaten Gewicht, Alter, Geschlecht, Arthroscore der Patienten und injizierter Zellzahl mit den Ergebnismessungen ausgewertet, um zu überprüfen, ob die Kovariaten einen Einfluss auf den Behandlungserfolg der regenerativen Zelltherapie hatten. Hunde mit einem höheren Gewicht zeigten eher eine Verbesserung der Lahmheit

gemessen an der ROM und an der Befragung der Patientenbesitzer (BRUNS et al., 2024). Die Gründe hierfür sind unklar. Die Patientenkohorte umfasste Hunde verschiedener Rassen mit unterschiedlichen physiologischen Gewichten. Ob durch die Ergebnisse eine geringere Wirksamkeit der Therapie bei größeren, schweren Rassen vorausgesagt werden kann, ist fraglich. Eine Bestimmung des BCS wäre daher sinnvoll gewesen. In einer Studie förderte die Injektion von MSC die Knorpeldegeneration und synoviale Entzündungsreaktion bei Ratten, die eine fettreiche Diät erhielten und an einem milden metabolischen Syndrom litten. Die Autoren der genannten Studie schlussfolgerten, dass Patienten mit mildem metabolischem Syndrom nicht auf eine Therapie mit MSC ansprechen (WARMINK et al., 2023). In Folgestudien sollte daher untersucht werden, ob der BCS auch bei Hunden einen Einfluss auf den Erfolg der regenerativen Zelltherapie hat. Ein höheres Alter korrelierte in der vorliegenden Studie mit einer Verbesserung gemessen an ROM und der Patientenbesitzerbefragung (BRUNS et al., 2024). Dies steht im Kontrast zu bisherigen Studienergebnissen.

Denn es wurde nachgewiesen, dass die MSC von jungen Hunden eine stärkere adipogene Differenzierungsfähigkeit und höhere Proliferationskapazität in-vitro haben (VOLK et al., 2012; BEANE et al., 2014; LEE et al., 2017). Von einer höheren Wirksamkeit in-vivo wird daher vermutet. Eine stärkere Wirksamkeit der Therapie bei älteren Patienten kann daher durch die Autoren der vorliegenden Studie nicht erklärt werden.

Die entnommenen regenerativen Zellen wurden in der vorliegenden Studie nicht auf ihre Proliferationskapazität und Differenzierungsfähigkeit untersucht, sodass keine Aussage über die Qualität der transplantierten Zellen gemacht werden konnte (BRUNS et al., 2024). Dies stellt eine Limitation der Studie dar. Eine höhere injizierte Zellzahl war ein prognostischer Faktor, der mit einer steigenden PVF, sowie einem niedrigeren HVAS Movement und Sum Scores während des Studienzeitraumes einherging (BRUNS et al., 2024). Je größer die injizierte Zellzahl war, desto größer war die positive Wirkung der Therapie gemessen an den genannten Ergebnismaßen. Dies könnte die intraartikuläre Therapie von der intravenösen Injektion von MSC unterscheiden. Denn bei dieser geht eine hohe injizierte Zellzahl nicht mit einer positiveren Wirkung der Therapie einher. Gründe hierfür könnten die systemische Wirkung und eine stärkere Interaktion mit dem Immunsystem durch eine intravenöse Injektion von MSC sein (BEERTS et al., 2023). Hunde mit einem höheren OA-Score zeigten im Verlauf der Studie einen sinkenden CBPI PIS-Score (BRUNS et al., 2024). Die Patientenbesitzer von Hunden mit einem höheren OA-Score beobachteten in der vorliegenden

Studie während des Studienzeitraumes eine zunehmende Beeinträchtigung der Lebensqualität. Jedoch wies die Studienkohorte einen hohen mittleren OA-Score von 3,3 auf (BRUNS et al., 2024). Lediglich vier behandelte Gelenke hatten einen OA-Score von zwei und es gab ein behandeltes Gelenk mit einem OA-Score von eins. Es sollte daher in Folgestudien weiter untersucht werden, ob ein niedriger OA-Score zu einem größeren Therapieerfolg führt, da in der vorliegenden Studie Hunde mit niedrigem OA-Score unterrepräsentiert waren (BRUNS et al., 2024). Ob das Geschlecht mit der Ausbildung einer Osteoarthritis zusammenhängt, ist beim Hund noch nicht vollständig untersucht (ANDERSON et al., 2020). In der vorliegenden Studie konnte keine Korrelation dieser Kovariate mit einer der Untersuchungsmethoden gemessen werden (BRUNS et al., 2024). Der Therapieerfolg der regenerativen Zelltherapie ist nicht abhängig vom Geschlecht der Hunde (BRUNS et al., 2024).

Die Patientenkohorte der vorliegenden Studie umfasste 23 Hunde mit teils beidseitiger Ellbogenarthrose. Alle Patienten litten unter einer medialen Kompartimenterkrankung und einer fortgeschrittenen Cubarthritis (BRUNS et al., 2024). Die ED ist die häufigste Ellbogenerkrankung des Hundes (O'NEILL et al., 2020), die Studienkohorte der vorliegenden Studie repräsentiert daher, dass die Cubarthritis bei Hunden häufig als Folge einer ED auftritt.

In der vorliegenden Studie waren die Mehrzahl der Patienten Labrador Retriever (n=7), zudem gab es fünf große Mischlinge, drei Golden Retriever, zwei Deutsche Schäferhunde, zwei Flat Coated Retriever, einen Rottweiler, einen Magyar Vizslar, einen Schwarzer Terrier, sowie einen Briard (BRUNS et al., 2024). Rottweiler, Labrador Retriever, Deutscher Schäferhund und Golden Retriever haben ein höheres Risiko an Ellbogenerkrankungen zu erkranken als andere Rassen (O'NEILL et al., 2020). Für die Ellbogengelenksdysplasie wurde eine hohe Prävalenz bei Rottweilern, Deutschen Schäferhunden, Berner Sennenhunden und Labradorretrievern berichtet (JANUTTA et al., 2006; MALM et al., 2008; WOOLLIAMS et al., 2011). Die Ellbogengelenksdysplasie tritt häufig eher bei großen, schweren Hunden auf (MICHELSEN, 2013). Besonders schwere Vertreter ihrer Rasse, haben zudem ein höheres Risiko, an ED zu erkranken (O'NEILL et al., 2020). Im Mittel wog die Studienkohorte der vorliegenden Studie 34,43kg, wobei der leichteste Patient 18kg und der schwerste Patient 60kg wog. Die Patientenkohorte der vorliegenden Studie umfasste zehn weibliche und 13 männliche Hunde. Die eigene Studienkohorte war im Mittel 7,01 Jahre alt, wobei der jüngste Patient 9,5 Monate alt und der älteste 11 Jahre und 11 Monate alt war (BRUNS et al., 2024). Meist tritt die ED schon bei Junghunden auf (MICHELSEN, 2013), die Diagnose wird

teilweise jedoch erst später gestellt, wenn die sekundär auftretende Osteoarthritis symptomatisch wird (DEMKO und MCLAUGHLIN, 2005). In einer retrospektiven Studie wurde für Hunde, die älter als 9 Jahre alt sind eine 2,56-fach höhere Wahrscheinlichkeit gemessen, an Ellbogenerkrankungen zu leiden im Vergleich zu Hunden unter 3 Jahren (O'NEILL et al., 2020). Daher repräsentiert die Studienkohorte der vorliegenden Studie den Altersdurchschnitt der Hunde mit OA. Der Arthroscore der behandelten Gelenke wurde mit Hilfe eines an die vorliegende Studie angepassten Scoring Protokolls der International Elbow Working Group (IEWG) bestimmt. Ein behandeltes Gelenk hatte einen modifizierten OA-Score von 1, vier Gelenke hatten einen OA-Score von 2, sieben Gelenke hatten einen OA-Score von 3; neun Gelenke einen OA-Score von 4 und zwei Gelenke hatte einen OA-Score von 5. Der OA-Score lag bei der Studienkohorte im Mittel bei 3,3 (BRUNS et al., 2024). Damit stellt die Studienkohorte eine Patientengruppe mit einer fortgeschrittenen Cubarthritis dar.

Die Hunde mussten unter chronischen Schmerzen leiden und nicht mehr adäquat auf eine Schmerztherapie mit NSAIDs ansprechen, um in die vorliegende Studie eingeschlossen zu werden. Aufgrund dieses Einschlusskriteriums hatte die Studienkohorte eine fortgeschrittene Cubarthritis (BRUNS et al., 2024).

Das Verfahren der regenerativen Zellgewinnung und -aufbereitung der vorliegenden Studie wurde in der Klinik durchgeführt (BRUNS et al., 2024). Die Entnahme des falciformen Fettgewebes wurde über eine Laparotomie mittels eines 2-3 cm langen Schnittes in der Linea alba vorgenommen. Bei jedem Patienten konnte die benötigte Menge an falciformen Fettgewebes entnommen werden (BRUNS et al., 2024). Die Entnahme von subkutanem Fettgewebe zur Gewinnung von Regenerativen Zellen wäre ebenso möglich gewesen und hätte keine Laparotomie erfordert. Die in der vorliegenden Studie angewandte Laparotomie war mit Schmerzen verbunden, die über eine analgetische Therapie während und nach dem chirurgischen Eingriff behandelt wurde (BRUNS et al., 2024). Dies ist ein Nachteil der autologen Zelltherapie gegenüber der allogenen und xenogenen Zelltherapie, bei der die regenerativen Zellen eines Spendertieres transplantiert werden, sodass sich der Empfänger keiner zusätzlichen Operation zur Entnahme des Fettgewebes unterziehen muss. Die Entnahme von subkutanem Fettgewebe zur Gewinnung von Regenerativen Zellen wäre ebenso möglich gewesen und hätte keine Laparotomie erfordert. Eine Festlegung auf subkutanes Fettgewebe bürgt jedoch den Nachteil, dass nicht immer bei allen Patienten genügend subkutanes Fettgewebe entnommen werden kann, da die Menge an subkutanem

Fettgewebe abhängig vom BCS des Patienten ist (BAHAMONDES et al., 2017). Da die MSCs verschiedener Entnahmeorte unterschiedliche in-vitro Eigenschaften besitzen, könnte der Entnahmeort des Fettgewebes auch die Wirkung der regenerativen Zelltherapie beeinflussen (GUERCIO et al., 2013; DEVIREDDY et al., 2017; YANESELLI et al., 2017).

Mithilfe des Verfahrens konnten in der vorliegenden Studie im Mittel 8,33 Mio. Regenerative Zellen isoliert und intraartikulär injiziert werden. Die geringste Anzahl an Zellen waren 3,51 Mio. Zellen, die maximale Anzahl waren 14,46 Mio. regenerative Zellen (BRUNS et al., 2024). Die Zahl an injizierten autologen AD-MSK bei den veröffentlichten Studien an Hunden variiert von 1 Mio. bis > 15 Mio. Zellen (BRONDEEL et al., 2021), damit konnten mittels des Verfahrens der vorliegenden Studie vergleichsweise viele regenerative Zellen gewonnen werden (BRUNS et al., 2024). Die Zahl der gewonnenen MSC variiert zwischen den verschiedenen Studien stark, da sie sowohl vom Spender, als auch von den Entnahmeorten und Aufbereitungs- und Anzüchtungsverfahren abhängig ist (DEVIREDDY et al., 2017; BRONDEEL et al., 2021).

Die Verwendung allogener Stammzellen ist für die Patienten weniger invasiv und ohne zusätzliches Narkoserisiko verbunden. Allogene Stammzellprodukte stellen jedoch ein Arzneimittel dar. Das "Committee for Medicinal Products for Veterinary Use" (CMPV) of the European Medicine Agency (EMA) hat in ihren Guidelines für die allogene Zelltherapie bei Hunden Screenings auf infektiöse Krankheiten beschrieben, da die allogene Zelltransplantation das Risiko einer Übertragung von Krankheiten bürgt ((EMA), 2017). Die autologe Zelltherapie wurde als sicheres Verfahren beschrieben (VILAR et al., 2013). Im Rahmen jeder Nachuntersuchung wurden die Besitzer der vorliegenden Studie nach den Nebenwirkungen der Therapie gefragt.

Bei keinem der Patienten konnten Nebenwirkungen der Therapie festgestellt werden (BRUNS et al., 2024). Die allogene und xenogene Zelltransplantation von MSC können zu einer immunologischen Abwehrreaktion führen (PIGOTT et al., 2013; JOSWIG et al., 2017; HARRELL et al., 2019). Auch beim Hund konnten nach mehrmaliger Transplantation von allogenen und xenogenen MSC, Antikörper gegen die MSC nachgewiesen werden. Es wurden jedoch keine Nebenwirkungen der Therapie festgestellt (PUNZON et al., 2023). Die xenogene Transplantation von equinen umbilikalen Stammzellen wurde bereits bei Hunden mit Cubarthrose erfolgreich durchgeführt (PUNZON et al., 2022). Ein Vorteil, der allogenen und xenogenen Zelltherapie ist, dass die Eigenschaften des Donors bestimmt werden können und

damit einhergehend die MSC eine möglichst hohe Qualität aufweisen können (VOLK et al., 2012).

Die artikuläre Injektion der Regenerativen Zellen hat sich in der vorliegenden Studie als sicher gezeigt (BRUNS et al., 2024). Auch in anderen Studien wurden regenerative Zellen erfolgreich artikulär injiziert (BLACK et al., 2007; BLACK et al., 2008; VILAR et al., 2013; CUERVO et al., 2014; VILAR et al., 2014; HARMAN et al., 2016; VILAR et al., 2016). Die intraartikuläre Injektion schnitt im Vergleich zur kombinierten intravenösen und intraartikulären Injektion in einer Studie besser ab (SHAH et al., 2018). Wobei die intravenöse Stammzelltherapie eine größere immunmodulative Wirkung haben könnte und sich eine niedrige Dosierung vorteilhafter gezeigt hat, sodass für die intravenöse Therapie weniger Fettgewebe entnommen werden muss (BEERTS et al., 2023).

Das Fehlen einer Placebogruppe stellt eine Limitation der vorliegenden Studie dar (BRUNS et al., 2024). Hunde mit chronischer Lahmheit aufgrund einer Cubarthrose über einen Zeitraum von sechs Monaten nur mit einem Placebo zu behandeln, wäre nach Meinung der Autoren ethisch nicht vertretbar gewesen. Eine weitere Limitation der Studie war die fehlende Untersuchung auf Proliferationsfähigkeit, Teilungsrate, Differenzierungsfähigkeit der gewonnenen SVF, sodass keine Aussage über die in-vitro Eigenschaften der injizierten MSC gemacht werden konnte (BRUNS et al., 2024).

Die OA ist eine Erkrankung, bei der viele Faktoren das Krankheitsbild und die Symptome beeinflussen. Hierzu gehören die Ernährung (HUCK et al., 2009), das Gewicht bezogen auf die Körpergröße (SALLANDER et al., 2006), die Art und Dauer der Bewegung der Hunde (SALLANDER et al., 2006). Der Effekt dieser Einflussfaktoren auf die Therapie wurde während des Studienzeitraumes nicht von den Studienleitern der vorliegenden Studie erfasst und können daher nicht ausgeschlossen werden (BRUNS et al., 2024). Ebenso können körperliche Belastungen vor der Ganganalyse die Messungen verfälschen. Nach körperlicher Belastung sind die Bodenreaktionskräfte der erkrankten Gliedmaßen deutlich geringer als vor der Belastung. Daher sollte vor der Untersuchung körperliche Betätigung erfragt werden, damit Ergebnismessungen während einer Therapiestudie nicht verfälscht werden (BERAUD et al., 2010). In der vorliegenden Studie wurden die Patientenbesitzer darauf hingewiesen, es gehörte jedoch nicht zum Studienprotokoll, dies vor jeder Untersuchung zu erfragen und zu berücksichtigen (BRUNS et al., 2024).

Eine Verblindung der Studie hätte einen Placeboeffekt mindern können. Hunde mit chronischer Lahmheit aufgrund einer Cubarthrose über einen Zeitraum von sechs Monaten nur mit einem Placebo zu behandeln, wäre jedoch ethisch nicht vertretbar gewesen. Durch die fehlende Kontrollgruppe lassen sich die Studienergebnisse der vorliegenden Studie jedoch nicht direkt vergleichen und die Aussagekraft der Studie ist vermindert (BRUNS et al., 2024).

V. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Studie wurde die autologe regenerative Zelltherapie bei Hunden mit einer Cubarthrose klinisch evaluiert. Alle Hunde zeigten eine chronische Lahmheit der Vordergliedmaße, die bereits chirurgisch therapiert wurde und nicht mehr auf eine konventionelle Schmerztherapie ansprach. Für die regenerative Zelltherapie wurde die stromale vaskuläre Fraktion (SVF) aus dem falciformen Fettgewebe der Patienten durch eine enzymatische Aufbereitung gewonnen. Anschließend wurde sie den Patienten einmalig intraartikulär appliziert. Der Behandlungserfolg wurde mit Hilfe der Ganganalyse, der tierärztlichen Lahmheitsuntersuchung, sowie der Fragebögen Canine Brief Pain Inventory (CBPI), Hudson Visual Analog Scale (HVAS) und Liverpool Osteoarthritis in Dogs Index (Liverpool) überprüft. In die Studie wurden 23 Hunde eingeschlossen. Von ihnen wurden 18 einseitig und fünf Hunde beidseitig am Ellenbogengelenk behandelt. Zwei Patienten sind nach drei Monaten aus der Studie ausgestiegen. 21 Hunde wurden über sechs Monate betreut und sechs Hunde nach 12 Monate nachuntersucht. Mithilfe des Verfahrens von InGeneron konnten im Mittel 8,33 Mio. Regenerative Zellen isoliert und intraartikulär injiziert werden. Bei keinem Patienten wurden Nebenwirkungen der Therapie festgestellt. Die Ganganalyse ergab eine signifikante Verbesserung von der vertikalen Spitzenkraft (PVF) nach drei Monaten, der Vertikale Impuls (VI) verbesserte sich signifikant nach sechs Monaten nach der Injektion. Der maximale Bewegungsumfang (ROM) der behandelten Ellbogengelenke verbesserte sich signifikant zwei Monate nach der Behandlung. Während des Untersuchungszeitraumes zeigten 33 % - 45 % der Hunde eine ganganalytisch messbare, therapeutisch bedingte Verbesserung der Lahmheit (Anstieg von VI und PVF >5 % im Vergleich zur Voruntersuchung). Zu allen Zeitpunkten waren signifikante Verbesserungen des LOADs, CBPIs und des HVAS gegenüber der Messung vor der regenerativen Zelinjektion zu verzeichnen. Eine therapeutische bedingte Verbesserung der Schmerzhaftigkeit anhand des CBPI war während des Studienzeitraumes von sechs Monaten bei 26 % bis 30 % der Hunde messbar. Anhand der röntgenologischen Nachuntersuchungen kam es bei vier Hunden im Verlauf der Studie zu einer radiologisch nachweisbaren Arthroseprogression.

Nach 12 Monaten verbesserten sich therapeutisch bedingt 67 % der Patienten anhand des CBPIs und 50% der Hunde anhand der Bodenreaktionskräfte. Bei der Nachuntersuchung nach 12 Monaten konnten jedoch nur eine geringe Anzahl an Patienten (6 von 23 Hunde) nachuntersucht werden, weshalb die Aussagekraft dieser Langzeituntersuchung limitiert ist.

Zusammenfassend führte die regenerative Zelltherapie bei einzelnen Patienten zu einer therapeutisch bedingten Verbesserung der Lahmheit und Schmerzhaftigkeit über sechs Monate. Während subjektiv eine signifikante Verbesserung über sechs Monate gemessen werden konnte, wurde objektiv mittels der Ganganalyse keine langanhaltende signifikante Verbesserung der Lahmheit gemessen. Folgestudien sollten näher untersuchen, welche Patienten für die autologe regenerative Zelltherapie geeignet sind.

VI. SUMMARY

In the present study, autologous regenerative cell therapy was clinically evaluated in dogs with cubarthrosis. All dogs showed chronic lameness of the forelimb, which had already been treated surgically and no longer responded to conventional pain therapy. For the regenerative cell therapy, the stromal vascular fraction (SVF) was obtained from the patients' falciform adipose tissue by enzymatic processing. It was then applied intra-articularly to the patients once. The success of the treatment was assessed by means of gait analysis, veterinary lameness examination and the Canine Brief Pain Inventory (CBPI), Hudson Visual Analogue Scale (HVAS) and Liverpool Osteoarthritis in Dogs Index (Liverpool) questionnaires.

The study included 23 dogs. Of these, 18 were treated unilaterally and five dogs were treated on both sides of the elbow joint. Two patients dropped out of the study after three months. 21 dogs were followed up for six months and six dogs were re-examined after 12 months. Using the InGeneron procedure, an average of 8.33 million regenerative cells were isolated and injected intra-articularly. No side effects of the therapy were observed in any of the patients. Gait analysis revealed a significant improvement in peak vertical force (PVF) after three months, and vertical impulse (VI) improved significantly six months after injection. The maximum range of motion (ROM) of the treated elbow joints improved significantly two months after treatment. During the study period, 33% - 45% of the dogs showed a therapeutically measurable improvement in lameness (increase in VI and PVF >5% compared to the pre-examination). At all time points, there were significant decreases in LOAD and HVAS compared to the measurement before the regenerative cell injection. The CBPI improved significantly at all time points. A therapeutically induced improvement in pain severity based on the CBPI was measurable in 26% to 30% of the dogs during the study period of six months. Radiological follow-up examinations revealed radiologically detectable osteoarthritis progression in four dogs. After 12 months, 67% of patients improved on the CBPI and 50% of dogs improved on the ground reaction forces. However, only a small number of patients attended the follow-up examination after 12 months, which is why the significance of this long-term study is limited.

In summary, regenerative cell therapy led to a therapeutically induced improvement in lameness and pain over six months in individual patients. While a significant subjective improvement was measured over six months, no long-term significant improvement in

lameness was measured objectively by means of gait analysis. Follow-up studies should investigate in more detail which patients are suitable for autologous regenerative cell therapy.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

(EMA) EMA. Questions and Answers on allogenic stem cell-based products for veterinary use: Specific questions on extraneous agents. 2017: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/questions-and-answers-allogenic-stem-cell-based-products-veterinary-use-specific-questions-extraneous-agents_en.pdf. 06.10.2024.

Abramson SB, Attur M. Developments in the scientific understanding of osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2009; 11: 227.

Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 2005; 105: 1815-22.

Anderson KL, O'Neill DG, Brodbelt DC, Church DB, Meeson RL, Sargan D, Summers JF, Zulch H, Collins LM. Prevalence, duration and risk factors for appendicular osteoarthritis in a UK dog population under primary veterinary care. *Sci Rep* 2018; 8: 5641.

Anderson KL, Zulch H, O'Neill DG, Meeson RL, Collins LM. Risk Factors for Canine Osteoarthritis and Its Predisposing Arthropathies: A Systematic Review. *Front Vet Sci* 2020; 7: 220.

Anderson P, Souza-Moreira L, Morell M, Caro M, O'Valle F, Gonzalez-Rey E, Delgado M. Adipose-derived mesenchymal stromal cells induce immunomodulatory macrophages which protect from experimental colitis and sepsis. *Gut* 2013; 62: 1131-41.

Asher L, Diesel G, Summers JF, McGreevy PD, Collins LM. Inherited defects in pedigree dogs. Part 1: disorders related to breed standards. *Vet J* 2009; 182: 402-11.

Baglioni S, Cantini G, Poli G, Francalanci M, Squecco R, Di Franco A, Borgogni E, Frontera S, Nesi G, Liotta F, Lucchese M, Perigli G, Francini F, Forti G, Serio M, Luconi M. Functional differences in visceral and subcutaneous fat pads originate from differences in the adipose stem cell. *PLoS One* 2012; 7: e36569.

Bahamondes F, Flores E, Cattaneo G, Bruna F, Conget P. Omental adipose tissue is a more suitable source of canine Mesenchymal stem cells. *BMC Vet Res* 2017; 13: 166.

Bahsoun S, Coopman K, Akam EC. The impact of cryopreservation on bone marrow-derived mesenchymal stem cells: a systematic review. *J Transl Med* 2019; 17: 397.

Barthelemy NP, Griffon DJ, Ragetly GR, Carrera I, Schaeffer DJ. Short- and long-term outcomes after arthroscopic treatment of young large breed dogs with medial compartment disease of the elbow. *Vet Surg* 2014; 43: 935-43.

Beane OS, Fonseca VC, Cooper LL, Koren G, Darling EM. Impact of aging on the regenerative properties of bone marrow-, muscle-, and adipose-derived mesenchymal stem/stromal cells. *PLoS One* 2014; 9: e115963.

Bearden RN, Huggins SS, Cummings KJ, Smith R, Gregory CA, Saunders WB. In-vitro characterization of canine multipotent stromal cells isolated from synovium, bone marrow, and adipose tissue: a donor-matched comparative study. *Stem Cell Res Ther* 2017; 8: 218.

Beerts C, Broeckx SY, Depuydt E, Tack L, Van Hecke L, Chiers K, Van Brantegem L, Braun G, Hellmann K, de Bouvre N, Van Bruaene N, De Ryck T, Duchateau L, Van Ryssen B, Peremans K, Saunders JH, Verhoeven G, Pauwelyn G, Spaas JH. Low-dose xenogeneic mesenchymal stem cells target canine osteoarthritis through systemic immunomodulation and homing. *Arthritis Res Ther* 2023; 25: 190.

Belshaw Z, Asher L, Dean RS. Systematic Review of Outcome Measures Reported in Clinical Canine Osteoarthritis Research. *Vet Surg* 2016a; 45: 480-7.

Belshaw Z, Asher L, Dean RS. The attitudes of owners and veterinary professionals in the United Kingdom to the risk of adverse events associated with using non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) to treat dogs with osteoarthritis. *Prev Vet Med* 2016b; 131: 121-6.

Beraud R, Moreau M, Lussier B. Effect of exercise on kinetic gait analysis of dogs afflicted by osteoarthritis. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2010; 23: 87-92.

Bergstrom A, Johard S, Lee MH, Comin A. Long-Term Prognosis of Quality of Life in Dogs Diagnosed With Mild to Moderate Elbow Dysplasia in Sweden. *Front Vet Sci* 2020; 7: 572691.

Bicer M, Fidan O. Can mesenchymal stem/stromal cells and their secretomes combat bacterial persisters? *World J Microbiol Biotechnol* 2023; 39: 276.

Black LL, Gaynor J, Gahring D, Adams C, Aron D, Harman S, Gingerich DA, Harman R. Effect of adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints: a randomized, double-blinded, multicenter, controlled trial. *Vet Ther* 2007; 8: 272-84.

Black LL, Gaynor J, Adams C, Dhupa S, Sams AE, Taylor R, Harman S, Gingerich DA, Harman R. Effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on clinical signs of chronic osteoarthritis of the elbow joint in dogs. *Vet Ther* 2008; 9: 192-200.

Bockstahler BA, Skalicky M, Peham C, Muller M, Lorinson D. Reliability of ground reaction forces measured on a treadmill system in healthy dogs. *Vet J* 2007; 173: 373-8.

Bockstahler BA, Vobornik A, Muller M, Peham C. Compensatory load redistribution in naturally occurring osteoarthritis of the elbow joint and induced weight-bearing lameness of the forelimbs compared with clinically sound dogs. *Vet J* 2009; 180: 202-12.

Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, Dominici M, Katz AJ, March KL, Redl H, Rubin JP, Yoshimura K, Gimble JM. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy* 2013; 15: 641-8.

Brady RB, Sidiropoulos AN, Bennett HJ, Rider PM, Marcellin-Little DJ, Devita P. Evaluation of gait-related variables in lean and obese dogs at a trot. *Am J Vet Res* 2013; 74: 757-62.

Brondeel C, Pauwelyn G, de Bakker E, Saunders J, Samoy Y, Spaas JH. Review: Mesenchymal Stem Cell Therapy in Canine Osteoarthritis Research: "Experientia Docet" (Experience Will Teach Us). *Front Vet Sci* 2021; 8: 668881.

Brown DC, Boston RC, Coyne JC, Farrar JT. Development and psychometric testing of an instrument designed to measure chronic pain in dogs with osteoarthritis. *Am J Vet Res* 2007; 68: 631-7.

Brown DC, Boston RC, Farrar JT. Comparison of force plate gait analysis and owner assessment of pain using the Canine Brief Pain Inventory in dogs with osteoarthritis. *J Vet Intern Med* 2013a; 27: 22-30.

Brown DC, Bell M, Rhodes L. Power of treatment success definitions when the Canine Brief Pain Inventory is used to evaluate carprofen treatment for the control of pain and inflammation in dogs with osteoarthritis. *Am J Vet Res* 2013b; 74: 1467-73.

Brunnberg L, Waibl, H., Lehmann, J. (2014) Lahmheiten beim Hund: Untersuchen/ Erkennen/ Behandeln. Kleinmachnow Procane Claudio Brunnberg

Bruns Y, Schroers M, Steigmeier-Raith S, Waselau A-C, Reese S, Meyer-Lindenberg A. Efficacy of a Single Injection of Stromal Vascular Fraction in Dogs with Elbow Osteoarthritis: A Clinical Prospective Study. *Animals* 2024; 14: 2803.

Buckwalter JA, Mankin HJ, Grodzinsky AJ. Articular cartilage and osteoarthritis. *Instr Course Lect* 2005; 54: 465-80.

Budsberg SC, Verstraete MC, Soutas-Little RW. Force plate analysis of the walking gait in healthy dogs. *Am J Vet Res* 1987; 48: 915-8.

Budsberg SC. Long-term temporal evaluation of ground reaction forces during development of experimentally induced osteoarthritis in dogs. *Am J Vet Res* 2001; 62: 1207-11.

Budsberg SC, Torres BT, Kleine SA, Sandberg GS, Berjeski AK. Lack of effectiveness of tramadol hydrochloride for the treatment of pain and joint dysfunction in dogs with chronic osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc* 2018; 252: 427-32.

Budsberg SC, Kleine SA, Norton MM, Sandberg GS. Comparison of two inhibitors of E-type prostanoid receptor four and carprofen in dogs with experimentally induced acute synovitis. *Am J Vet Res* 2019; 80: 1001-6.

Cabon Q, Febre M, Gomez N, Cachon T, Pillard P, Carozzo C, Saulnier N, Robert C, Livet V, Rakic R, Plantier N, Saas P, Maddens S, Viguier E. Long-Term Safety and Efficacy of Single or Repeated Intra-Articular Injection of Allogeneic Neonatal Mesenchymal Stromal Cells for Managing Pain and Lameness in Moderate to Severe Canine Osteoarthritis Without Anti-inflammatory Pharmacological Support: Pilot Clinical Study. *Front Vet Sci* 2019; 6: 10.

Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 1991; 9: 641-50.

Caplan AI, Dennis JE. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *J Cell Biochem* 2006; 98: 1076-84.

Chen J, Li Y, Katakowski M, Chen X, Wang L, Lu D, Lu M, Gautam SC, Chopp M. Intravenous bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat. *J Neurosci Res* 2003; 73: 778-86.

Clements DN, Fitzpatrick N, Carter SD, Day PJ. Cartilage gene expression correlates with radiographic severity of canine elbow osteoarthritis. *Vet J* 2009; 179: 211-8.

Conzemius MG, Evans RB. Caregiver placebo effect for dogs with lameness from osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc* 2012; 241: 1314-9.

Conzemius MG, Torres BT, Muir P, Evans R, Krotscheck U, Budsberg S. Best practices for measuring and reporting ground reaction forces in dogs. *Vet Surg* 2022; 51: 385-96.

Coppieters E, Gielen I, Verhoeven G, Van Vynckt D, Van Ryssen B. Erosion of the medial compartment of the canine elbow: occurrence, diagnosis and currently available treatment options. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2015; 28: 9-18.

Coppieters E, Seghers H, Verhoeven G, Gielen I, Samoy Y, de Bakker E, Van Ryssen B. Arthroscopic, Computed Tomography, and Radiographic Findings in 25 Dogs With Lameness After Arthroscopic Treatment of Medial Coronoid Disease. *Vet Surg* 2016; 45: 246-53.

Csaki C, Matis U, Mobasheri A, Ye H, Shakibaei M. Chondrogenesis, osteogenesis and adipogenesis of canine mesenchymal stem cells: a biochemical, morphological and ultrastructural study. *Histochem Cell Biol* 2007; 128: 507-20.

Cuervo B, Rubio M, Sopena J, Dominguez JM, Vilar J, Morales M, Cugat R, Carrillo JM. Hip osteoarthritis in dogs: a randomized study using mesenchymal stem cells from adipose tissue and plasma rich in growth factors. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 13437-60.

da Silva Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J Cell Sci* 2006; 119: 2204-13.

Daems R, Van Hecke L, Schwarzkopf I, Depuydt E, Broeckx SY, David M, Beerts C, Vandekerckhove P, Spaas JH. A Feasibility Study on the Use of Equine Chondrogenic Induced Mesenchymal Stem Cells as a Treatment for Natural Occurring Osteoarthritis in Dogs. *Stem Cells Int* 2019; 2019: 4587594.

de Salazar Alcala AG, Gioda L, Dehman A, Beugnet F. Assessment of the efficacy of firocoxib (Previcox(R)) and grapiprant (Galliprant(R)) in an induced model of acute arthritis in dogs. *BMC Vet Res* 2019; 15: 309.

Debosschere Y, Depuydt E, Pauwelyn G, Beerts C, Van Hecke L, Verhaert L, Duchateau L, Saunders J, Tack L, Spaas JH. Safety and immunomodulatory properties of equine peripheral blood-derived mesenchymal stem cells in healthy cats. *Vet Immunol Immunopathol* 2020; 227: 110083.

DeCamp CE, Soutas-Little RW, Hauptman J, Olivier B, Braden T, Walton A. Kinematic gait analysis of the trot in healthy greyhounds. *Am J Vet Res* 1993; 54: 627-34.

DeCamp CE. Kinetic and kinematic gait analysis and the assessment of lameness in the dog. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1997; 27: 825-40.

Demko J, McLaughlin R. Developmental orthopedic disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2005; 35: 1111-35, v.

Desando G, Cavallo C, Sartoni F, Martini L, Parrilli A, Veronesi F, Fini M, Giardino R, Facchini A, Grigolo B. Intra-articular delivery of adipose derived stromal cells attenuates osteoarthritis progression in an experimental rabbit model. *Arthritis Res Ther* 2013; 15: R22.

Devireddy LR, Boxer L, Myers MJ, Skasko M, Screven R. Questions and Challenges in the Development of Mesenchymal Stromal/Stem Cell-Based Therapies in Veterinary Medicine. *Tissue Eng Part B Rev* 2017; 23: 462-70.

Di Bella S, Cannella V, Mira F, Di Marco P, Lastra A, Gucciardi F, Purpari G, Guercio A. The Effect of a 7 Year-Long Cryopreservation on Stemness Features of Canine Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells (cAD-MSc). *Animals (Basel)* 2021; 11

Di Cesare F, Negro V, Ravasio G, Villa R, Draghi S, Cagnardi P. Gabapentin: Clinical Use and Pharmacokinetics in Dogs, Cats, and Horses. *Animals (Basel)* 2023; 13

Dieppe PA, Reichenbach S, Williams S, Gregg P, Watt I, Juni P. Assessing bone loss on radiographs of the knee in osteoarthritis: a cross-sectional study. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 3536-41.

Dimarino AM, Caplan AI, Bonfield TL. Mesenchymal stem cells in tissue repair. *Front Immunol* 2013; 4: 201.

Doherty MJ, Ashton BA, Walsh S, Beresford JN, Grant ME, Canfield AE. Vascular pericytes express osteogenic potential in vitro and in vivo. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 828-38.

Dominguez-Oliva A, Casas-Alvarado A, Miranda-Cortes AE, Hernandez-Avalos I. Clinical pharmacology of tramadol and tapentadol, and their therapeutic efficacy in different models of acute and chronic pain in dogs and cats. *J Adv Vet Anim Res* 2021; 8: 404-22.

Dykstra JA, Blue ED, Negro de Assis PL, Weimer JM, Kota DJ. Human adipose-derived stromal vascular fraction: characterization, safety and therapeutic potential in an experimental mouse model of articular injury. *J Stem Cells Regen Med* 2020; 16: 16-25.

European Medicines Agency E. DogStem. 2024:
<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/veterinary/EPAR/dogstem#product-details>.
14.09.2024.

Farrell M, Heller J, Solano M, Fitzpatrick N, Sparrow T, Kowaleski M. Does radiographic arthrosis correlate with cartilage pathology in Labrador Retrievers affected by medial coronoid process disease? *Vet Surg* 2014; 43: 155-65.

Felson DT, Zhang Y, Anthony JM, Naimark A, Anderson JJ. Weight loss reduces the risk for symptomatic knee osteoarthritis in women. The Framingham Study. *Ann Intern Med* 1992; 116: 535-9.

Felson DT, Chaisson CE. Understanding the relationship between body weight and osteoarthritis. *Baillieres Clin Rheumatol* 1997; 11: 671-81.

Fitzpatrick N, Yeadon R. Working algorithm for treatment decision making for developmental disease of the medial compartment of the elbow in dogs. *Vet Surg* 2009; 38: 285-300.

Fitzpatrick N, Smith TJ, Evans RB, Yeadon R. Radiographic and arthroscopic findings in the elbow joints of 263 dogs with medial coronoid disease. *Vet Surg* 2009; 38: 213-23.

Fossum TW (2013) *Chirurgie der Kleintiere*, 2. deutsche Auflage edn. Elsevier Urban&Fischer, München Jena. 1212-5; 55-75; 72-92

Franklin SP, Cook JL. Prospective trial of autologous conditioned plasma versus hyaluronan plus corticosteroid for elbow osteoarthritis in dogs. *Can Vet J* 2013; 54: 881-4.

Freitag J, Bates D, Boyd R, Shah K, Barnard A, Huguenin L, Tenen A. Mesenchymal stem cell therapy in the treatment of osteoarthritis: reparative pathways, safety and efficacy - a review. *BMC Musculoskelet Disord* 2016; 17: 230.

Friedenstein AJ, Piatetzky S, II, Petrakova KV. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J Embryol Exp Morphol* 1966; 16: 381-90.

Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet* 1970; 3: 393-403.

Gemmill TJ, Hammond G, Mellor D, Sullivan M, Bennett D, Carmichael S. Use of reconstructed computed tomography for the assessment of joint spaces in the canine elbow. *J Small Anim Pract* 2006; 47: 66-74.

Ghannam S, Bouffi C, Djouad F, Jorgensen C, Noel D. Immunosuppression by mesenchymal stem cells: mechanisms and clinical applications. *Stem Cell Res Ther* 2010; 1: 2.

Giorgi M, Del Carlo S, Saccomanni G, Lebkowska-Wieruszewska B, Kowalski CJ. Pharmacokinetic and urine profile of tramadol and its major metabolites following oral immediate release capsules administration in dogs. *Vet Res Commun* 2009; 33: 875-85.

Goldring MB, Goldring SR. Articular cartilage and subchondral bone in the pathogenesis of osteoarthritis. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1192: 230-7.

Goldring MB. Articular cartilage degradation in osteoarthritis. *HSS J* 2012a; 8: 7-9.

Goldring SR. Alterations in periarticular bone and cross talk between subchondral bone and articular cartilage in osteoarthritis. *Ther Adv Musculoskelet Dis* 2012b; 4: 249-58.

Gordon CL, Thomson C, Webster N. A novel surgical treatment of type 3 congenital elbow luxation in a dog. *Aust Vet J* 2023; 101: 225-9.

Guercio A, Di Marco P, Casella S, Cannella V, Russotto L, Purpari G, Di Bella S, Piccione G. Production of canine mesenchymal stem cells from adipose tissue and their application in dogs with chronic osteoarthritis of the humeroradial joints. *Cell Biol Int* 2012; 36: 189-94.

Guercio A, Di Bella S, Casella S, Di Marco P, Russo C, Piccione G. Canine mesenchymal stem cells (MSCs): characterization in relation to donor age and adipose tissue-harvesting site. *Cell Biol Int* 2013; 37: 789-98.

Gugjoo MB, Amarpal, Chandra V, Wani MY, Dhama K, Sharma GT. Mesenchymal Stem Cell Research in Veterinary Medicine. *Curr Stem Cell Res Ther* 2018; 13: 645-57.

Guilak F. Biomechanical factors in osteoarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2011; 25: 815-23.

Guillaume-Jugnot P, Dumas A, Magalon J, Sautereau N, Veran J, Magalon G, Sabatier F, Granel B. State of the art. Autologous fat graft and adipose tissue-derived stromal vascular fraction injection for hand therapy in systemic sclerosis patients. *Curr Res Transl Med* 2016; 64: 35-42.

Harman R, Carlson K, Gaynor J, Gustafson S, Dhupa S, Clement K, Hoelzler M, McCarthy T, Schwartz P, Adams C. A Prospective, Randomized, Masked, and Placebo-Controlled Efficacy Study of Intraarticular Allogeneic Adipose Stem Cells for the Treatment of Osteoarthritis in Dogs. *Front Vet Sci* 2016; 3: 81.

Harrell CR, Markovic BS, Fellabaum C, Arsenijevic A, Volarevic V. Mesenchymal stem cell-based therapy of osteoarthritis: Current knowledge and future perspectives. *Biomed Pharmacother* 2019; 109: 2318-26.

Hayward JJ, Castelhana MG, Oliveira KC, Corey E, Balkman C, Baxter TL, Casal ML, Center SA, Fang M, Garrison SJ, Kalla SE, Korniliev P, Kotlikoff MI, Moise NS, Shannon LM, Simpson KW, Sutter NB, Todhunter RJ, Boyko AR. Complex disease and phenotype mapping in the domestic dog. *Nat Commun* 2016; 7: 10460.

Hefti F. Pharmacology of nerve growth factor and discovery of tanezumab, an anti-nerve growth factor antibody and pain therapeutic. *Pharmacol Res* 2020; 154: 104240.

Heijink A, Gomoll AH, Madry H, Drobic M, Filardo G, Espregueira-Mendes J, Van Dijk CN. Biomechanical considerations in the pathogenesis of osteoarthritis of the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2012; 20: 423-35.

Hercock CA, Pinchbeck G, Giejda A, Clegg PD, Innes JF. Validation of a client-based clinical metrology instrument for the evaluation of canine elbow osteoarthritis. *J Small Anim Pract* 2009; 50: 266-71.

Huck JL, Biery DN, Lawler DF, Gregor TP, Runge JJ, Evans RH, Kealy RD, Smith GK. A longitudinal study of the influence of lifetime food restriction on development of osteoarthritis in the canine elbow. *Vet Surg* 2009; 38: 192-8.

Hudson JT, Slater MR, Taylor L, Scott HM, Kerwin SC. Assessing repeatability and validity of a visual analogue scale questionnaire for use in assessing pain and lameness in dogs. *Am J Vet Res* 2004; 65: 1634-43.

Hurd JL, Facile TR, Weiss J, Hayes M, Hayes M, Furia JP, Maffulli N, Winnier GE, Alt C, Schmitz C, Alt EU, Lundeen M. Safety and efficacy of treating symptomatic, partial-thickness rotator cuff tears with fresh, uncultured, unmodified, autologous adipose-derived regenerative cells (UA-ADRCs) isolated at the point of care: a prospective, randomized, controlled first-in-human pilot study. *J Orthop Surg Res* 2020; 15: 122.

Innes JF, Fuller CJ, Grover ER, Kelly AL, Burn JF. Randomised, double-blind, placebo-controlled parallel group study of P54FP for the treatment of dogs with osteoarthritis. *Vet Rec* 2003; 152: 457-60.

Innes JF, Clayton J, Lascelles BD. Review of the safety and efficacy of long-term NSAID use in the treatment of canine osteoarthritis. *Vet Rec* 2010; 166: 226-30.

International Elbow Working Group I. IEWG Protokoll. 2011: <http://www.vet-iewg.org/wp-content/uploads/2017/02/proceedings2011iewg.pdf>. 08.07.2024.

Ivanovska A, Wang M, Arshaghi TE, Shaw G, Alves J, Byrne A, Butterworth S, Chandler R, Cuddy L, Dunne J, Guerin S, Harry R, McAlindan A, Mullins RA, Barry F. Manufacturing Mesenchymal Stromal Cells for the Treatment of Osteoarthritis in Canine Patients: Challenges and Recommendations. *Front Vet Sci* 2022; 9: 897150.

Jallali N, Ridha H, Thrasivoulou C, Underwood C, Butler PE, Cowen T. Vulnerability to ROS-induced cell death in ageing articular cartilage: the role of antioxidant enzyme activity. *Osteoarthritis Cartilage* 2005; 13: 614-22.

James HK, McDonnell F, Lewis TW. Effectiveness of Canine Hip Dysplasia and Elbow Dysplasia Improvement Programs in Six UK Pedigree Breeds. *Front Vet Sci* 2019; 6: 490.

Janutta V, Hamann H, Klein S, Tellhelm B, Distl O. Genetic analysis of three different classification protocols for the evaluation of elbow dysplasia in German shepherd dogs. *J Small Anim Pract* 2006; 47: 75-82.

Johnston SA. Osteoarthritis. Joint anatomy, physiology, and pathobiology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1997; 27: 699-723.

Johnston SA, Budsberg SC. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids for the management of canine osteoarthritis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1997; 27: 841-62.

Johnston SA, Tobias, K. M. (2018) *Veterinary Surgery: Small Animal, Second Edition* edn. Elsevier, Inc., 3251 Riverport Lane, St. Louis, Missouri. 29-40, 848-85, 1265-99

Joswig AJ, Mitchell A, Cummings KJ, Levine GJ, Gregory CA, Smith R, 3rd, Watts AE. Repeated intra-articular injection of allogeneic mesenchymal stem cells causes an adverse response compared to autologous cells in the equine model. *Stem Cell Res Ther* 2017; 8: 42.

Kalaszczynska I, Ferdyn K. Wharton's jelly derived mesenchymal stem cells: future of regenerative medicine? Recent findings and clinical significance. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 430847.

Kang B-J, Ryu H-H, Park SS, Koyama Y, Kikuchi M, Woo H-M, Kim WH, Kweon O-K. Comparing the osteogenic potential of canine mesenchymal stem cells derived from adipose tissues, bone marrow, umbilical cord blood, and Wharton's jelly for treating bone defects. *Journal of Veterinary Science* 2012; 13

Karp JM, Leng Teo GS. Mesenchymal stem cell homing: the devil is in the details. *Cell Stem Cell* 2009; 4: 206-16.

Kazemi D, Shams Asenjan K, Dehdilani N, Parsa H. Canine articular cartilage regeneration using mesenchymal stem cells seeded on platelet rich fibrin: Macroscopic and histological assessments. *Bone Joint Res* 2017; 6: 98-107.

Keller GG, Dziuk E, Bell JS. How the Orthopedic Foundation for Animals (OFA) is tackling inherited disorders in the USA: using hip and elbow dysplasia as examples. *Vet J* 2011; 189: 197-202.

Kern S, Eichler H, Stoeve J, Kluter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells* 2006; 24: 1294-301.

Kim J, Hematti P. Mesenchymal stem cell-educated macrophages: a novel type of alternatively activated macrophages. *Exp Hematol* 2009; 37: 1445-53.

Kim SE, Pozzi A, Yeh JC, Lopez-Velazquez M, Au Yong JA, Townsend S, Dunlap AE, Christopher SA, Lewis DD, Johnson MD, Petrucci K. Intra-Articular Umbilical Cord Derived Mesenchymal Stem Cell Therapy for Chronic Elbow Osteoarthritis in Dogs: A Double-Blinded, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Front Vet Sci* 2019; 6: 474.

Kisiel AH, McDuffee LA, Masaoud E, Bailey TR, Esparza Gonzalez BP, Nino-Fong R. Isolation, characterization, and in vitro proliferation of canine mesenchymal stem cells derived from bone marrow, adipose tissue, muscle, and periosteum. *Am J Vet Res* 2012; 73: 1305-17.

Krasnodembskaya A, Song Y, Fang X, Gupta N, Serikov V, Lee JW, Matthay MA. Antibacterial effect of human mesenchymal stem cells is mediated in part from secretion of the antimicrobial peptide LL-37. *Stem Cells* 2010; 28: 2229-38.

Kriston-Pal E, Czibula A, Gyuris Z, Balka G, Seregi A, Sukosd F, Suth M, Kiss-Toth E, Haracska L, Uher F, Monostori E. Characterization and therapeutic application of canine adipose mesenchymal stem cells to treat elbow osteoarthritis. *Can J Vet Res* 2017; 81: 73-8.

Krontveit RI, Nodtvedt A, Saevik BK, Ropstad E, Trangerud C. Housing- and exercise-related risk factors associated with the development of hip dysplasia as determined by radiographic evaluation in a prospective cohort of Newfoundlands, Labrador Retrievers, Leonbergers, and Irish Wolfhounds in Norway. *Am J Vet Res* 2012; 73: 838-46.

Kukanich B, Papich MG. Pharmacokinetics of tramadol and the metabolite O-desmethyltramadol in dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 2004; 27: 239-46.

Lascelles BD, McFarland JM, Swann H. Guidelines for safe and effective use of NSAIDs in dogs. *Vet Ther* 2005; 6: 237-51.

Laschke MW, Harder Y, Amon M, Martin I, Farhadi J, Ring A, Torio-Padron N, Schramm R, Rucker M, Junker D, Haufel JM, Carvalho C, Heberer M, Germann G, Vollmar B, Menger MD. Angiogenesis in tissue engineering: breathing life into constructed tissue substitutes. *Tissue Eng* 2006; 12: 2093-104.

Lee J, Lee KS, Kim CL, Byeon JS, Gu NY, Cho IS, Cha SH. Effect of donor age on the proliferation and multipotency of canine adipose-derived mesenchymal stem cells. *J Vet Sci* 2017; 18: 141-8.

Lee KM, Chung CY, Sung KH, Lee SY, Won SH, Kim TG, Choi Y, Kwon SS, Kim YH, Park MS. Risk factors for osteoarthritis and contributing factors to current arthritic pain in South Korean older adults. *Yonsei Med J* 2015; 56: 124-31.

Lee MS, Trindade MC, Ikenoue T, Schurman DJ, Goodman SB, Smith RL. Intermittent hydrostatic pressure inhibits shear stress-induced nitric oxide release in human osteoarthritic chondrocytes in vitro. *J Rheumatol* 2003a; 30: 326-8.

Lee MS, Ikenoue T, Trindade MC, Wong N, Goodman SB, Schurman DJ, Smith RL. Protective effects of intermittent hydrostatic pressure on osteoarthritic chondrocytes activated by bacterial endotoxin in vitro. *J Orthop Res* 2003b; 21: 117-22.

Lewis TW, Blott SC, Woolliams JA. Comparative analyses of genetic trends and prospects for selection against hip and elbow dysplasia in 15 UK dog breeds. *BMC Genet* 2013; 14: 16.

Li X, Bai J, Ji X, Li R, Xuan Y, Wang Y. Comprehensive characterization of four different populations of human mesenchymal stem cells as regards their immune properties, proliferation and differentiation. *Int J Mol Med* 2014; 34: 695-704.

Li Y, Jin M, Guo D, Shen S, Lu K, Pan R, Sun L, Zhang H, Shao J, Pan G. Unveiling the immunogenicity of allogeneic mesenchymal stromal cells: Challenges and strategies for enhanced therapeutic efficacy. *Biomed Pharmacother* 2024; 180: 117537.

Lin CR, Amaya F, Barrett L, Wang H, Takada J, Samad TA, Woolf CJ. Prostaglandin E2 receptor EP4 contributes to inflammatory pain hypersensitivity. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 319: 1096-103.

Lin CS, Lin G, Lue TF. Allogeneic and xenogeneic transplantation of adipose-derived stem cells in immunocompetent recipients without immunosuppressants. *Stem Cells Dev* 2012; 21: 2770-8.

Lo Monaco M, Gervois P, Beaumont J, Clegg P, Bronckaers A, Vandeweerdt JM, Lambrechts I. Therapeutic Potential of Dental Pulp Stem Cells and Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin for Osteoarthritis. *Cells* 2020; 9

Loening AM, James IE, Levenston ME, Badger AM, Frank EH, Kurz B, Nuttall ME, Hung HH, Blake SM, Grodzinsky AJ, Lark MW. Injurious mechanical compression of bovine articular cartilage induces chondrocyte apoptosis. *Arch Biochem Biophys* 2000; 381: 205-12.

Loeser RF. Aging and osteoarthritis: the role of chondrocyte senescence and aging changes in the cartilage matrix. *Osteoarthritis Cartilage* 2009; 17: 971-9.

Loeser RF, Goldring SR, Scanzello CR, Goldring MB. Osteoarthritis: a disease of the joint as an organ. *Arthritis Rheum* 2012; 64: 1697-707.

Lomas AL, Grauer GF. The renal effects of NSAIDs in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2015; 51: 197-203.

Maldonado M, Nam J. The role of changes in extracellular matrix of cartilage in the presence of inflammation on the pathology of osteoarthritis. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 284873.

Malek S, Sample SJ, Schwartz Z, Nemke B, Jacobson PB, Cozzi EM, Schaefer SL, Bleedorn JA, Holzman G, Muir P. Effect of analgesic therapy on clinical outcome measures in a randomized controlled trial using client-owned dogs with hip osteoarthritis. *BMC Vet Res* 2012; 8: 185.

Malm S, Fikse WF, Danell B, Strandberg E. Genetic variation and genetic trends in hip and elbow dysplasia in Swedish Rottweiler and Bernese Mountain Dog. *J Anim Breed Genet* 2008; 125: 403-12.

Man GS, Mologhianu G. Osteoarthritis pathogenesis - a complex process that involves the entire joint. *J Med Life* 2014; 7: 37-41.

Martel-Pelletier J. Pathophysiology of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 1999; 7: 371-3.

Martel-Pelletier J, Alaaeddine N, Pelletier JP. Cytokines and their role in the pathophysiology of osteoarthritis. *Front Biosci* 1999; 4: D694-703.

Martel-Pelletier J. Pathophysiology of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2004; 12 Suppl A: S31-3.

McAlindon TE, LaValley MP, Harvey WF, Price LL, Driban JB, Zhang M, Ward RJ. Effect of Intra-articular Triamcinolone vs Saline on Knee Cartilage Volume and Pain in Patients With Knee Osteoarthritis: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2017; 317: 1967-75.

McLaughlin R. Management of chronic osteoarthritic pain. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2000; 30: 933-49, ix.

Meeson RL, Todhunter RJ, Blunn G, Nuki G, Pitsillides AA. Spontaneous dog osteoarthritis - a One Medicine vision. *Nat Rev Rheumatol* 2019; 15: 273-87.

Meyer-Lindenberg A, Kilchling T. Use of mesenchymal stemcells in dogs. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 2018; 46: 416-25.

Michelsen J. Canine elbow dysplasia: aetiopathogenesis and current treatment recommendations. *Vet J* 2013; 196: 12-9.

Milton JL, Horne RD, Bartels JE, Henderson RA. Congenital elbow luxation in the dog. *J Am Vet Med Assoc* 1979; 175: 572-82.

Mokbel A, El-Tookey O, Shamaa AA, Sabry D, Rashed L, Mostafa A. Homing and efficacy of intra-articular injection of autologous mesenchymal stem cells in experimental chondral defects in dogs. *Clin Exp Rheumatol* 2011; 29: 275-84.

Monteiro BP, Lambert C, Bianchi E, Genevois JP, Soldani G, Troncy E. Safety and efficacy of reduced dosage ketoprofen with or without tramadol for long-term treatment of osteoarthritis in dogs: a randomized clinical trial. *BMC Vet Res* 2019; 15: 213.

Monteiro R, Azevedo I. Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *Mediators Inflamm* 2010; 2010

Monteiro-Stegall BP, Stegall PV, Lascelles BD. Systematic review of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced adverse effects in dogs. *J Vet Intern Med* 2013; 27: 1011-9.

Montgomery RD, Finn S, Cooper R. What is your diagnosis? Congenital elbow luxation with avascular necrosis of the femoral head, pathologic fracture of the femoral neck and bilateral medial luxation of the patellas in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 1993; 203: 1535-6.

Moore SA. Managing Neuropathic Pain in Dogs. *Front Vet Sci* 2016; 3: 12.

Moores AP, Benigni L, Lamb CR. Computed tomography versus arthroscopy for detection of canine elbow dysplasia lesions. *Vet Surg* 2008; 37: 390-8.

Moreau M, Lussier B, Doucet M, Vincent G, Martel-Pelletier J, Pelletier JP. Efficacy of licofelone in dogs with clinical osteoarthritis. *Vet Rec* 2007; 160: 584-8.

Moreau M, Lussier B, Ballaz L, Troncy E. Kinetic measurements of gait for osteoarthritis research in dogs and cats. *Can Vet J* 2014; 55: 1057-65.

Mostafa A, Nolte I, Wefstaedt P. Quantitative Radiographic Evaluation of Elbow Incongruity in Labrador and Golden Retrievers with Confirmed Medial Coronoid Disease. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2019; 32: 10-7.

Muir P, Hans EC, Racette M, Volstad N, Sample SJ, Heaton C, Holzman G, Schaefer SL, Bloom DD, Bleedorn JA, Hao Z, Amene E, Suresh M, Hematti P. Autologous Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Modulate Molecular Markers of Inflammation in Dogs with Cruciate Ligament Rupture. *PLoS One* 2016; 11: e0159095.

Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB, Barry FP. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 3464-74.

Musumeci G, Aiello FC, Szychlińska MA, Di Rosa M, Castrogiovanni P, Mobasher A. Osteoarthritis in the XXIst century: risk factors and behaviours that influence disease onset and progression. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 6093-112.

Nagamura-Inoue T, He H. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells: Their advantages and potential clinical utility. *World J Stem Cells* 2014; 6: 195-202.

Neogi T. Clinical significance of bone changes in osteoarthritis. *Ther Adv Musculoskelet Dis* 2012; 4: 259-67.

Neupane M, Chang CC, Kiupel M, Yuzbasiyan-Gurkan V. Isolation and characterization of canine adipose-derived mesenchymal stem cells. *Tissue Eng Part A* 2008; 14: 1007-15.

Niemeyer P, Szalay K, Luginbuhl R, Sudkamp NP, Kasten P. Transplantation of human mesenchymal stem cells in a non-autogenous setting for bone regeneration in a rabbit critical-size defect model. *Acta Biomater* 2010; 6: 900-8.

Nijnik A, Hancock RE. The roles of cathelicidin LL-37 in immune defences and novel clinical applications. *Curr Opin Hematol* 2009; 16: 41-7.

Nordquist B, Fischer J, Kim SY, Stover SM, Garcia-Nolen T, Hayashi K, Liu J, Kapatkin AS. Effects of trial repetition, limb side, intraday and inter-week variation on vertical and craniocaudal ground reaction forces in clinically normal Labrador Retrievers. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2011; 24: 435-44.

O'Neill DG, Church DB, McGreevy PD, Thomson PC, Brodbelt DC. Approaches to canine health surveillance. *Canine Genet Epidemiol* 2014; 1: 2.

O'Neill DG, Brodbelt DC, Hodge R, Church DB, Meeson RL. Epidemiology and clinical management of elbow joint disease in dogs under primary veterinary care in the UK. *Canine Med Genet* 2020; 7: 1.

Obel C, Bergstrom A, Comin A, Engdahl K. Long-term outcomes in dogs with elbow dysplasia, assessed using the canine orthopaedic index. *Vet Rec* 2023: e2950.

Oberbauer AM, Keller GG, Famula TR. Long-term genetic selection reduced prevalence of hip and elbow dysplasia in 60 dog breeds. *PLoS One* 2017; 12: e0172918.

Off W, Matis U. [Gait analysis in dogs. 2: Installation of a gait analysis laboratory and locomotion studies]. *Tierarztl Prax* 1997; 25: 303-11.

Olsen A, Johnson V, Webb T, Santangelo KS, Dow S, Duerr FM. Evaluation of Intravenously Delivered Allogeneic Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Elbow Osteoarthritis in Dogs: A Pilot Study. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2019; 32: 173-81.

Pavarotti GS, Hivernaud V, Brincin M, Roche R, Barreau P, Festy F, Gauthier O. Evaluation of a Single Intra-Articular Injection of Autologous Adipose Tissue for the Treatment of Osteoarthritis: A Prospective Clinical Study in Dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2020; 33: 258-66.

Pearle AD, Warren RF, Rodeo SA. Basic science of articular cartilage and osteoarthritis. *Clin Sports Med* 2005; 24: 1-12.

Pelatti MV, Gomes JP, Vieira NM, Cangussu E, Landini V, Andrade T, Sartori M, Petrus L, Zatz M. Transplantation of Human Adipose Mesenchymal Stem Cells in Non-Immunosuppressed GRMD Dogs is a Safe Procedure. *Stem Cell Rev Rep* 2016; 12: 448-53.

Pierini M, Dozza B, Lucarelli E, Tazzari PL, Ricci F, Remondini D, di Bella C, Giannini S, Donati D. Efficient isolation and enrichment of mesenchymal stem cells from bone marrow. *Cytotherapy* 2012; 14: 686-93.

Pietsch S, Steigmeier-Raith S, Reese S, Meyer-Lindenberg A. Reliability of kinetic measurements of healthy dogs examined while walking on a treadmill. *Am J Vet Res* 2020; 81: 804-9.

Pietsch S, Steigmeier-Raith S, Reese S, Meyer-Lindenberg A. Reliability of range-of-motion measurements of healthy dogs examined while walking on a treadmill. *Am J Vet Res* 2021; 82: 897-902.

Pigott JH, Ishihara A, Wellman ML, Russell DS, Bertone AL. Inflammatory effects of autologous, genetically modified autologous, allogeneic, and xenogeneic mesenchymal stem cells after intra-articular injection in horses. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2013; 26: 453-60.

Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-7.

Punzon E, Salguero R, Totusaus X, Mesa-Sanchez C, Badiella L, Garcia-Castillo M, Pradera A. Equine umbilical cord mesenchymal stem cells demonstrate safety and efficacy in the treatment of canine osteoarthritis: a randomized placebo-controlled trial. *J Am Vet Med Assoc* 2022; 260: 1947-55.

Punzon E, Garcia-Castillo M, Rico MA, Padilla L, Pradera A. Local, systemic and immunologic safety comparison between xenogeneic equine umbilical cord mesenchymal stem cells, allogeneic canine adipose mesenchymal stem cells and placebo: a randomized controlled trial. *Front Vet Sci* 2023; 10: 1098029.

Pye C, Bruniges N, Peffers M, Comerford E. Advances in the pharmaceutical treatment options for canine osteoarthritis. *J Small Anim Pract* 2022; 63: 721-38.

Quinn MM, Keuler NS, Lu Y, Faria ML, Muir P, Markel MD. Evaluation of agreement between numerical rating scales, visual analogue scoring scales, and force plate gait analysis in dogs. *Vet Surg* 2007; 36: 360-7.

Radin EL, Martin RB, Burr DB, Caterson B, Boyd RD, Goodwin C. Effects of mechanical loading on the tissues of the rabbit knee. *J Orthop Res* 1984; 2: 221-34.

Ragetly CA, Griffon DJ, Mostafa AA, Thomas JE, Hsiao-Wecksler ET. Inverse dynamics analysis of the pelvic limbs in Labrador Retrievers with and without cranial cruciate ligament disease. *Vet Surg* 2010; 39: 513-22.

Raith A (2010) Das ganganalytische Profil des Deutschen Schäferhundes - Eine Reevaluierung, Inauguraldissertation der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Rashid U, Yousaf A, Yaqoob M, Saba E, Moaen-Ud-Din M, Waseem S, Becker SK, Sponder G, Aschenbach JR, Sandhu MA. Characterization and differentiation potential of mesenchymal stem cells isolated from multiple canine adipose tissue sources. *BMC Vet Res* 2021; 17: 388.

Rausch-Derra L, Huebner M, Wofford J, Rhodes L. A Prospective, Randomized, Masked, Placebo-Controlled Multisite Clinical Study of Grapiprant, an EP4 Prostaglandin Receptor Antagonist (PRA), in Dogs with Osteoarthritis. *J Vet Intern Med* 2016; 30: 756-63.

Requicha JF, Viegas CA, Albuquerque CM, Azevedo JM, Reis RL, Gomes ME. Effect of anatomical origin and cell passage number on the stemness and osteogenic differentiation potential of canine adipose-derived stem cells. *Stem Cell Rev Rep* 2012; 8: 1211-22.

Rialland P, Bichot S, Moreau M, Guillot M, Lussier B, Gauvin D, Martel-Pelletier J, Pelletier JP, Troncy E. Clinical validity of outcome pain measures in naturally occurring canine osteoarthritis. *BMC Vet Res* 2012; 8: 162.

Ribitsch I, Burk J, Delling U, Geissler C, Gittel C, Julke H, Brehm W. Basic science and clinical application of stem cells in veterinary medicine. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2010; 123: 219-63.

Richardson DC, Schoenherr WD, Zicker SC. Nutritional management of osteoarthritis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1997; 27: 883-911.

Rozemuller H, Prins HJ, Naaijkens B, Staal J, Buhring HJ, Martens AC. Prospective isolation of mesenchymal stem cells from multiple mammalian species using cross-reacting anti-human monoclonal antibodies. *Stem Cells Dev* 2010; 19: 1911-21.

Russell KA, Chow NH, Dukoff D, Gibson TW, LaMarre J, Betts DH, Koch TG. Characterization and Immunomodulatory Effects of Canine Adipose Tissue- and Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells. *PLoS One* 2016; 11: e0167442.

Rychel JK. Diagnosis and treatment of osteoarthritis. *Top Companion Anim Med* 2010; 25: 20-5.

Ryder JJ, Garrison K, Song F, Hooper L, Skinner J, Loke Y, Loughlin J, Higgins JP, MacGregor AJ. Genetic associations in peripheral joint osteoarthritis and spinal degenerative disease: a systematic review. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 584-91.

Saka Y, Furuhashi K, Katsuno T, Kim H, Ozaki T, Iwasaki K, Haneda M, Sato W, Tsuboi N, Ito Y, Matsuo S, Kobayashi T, Maruyama S. Adipose-derived stromal cells cultured in a low-serum medium, but not bone marrow-derived stromal cells, impede xenoantibody production. *Xenotransplantation* 2011; 18: 196-208.

Salazar V, Dewey CW, Schwark W, Badgley BL, Gleed RD, Horne W, Ludders JW. Pharmacokinetics of single-dose oral pregabalin administration in normal dogs. *Vet Anaesth Analg* 2009; 36: 574-80.

Sallander MH, Hedhammar A, Trogen ME. Diet, exercise, and weight as risk factors in hip dysplasia and elbow arthrosis in Labrador Retrievers. *J Nutr* 2006; 136: 2050S-2S.

Samoy Y, Van Ryssen B, Gielen I, Walschot N, van Bree H. Review of the literature: elbow incongruity in the dog. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2006; 19: 1-8.

Sartini I, Giorgi M. Grapiprant: A snapshot of the current knowledge. *J Vet Pharmacol Ther* 2021; 44: 679-88.

Sasaki A, Mizuno M, Mochizuki M, Sekiya I. Mesenchymal stem cells for cartilage regeneration in dogs. *World J Stem Cells* 2019; 11: 254-69.

Schu S, Nosov M, O'Flynn L, Shaw G, Treacy O, Barry F, Murphy M, O'Brien T, Ritter T. Immunogenicity of allogeneic mesenchymal stem cells. *J Cell Mol Med* 2012; 16: 2094-103.

Screven R, Kenyon E, Myers MJ, Yancy HF, Skasko M, Boxer L, Bigley EC, 3rd, Borjesson DL, Zhu M. Immunophenotype and gene expression profile of mesenchymal stem cells derived from canine adipose tissue and bone marrow. *Vet Immunol Immunopathol* 2014; 161: 21-31.

Seidler S, Siedenburg J, Rhode M, Volk HA, Harms O. Dogs with Bilateral Medial Coronoid Disease Can Be Clinically Sound after Unilateral Arthroscopic Fragment Removal- Preliminary Study. *Animals (Basel)* 2023; 13

Shah K, Drury T, Roic I, Hansen P, Malin M, Boyd R, Sumer H, Ferguson R. Outcome of Allogeneic Adult Stem Cell Therapy in Dogs Suffering from Osteoarthritis and Other Joint Defects. *Stem Cells Int* 2018; 2018: 7309201.

Shahsavari A, Weeratunga P, Ovchinnikov DA, Whitworth DJ. Pluripotency and immunomodulatory signatures of canine induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stromal cells are similar to harvested mesenchymal stromal cells. *Sci Rep* 2021; 11: 3486.

Sharkey M. The challenges of assessing osteoarthritis and postoperative pain in dogs. *AAPS J* 2013; 15: 598-607.

Shubert MP, Filliquist B, Chou PY, Kapatkin AS, Spriet M, Kim SY, Garcia TC, Marcellin-Little DJ. Results of using multiplanar reconstructed CT images for assessing elbow joint osteoarthritis in dogs are consistent with results of radiographic assessment. *Am J Vet Res* 2022; 83

Silawal S, Triebel J, Bertsch T, Schulze-Tanzil G. Osteoarthritis and the Complement Cascade. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord* 2018; 11: 1179544117751430.

Silver FH, Bradica G, Tria A. Elastic energy storage in human articular cartilage: estimation of the elastic modulus for type II collagen and changes associated with osteoarthritis. *Matrix Biol* 2002; 21: 129-37.

Stannus O, Jones G, Cicuttini F, Parameswaran V, Quinn S, Burgess J, Ding C. Circulating levels of IL-6 and TNF-alpha are associated with knee radiographic osteoarthritis and knee cartilage loss in older adults. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18: 1441-7.

Takemitsu H, Zhao D, Yamamoto I, Harada Y, Michishita M, Arai T. Comparison of bone marrow and adipose tissue-derived canine mesenchymal stem cells. *BMC Vet Res* 2012; 8: 150.

Taroni M, Cabon Q, Febre M, Cachon T, Saulnier N, Carozzo C, Maddens S, Labadie F, Robert C, Viguiet E. Evaluation of the Effect of a Single Intra-articular Injection of Allogeneic Neonatal Mesenchymal Stromal Cells Compared to Oral Non-Steroidal Anti-inflammatory Treatment on the Postoperative Musculoskeletal Status and Gait of Dogs over a 6-Month Period after Tibial Plateau Leveling Osteotomy: A Pilot Study. *Front Vet Sci* 2017; 4: 83.

Thorborg K, Roos EM, Bartels EM, Petersen J, Holmich P. Validity, reliability and responsiveness of patient-reported outcome questionnaires when assessing hip and groin disability: a systematic review. *Br J Sports Med* 2010; 44: 1186-96.

Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 726-36.

van de Loo FA, Joosten LA, van Lent PL, Arntz OJ, van den Berg WB. Role of interleukin-1, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-6 in cartilage proteoglycan metabolism and destruction. Effect of in situ blocking in murine antigen- and zymosan-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 164-72.

Van Hecke L, Magri C, Duchateau L, Beerts C, Geburek F, Suls M, Da Dalt L, Patruno M, Saunders J, Broeckx SY, Depuydt E, Spaas JH. Repeated intra-articular administration of equine allogeneic peripheral blood-derived mesenchymal stem cells does not induce a cellular and humoral immune response in horses. *Vet Immunol Immunopathol* 2021; 239: 110306.

Van Ryssen B, van Bree H. Arthroscopic findings in 100 dogs with elbow lameness. *Vet Rec* 1997; 140: 360-2.

Vandeweerdt JM, Zhao Y, Nisolle JF, Zhang W, Zhihong L, Clegg P, Gustin P. Effect of corticosteroids on articular cartilage: have animal studies said everything? *Fundam Clin Pharmacol* 2015; 29: 427-38.

Vilar JM, Morales M, Santana A, Spinella G, Rubio M, Cuervo B, Cugat R, Carrillo JM. Controlled, blinded force platform analysis of the effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells associated to PRGF-Endoret in osteoarthritic dogs. *BMC Vet Res* 2013; 9: 131.

Vilar JM, Batista M, Morales M, Santana A, Cuervo B, Rubio M, Cugat R, Sopena J, Carrillo JM. Assessment of the effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells in osteoarthritic dogs using a double blinded force platform analysis. *BMC Vet Res* 2014; 10: 143.

Vilar JM, Cuervo B, Rubio M, Sopena J, Dominguez JM, Santana A, Carrillo JM. Effect of intraarticular inoculation of mesenchymal stem cells in dogs with hip osteoarthritis by means of objective force platform gait analysis: concordance with numeric subjective scoring scales. *BMC Vet Res* 2016; 12: 223.

Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 1999; 282: 2131-5.

Volk SW, Wang Y, Hankenson KD. Effects of donor characteristics and ex vivo expansion on canine mesenchymal stem cell properties: implications for MSC-based therapies. *Cell Transplant* 2012; 21: 2189-200.

Voss K, Wiestner T, Galeandro L, Hassig M, Montavon PM. Effect of dog breed and body conformation on vertical ground reaction forces, impulses, and stance times. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2011; 24: 106-12.

Wagner J, Kean T, Young R, Dennis JE, Caplan AI. Optimizing mesenchymal stem cell-based therapeutics. *Curr Opin Biotechnol* 2009; 20: 531-6.

Walton MB, Cowderoy E, Lascelles D, Innes JF. Evaluation of construct and criterion validity for the 'Liverpool Osteoarthritis in Dogs' (LOAD) clinical metrology instrument and comparison to two other instruments. *PLoS One* 2013; 8: e58125.

Wang T, He C. Pro-inflammatory cytokines: The link between obesity and osteoarthritis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2018; 44: 38-50.

Warmink K, Rios JL, Varderidou-Minasian S, Torres-Torrillas M, van Valkengoed DR, Versteeg S, Eijkelkamp N, Weinans H, Korthagen NM, Lorenowicz MJ. Mesenchymal stem/stromal cells-derived extracellular vesicles as a potentially more beneficial therapeutic strategy than MSC-based treatment in a mild metabolic osteoarthritis model. *Stem Cell Res Ther* 2023; 14: 137.

Waterman RS, Tomchuck SL, Henkle SL, Betancourt AM. A new mesenchymal stem cell (MSC) paradigm: polarization into a pro-inflammatory MSC1 or an Immunosuppressive MSC2 phenotype. *PLoS One* 2010; 5: e10088.

Waxman AS, Robinson DA, Evans RB, Hulse DA, Innes JF, Conzemius MG. Relationship between objective and subjective assessment of limb function in normal dogs with an experimentally induced lameness. *Vet Surg* 2008; 37: 241-6.

Weiss ML, Troyer DL. Stem cells in the umbilical cord. *Stem Cell Rev* 2006; 2: 155-62.

Wernecke C, Braun HJ, Dragoo JL. The Effect of Intra-articular Corticosteroids on Articular Cartilage: A Systematic Review. *Orthop J Sports Med* 2015; 3: 2325967115581163.

Whaley D, Damyar K, Witek RP, Mendoza A, Alexander M, Lakey JR. Cryopreservation: An Overview of Principles and Cell-Specific Considerations. *Cell Transplant* 2021; 30: 963689721999617.

Whitworth DJ, Banks TA. Stem cell therapies for treating osteoarthritis: prescient or premature? *Vet J* 2014; 202: 416-24.

Wits MI, Tobin GC, Silveira MD, Baja KG, Braga LMM, Sesterheim P, Camassola M, Nardi NB. Combining canine mesenchymal stromal cells and hyaluronic acid for cartilage repair. *Genet Mol Biol* 2020; 43: e20190275.

Witsberger TH, Villamil JA, Schultz LG, Hahn AW, Cook JL. Prevalence of and risk factors for hip dysplasia and cranial cruciate ligament deficiency in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2008; 232: 1818-24.

Wood JL, Lakhani KH. Effect of month of birth on hip dysplasia in labrador retrievers and Gordon setters. *Vet Rec* 2003; 152: 69-72.

Woolliams JA, Lewis TW, Blott SC. Canine hip and elbow dysplasia in UK Labrador retrievers. *Vet J* 2011; 189: 169-76.

Wu Y, Chen L, Scott PG, Tredget EE. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis. *Stem Cells* 2007; 25: 2648-59.

Xu X, Xu L, Xia J, Wen C, Liang Y, Zhang Y. Harnessing knee joint resident mesenchymal stem cells in cartilage tissue engineering. *Acta Biomater* 2023; 168: 372-87.

Yamasaki S, Hashimoto Y, Takigami J, Terai S, Mera H, Nakamura H, Wakitani S. Effect of the direct injection of bone marrow mesenchymal stem cells in hyaluronic acid and bone marrow stimulation to treat chondral defects in the canine model. *Regen Ther* 2015; 2: 42-8.

Yaneselli KM, Kuhl CP, Terraciano PB, dos Santos de Oliveira F, Pizzato SB, Pazza K, Magrisso AB, Torman V, Rial A, Moreno M, Llambi S, Cirne Lima E, Maisonnave J. Comparison the characteristics of canine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells extracted from different sites and at different passage numbers. *J Vet Sci* 2017;

Yu H, Huang T, Lu WW, Tong L, Chen D. Osteoarthritis Pain. *Int J Mol Sci* 2022; 23

Yun S, Ku SK, Kwon YS. Adipose-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma synergistically ameliorate the surgical-induced osteoarthritis in Beagle dogs. *J Orthop Surg Res* 2016; 11: 9.

Zeng C, Lane NE, Hunter DJ, Wei J, Choi HK, McAlindon TE, Li H, Lu N, Lei G, Zhang Y. Intra-articular corticosteroids and the risk of knee osteoarthritis progression: results from the Osteoarthritis Initiative. *Osteoarthritis Cartilage* 2019; 27: 855-62.

Zhang BY, Wang BY, Li SC, Luo DZ, Zhan X, Chen SF, Chen ZS, Liu CY, Ji HQ, Bai YS, Li DS, He Y. Evaluation of the Curative Effect of Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell Therapy for Knee Arthritis in Dogs Using Imaging Technology. *Stem Cells Int* 2018; 2018: 1983025.

Zhang H, Cai D, Bai X. Macrophages regulate the progression of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2020; 28: 555-61.

Zhang N, Dietrich MA, Lopez MJ. Canine intra-articular multipotent stromal cells (MSC) from adipose tissue have the highest in vitro expansion rates, multipotentiality, and MSC immunophenotypes. *Vet Surg* 2013; 42: 137-46.

VIII. DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich mich herzlich bei Frau Prof. Dr. Andrea Meyer-Lindenberg für diese interessante Studie und ihre engagierte Unterstützung bei der Durchführung der Studie und der Anfertigung dieser Arbeit bedanken.

Besonderen Dank geht an Dr. Maike Schroers. Durch ihre Unterstützung, fachlichen Input, immerwährende Motivation und ihren festen Glauben an diese Arbeit war es überhaupt nur möglich, diese anzufertigen. Ich danke Maike von Herzen für unsere Freundschaft und ihren Beistand, der so nicht selbstverständlich ist.

Großen Dank geht auch an Dr. Anja Waselau für ihre Unterstützung im Labor, bei der Auswertung der Daten, ihre Motivation und Hilfe bei allen Fragen und Organisatorischem.

Großer Dank geht auch an Dr. Stephanie Steigmeier-Raith für Ihre Unterstützung im Ganganalyselabor, für ihre geduldigen Einarbeitung, für ihre Hilfe bei allen Fragen und ihr Engagement.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Privatdozent Dr. Sven Reese für seine große Hilfe bei der statistischen Auswertung und beim Anfertigen der Veröffentlichung.

Auch allen Mitarbeitern der Chirurgischen Kleintierklinik danke ich für die lehrreiche Zusammenarbeit, ihre Unterstützung und Hilfsbereitschaft.

Schließlich und besonders möchte ich mich bei meiner Familie bedanken. Bei meinen Eltern und meiner Schwester, mit deren Unterstützung, Liebe und Zusammenhalt ich immer rechnen kann. Ihr Rückhalt hat mich durch alle Lebensphasen getragen und ich bin ihnen zutiefst dankbar dafür. Ohne Steffi, Dino und Maike und ihren Einfallsreichtum, meinen Sohn zu bespaßen, wären einige dieser Seiten heute noch nicht geschrieben und viele Abende nicht so schön, wie sie waren. Meinem Mann danke ich von ganzem Herzen für seine Liebe, Unterstützung, Rückhalt und Rücksichtnahme. Ich danke ihm für seine Textkorrekturen, seine aufbauenden Worte und seine Geduld mit mir. Unsere Familie ist das wertvollste Gut und mein Zuhause bei ihm.