

## Sluttrapport for prosjekt no 229243

### HESTEFORSK

#### 'Biologisk leddbehandling' – cytokinprofil i Autolog Kondisjonert Serum (AKS) – H1247030

Autologt kondisjonert serum (AKS) er en form for biologisk leddbehandling som brukes i hestepraktis. AKS lages fra hest eget blod, ved at blodcellene stimuleres til å produsere kroppens egne betennelsesdempende stoff (cytokiner og vekstfaktorer). Sluttproduktet, kjent som AKS, sprøytes tilbake i det vonde leddet og kan gi bedring leddbruskskader og reduserte kliniske tegn i form av halthet og leddfylling.

Det er påvist store forskjeller i innholdet av cytokiner og vekstfaktorer i AKS preparert fra ulike hester. Det har hittil ikke eksistert noen retningslinjer for når AKS kan prepareres fra den enkelte hest, for eksempel i forhold til leddkirurgi. All kirurgi forårsaker en viss stressrespons hos hesten, som kan måles i økte nivåer av akutfaseprotein i blod. Formålet med prosjektet var å identifisere eventuelle sammenhenger mellom akutfaseprotein-stigning utløst av kirurgi, og nivå av cytokiner og vekstfaktorer i AKS. Resultatene forventes brukt til å etablere retningslinjer for når en kan preparere AKS fra hester som skal eller har gjennomgått kirurgi, og dermed bidra til 'best practice'.

#### *Resultater*

Vi fant signifikant lavere nivå av vekstfaktoren TGF- $\beta$ 1 og cytokinet IL-1Ra i AKS preparert fra hester som hadde høye akutfaseproteiner post-operativt sammenlignet med hester som hadde lavere nivåer av akutfaseproteiner. I alle blodprøver tatt post-operativt fant vi også signifikant lavere nivåer av vekstfaktoren IGF-1 sammenlignet med pre-operative prøver. Ut fra disse resultatene konkluderer vi med at en akutfaserespons utløst av kirurgisk stress, påvirker nivåene av cytokiner og vekstfaktorer i AKS i negativ retning. AKS bør dermed ikke prepareres fra hester som har en høy akutfaseproteinrespons. I klinisk praksis betyr dette at blod for preparering av AKS må tas fra hesten enten før hesten skal gjennom et kirurgisk inngrep, eller lang nok tid etter kirurgi slik at akutfaseproteinene har normalisert seg.

#### *Sentrale miljø*

Prosjektet ble i sin helhet utført ved Norges veterinærhøgskole. Blodprøveinnsamling foregikk ved Institutt for Sports- og familiedyrmedisin, Seksjon for hestesjukdommer, og alle analyser ble utført ved Institutt for mattrygghet og infeksjonsbiologi, Seksjon for immunologi.

#### *Prosjektgjennomføring*

Prosjektmåsettingen har blitt oppfylt uten avvik og prosjektet har blitt gjennomført innenfor den innvilgede kostnadsrammen. Det ble søkt om ett års utsettelse for slutføring av prosjektet på grunn av ett års permisjon for hovedsøkeren. Dette har imidlertid ikke påvirket prosjektgjennomføringen.

#### *Nytteverdi / betydning*

Det eksisterer relativt lite evidens-basert materiale rundt den kliniske bruken av AKS til hest. Resultatene fra dette prosjektet bidrar dermed vesentlig til kunnskapsbasen om peri-operativt bruk av biologisk leddbehandling hos hest. Resultatene har allerede medført endring i klinisk praksis internt ved Seksjon for hestesjukdommer ved NMBU. Resultatene har også vakt internasjonal oppmerksomhet, og har trolig endret klinisk praksis ved hesteklinikker også eksternt.

#### *Formidling / utnyttelse av resultat*

Resultatene ble publisert som en vitenskapelig artikkel i et svært prestisjefullt internasjonalt veterinærmedisinsk tidsskrift (Equine Veterinary Journal; EVJ). Av hestespesifikke tidsskrift rangeres

dette høyst med tanke på impact factor (2.374 pr. januar 2016), og av alle veterinærtidsskrift rangeres dette som nummer 9 (rangert etter impact factor). Artikkelen har allerede blitt referert på flere internasjonale vitenskapelige konferanser, slik som European College of Veterinary Surgeons 24<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting, Berlin 2015; og American Association of Equine Practitioners 61<sup>st</sup> Annual Convention, Las Vegas 2015, av andre forskere som jobber med AKS-relaterte prosjekter.

#### *Resultat som forventes ferdigstilt etter prosjektets slutt*

Ut over det som allerede er publisert i hovedartikkelen for dette prosjektet, vil vi fortsette bearbeiding av laboratoriedata som kan resultere i ny viten angående individ-spesifikke faktorer for cytokin- og vekstfaktorproduksjon i AKS.

#### *Populærvitenskaplig fremstilling*

I moderne hestehold er ledd-relaterte haltheter et stort dyrevelferdsmessig problem som også gir betydelig økonomisk tap. Osteoartritt er en av de vanligste årsakene til halthet hos sportshester, og oppstår som følge av skade og overbelastning. Kliniske tegn på OA er leddfylling, nedsatt bevegelighet, og leddsmerte som resulterer i halthet. Tradisjonell behandling av leddlidelser hos hest dreier seg om en kombinasjon av konservativ terapi (hvile, begrenset aktivitet) og leddbehandling med betennelsesdempende legemidler, slik som kortikosteroider og hyaluronsyre. Hensikten med slik terapi er å begrense leddbetennelsen og derved bremse videre progresjon av leddlidelsen. *Biologisk leddbehandling* dreier seg om å utnytte kroppens eget arsenal av betennelsesdempende stoffer til leddbehandlingen. Dette er en behandlingsmetode som har vært beskrevet i human-medisin siden 1990-tallet, og går ut på å preparere pasientens eget blod slik at hvite blodlegemer produserer kroppsegne betennelsesdempende stoff samt vekstfaktorer. Sluttproduktet, kjent som autolog kondisjonert serum (AKS), benyttes lokalt på skadestedet, for eksempel i det vonde leddet.

I hestep praksis er leddbehandling med AKS blitt mer og mer vanlig, spesielt for ledd som ikke responderer på konvensjonelle legemidler. AKS brukes også forebyggende, og etter leddkirurgi. Behandling med AKS har vist å gi signifikant bedring av halthetsgraden og leddfylling hos hester med eksperimentelt induisert osteoartritt. Det foreligger imidlertid ingen kontrollerte kliniske studier på effekten av AKS, og heller ikke retningslinjer for bruk for eksempel i forbindelse med kirurgi. Per dags dato har innholdet av betennelsesdempende stoff i AKS ikke blitt sett i sammenheng med pasientrelaterte faktorer. Hos hest utløser kirurgi en signifikant, hurtig og reproducerbar økning i konsentrasjonen av et akutfaseprotein, serum amyloid A (SAA). SAA stiger også ved sykdom og andre typer stress hesten kan utsettes for. Siden cellene som produserer 'virkestoffene' i AKS også er en viktig del av hestens immunforsvar, er det interessant å undersøke om tilstander som påvirker immunforsvaret også vil påvirke innholdet i AKS.

Formålet med prosjektet var å undersøke om innholdet av betennelsesdempende stoff og vekstfaktorer i AKS var forskjellig hos hester før og etter de gjennomgikk en rutineoperasjon (kastasjon). Blodprøver fra totalt 15 hingster ble tatt for preparering av AKS før og 24 timer etter kastasjon gjort rutinemessig under narkose. Mengden av totalt 2 betennelsesdempende stoff, 2 betennelsesdrivende stoff, og 2 vekstfaktorer ble undersøkt i alle de ferdige AKS-prøvene. I alle prøvene tatt etter operasjonen fant vi lavere nivå av én vekstfaktor sammenlignet med prøven tatt før inngrepet. I tillegg fant vi signifikant lavere nivå av én vekstfaktor og ett betennelsesdempende stoff hos hester med høye SAA-nivåer etter operasjonen sammenlignet med hester som hadde lavere nivåer av SAA etter inngrepet.

Ut i fra disse resultatene konkluderer vi med at en akutfaserespons utløst av kirurgisk stress, påvirker nivåene av betennelsesdempende stoff og vekstfaktorer i AKS i negativ retning. AKS bør dermed ikke prepareres fra hester med høyt nivå av SAA i blodet. I klinisk praksis betyr dette at dersom en planlegger behandling med AKS i forbindelse med leddkirurgi, må blodprøven for preparering av AKS tas fra hesten enten før hesten skal gjennom inngrepet, eller lang nok tid etter operasjonen slik at akutfaseproteinene har normalisert seg.

Det eksisterer fremdeles relativt lite evidens-basert materiale rundt den kliniske bruken av AKS til hest. Resultatene fra dette prosjektet bidrar dermed vesentlig til kunnskapsbasen om perioperativ bruk av biologisk leddbehandling hos hest. Resultatene har vakt internasjonal oppmerksomhet, og har trolig endret klinisk praksis ved flere hesteklinikker i inn- og utland.