

SLUTRAPPORT

INFLAMMATIONSMEDIATORERS BETYDELSE VID OSTEOARTRIT (OA) HOS HÄST (H1047008-K02).

Huvudsökande och författare: Stina Ekman, Institutionen för BVF, avdelningen för patologi, farmakologi och toxikologi, SLU, Uppsala.

Bakgrund

Vid osteoartrit (OA) är inflammationen och den mekaniska belastningen viktiga faktorer som initierar sjukdomen. Inflammationen vidmakthåller nedbrytningen av broskvävnaden och på så sätt progredierar sjukdomen som upptäcks oftast för sent då kroniska skador etablerats i leden. För att bättre förstå vad som orsakar kroniska ledsador, såsom OA, med hälta som följd, hos våra tävlings- och hobbyhästar måste vi förstå vad som startar och vidmakthåller inflammationen, hur ledbroskets cellkomposition påverkas och vilka molekyllära signalvägar som aktiveras eller nedregleras under processen. Om vi kan korrelera inflammationsmediatorerna till proteinfragmentering och cellkomposition vid tidig OA, kan denna kunskap möjliggöra utvecklandet av unika mätmetoder för ledbroskets hälsotillstånd. Dessa mätmetoder kan sedan utnyttjas för anpassning av träningsprogram, konvalescensprogram samt utvärdering av olika antiinflammatoriska intraartikulära ledbehandlingar.

Vid OA hos häst anses en inflammation i synovialmembranet (synovit) och/eller ledkapseln (kapsulit) nästan alltid förekomma i anslutning till ledsadan (McIlwraith, 1996). Det är därför ytterst viktigt att kartlägga den inflammatoriska processen och dess påverkan på vävnaden i leden. Hästens OA är, till skillnad från människans, vanligen inte åldersrelaterad, utan den mekaniska belastningen med ett frekvent trauma då hästen tävlar och tränar vid ett högt tempo spelar en stor roll tillsammans med den tidiga inflammationen (synoviten/kapsuliten), där den pro-inflammatoriska cytokinen interleukin-1 beta (IL-1 β) har en initial roll (Pelletier & Martel-Pelletier, 1989; Trumble et al., 2001; Weaver et al., 2006). *In vitro* försök på kondrocyter från ekvint ledbrosk har visat att IL-1 β - och TNF- α -behandling av cellerna ger ett ökat uttryck av MMP:s, men inte TIMP, vilket resulterar i en brosknedbrytning (Richardson & Dodge, 2000). *In vitro* studier har också visat att den anabola effekten som TGF- β framkallar, med en ökning av proteoglykansyntesen i ekvint ledbrosk, oavsett hästens ålder, tyvärr nedregleras av IL-1 β (Iqbal et al., 2000). Studier avseende aktiviteten av olika MMP:s i ledvätska från hästar med OA har visat att den totala aktiviteten i ledvätska är högre vid OA i kotleden än i normal hasled eller i hasleder med osteokondros (Brama et al., 1998). Aktivitet av IL-1 β i serum och ledvätska från hästar med OA påvisades för 20 år sedan av Alwan och medarbetare (1991). Tyvärr är alla publicerade undersökningar avseende IL-1 β förekomst i ledvätska och serum hos häst utförda med analysmetoder framtagna för humana cytokiner (Bertrone et al., 2001), som inte är specifika för ekvint IL-1 β . När det gäller IL-1 β är homologin mellan häst och andra species, inkluderande människa endast 65-75% på aminosyranivå, vilket medför att antikroppar mot cytokiner sällan kan användas över artgränser.

Mycket forskning är koncentrerad på att hitta kliniska biomarkörer för inflammation vid OA hos häst (McIlwraith, 2005). Varierande koncentrationer av COMP (Skiöldebrand et al., 2001), prostaglandin (Frisbie et al., 2008), HMGB-1 (Trumble et al., 2009), och IL-6 (Ley et al., 2010) har visats hos hästar med OA.

Det är också visat att den mekaniska belastningen och inflammationen leder till en aktivering av kondrocyter med bildandet av s.k. klusterformationer. Flera av cellerna i dessa ansamlingar har ändrat fenotyp och uttrycker kollagen typ X, en markör för hypertrofi, men det finns också indikationer på att vissa av cellerna kan vara progenitor celler med stamcells-karakteristika (Schroepfle et al 2011).

SLUTRAPPORT

Vårt övergripande mål är att: ”bättre förstå utvecklingen av OA, som leder till hälta”. Detta gör vi genom att studera proinflammatoriska cytokiner (IL-1 β , HMGB-1, IL-6) som startar och vidmakthåller inflammationen samt cytokiner (IL-6, IL-10, IL-1ra) som bromsar eller modulerar processen. Dessutom inkluderar undersökningarna vilka molekylära signalvägar som aktiveras eller nedregleras under OA-processen och därmed kan ge en ändrad fenotyp av broskcellen, vilket antingen resulterar i terminal differentiering av broskcellen med irreversibel skada alternativt ger aktivering av progenitor eller stam-celler, med kapacitet för läkning.

Material och metoder

Maria Löfgren (ML) anställdes som doktorand och antogs som forskarstuderande i projektet den 1 juni, 2011. ML presenterade sitt halvtidsseminarium den 23 maj 2013 och bedömdes ha kommit halvvägs i institutionens forskarutbildning. Planerad disputation i juni 2015.

Kommersiella hästspecifik ELISA för IL-1 β och HMGB-1 har använts och validerats för ledvätska sen tidigare (FORMAS finansiering). Ytterligare kommersiella hästspecifika immunoassayer finns för analys av cellkultur supernatanter, men dessa är inte validerade för ledvätska och/eller serum hos häst; ELISA-kit för analys av ekvint IL-1 β , IL-receptor antagonist (IL-1ra), TNF- α , IL-6, IL-2, IL-10, IL-4 och IFN- γ , samt antikroppar mot flera ekvina proteiner (http://www.rndsystems.com/product_results.aspx?k=equine ELISA).

Vi har nu fungerande ELISA för IL-1 β och HMGB-1 för ekvin ledvätska och serum. ELISA för hästspecifika IL-1ra och IL-10 är provade men fungerar endast hjälpligt. Detta utvecklingsarbete kommer att fortsätta, inom ramen för ett nytt FORMAS-finansierat projekt ”Identifiering av unika proteinfragment i skelettsjukdomar hos gris och häst; nya biomarkörer som kan användas för att upptäcka tidig osteokondros (OC) och osteoartrit (OA)”. (FORMAS; 221-2013-317).

Koncentrationen av olika inflammationsmediatorer i ledvätska och serum mäts med ovan hästspecifika analyser. Detta görs på redan insamlat material som finns tillgängligt i en bank av ledspecifikt material och på material som har samlats under projektiden i samarbete med VMD Marie Rhodin och docent Karin Holm-Forsström på inst. för Kliniska Vetenskaper (KV), SLU (se nedan D): Denna insamling kommer att fortgå med finansiering av FORMAS (2013-2016). Materialinsamling från hästar som genomgått hältutredning med s.k. ”lameness locator” – samt hästar som genomgått artroskopi, som del av hältundersökning vid Mälarkliniken (VMD Bengt Roneus) påbörjades under hösten 2011 och fortgår. Etisk ansökan är godkänd fram till maj 2018. (Etiskt tillstånd från Uppsala Djurförsöksetiska nämnd fram till 2018-05-30 (C62/13).) . Den pågående insamlingen inkluderar serum, plasma, ledvätska, ledkapsel och eventuella osteokondrala fragment.

Koncentrationsbetsämning av IL-1 β och HMGB-1 in ledvätska och serum prover:

- A) Material, inkluderande leder som är, normala (24) eller har milda (11) och moderata (32) kroniska broskskador, insamlat från slakteri (Skiöldebrand et al., 2001).
- B) Material insamlat från halta hästar som genomgått en artroskopi (30 hästar fram till dagens datum).
- C) Materialet från friska tränande hästar, där 28 hästar följts från 1 års ålder till tävlingsstart som 2 eller 3 åring (Skiöldebrand et al., 2006).
- D) Material insamlat från hästar som genomgått hältutredning med ”lameness locator” – metoden (50 hästar fram till dagens datum).

SLUTRAPPORT

Lameness locator som används är ett rörelseanalyssystem för att detektera hältor. Systemet bygger på accelerometerteknik, är trådlöst och validerat på hästar på rakt spår (Keegan *et al.* 2004, Kramer *et al.* 2004). Det består av två sensorer med accelerometrar samt en sensor med mikrogyroteknik. Vid mätningen fästs två sensorer på hästen, en i nackstycket på huvudlaget och en på korset, vilka mäter den vertikala accelerationen och som ger ett mått på asymmetrin/hältan. En tredje sensor fästs på hästens högra framben, där man med gyrometri registrerar hästens stegcykel. Huvudet och korsets rörelser kan sedan relateras till stegcykeln för att avgöra vilket ben som är orsaken till asymmetrin/hältan. Man får då även information om var i stegcykeln hättan uppträder, d.v.s. vid isättning, maximal belastning eller frånskjut. Mätningarna sker trådlöst och beräkning av data utförs sedan i ett väl utvecklat mjukvarusystem.

Vi koncentrerar oss på framtagandet av ELISA för ekvint IL-10, IL-6 och IL1ra som kan användas på ledvätska, serum och plasma. Tyvärr är alla dessa analyser dyra, men vi har genom att involvera veterinärstudenter under sista året, via en extra studiepeng (examensarbete) kunnat finansiera detta. Mirijam Dagens Boström (2013) Jon Samulesson och Emma Lassa (2014).

Studier för att fast ställa inflammationens (inflammationsmediatorer och dess signalvägar) betydelse initialt i sjukdomsförloppet.

Undersökningar *in vitro*:

Vi har utvecklat och validerat en inflammationsmodell för hästbrosk, (där cellerna odlas 3-dimensionellt i pellets och sedan stimuleras med IL-1 β , se nedan figur 1). Denna är uppsatt både på Sahlgrenska universitetssjukhuset, Göteborg och på SLU (Ley *et al* 2010).

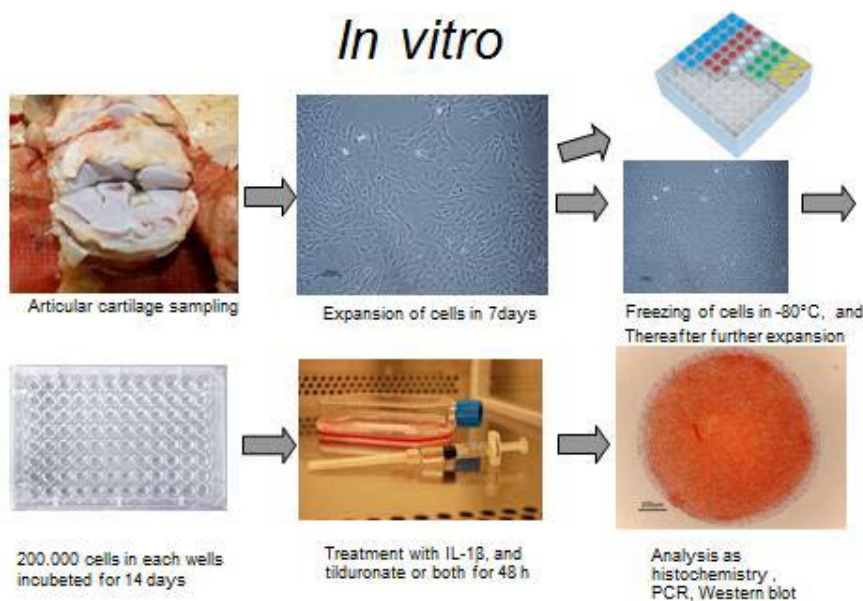


Fig. 1

Broskmodellen används för studier ämnade att förstå osteoarthritis inflammationprocess, med dess specifika signalvägar. De cytokiner och molekylära fragment som påvisas *in vitro* med hjälp av cellkulturer och explants kommer att studeras ytterligare *in vivo* på det insamlade kliniska materialet (se ovan A-D).

Studier för att screena biologiska nedbrytningsfragment i brosk i syfte att relatera dessa till tidig sjukdom:

SLUTRAPPORT

Även explants från hästens ledbrusk har behandlats med interleukin-1 β , och molekylära faktorer avseende inflammation i olika tidsinterall (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 dagar) har studerats med hjälp av mass-spektrometriska metoder (proteomik) (Svala E, Löfgren M et al i manuskript). Inflammationens förlopp med förändrad matrixmetabolism och matrixfragmentering har kartlagts. Fördelen med dessa studier är att de är longitudinella och därmed kan visa hur matrix metabolismen förändras under ett tidsförlopp. Detta har gett oss en *in vitro* modell av OA-processen, med en tidskurva av broskmatrix-fragmenteringen, som inte går att uppnå *in vivo*.

Resultaten från denna *in vitro* studie kommer att ligga till grund för biomarkörer som kan monitorera OA processen *in vivo*.

Immunohistokemiska undersökningar av tillväxt- och led-brusk.

Ett större arbete för att kartlägga stamceller i hästens tillväxtbrusk och identifiera stamcells nichen i Ranviers zon, har genomförts. Tillväxtbrusk från 4.5, 6.5, och 10 månaders gamla foster, 2 dagar, 1 och 2 år gamla hästar har studerats. Tillväxtbrusk från distala radius från dessa individer har undersökts med immunohistokemiska metoder avseende uttryck av Stro-1, Notch1, Hes1, Delta4, Jagged1, EGFL7 och matrix komponenterna; Matrilin-1, COMP, fibromodulin, och chondroadherin.

I tidigare projekt H0947014 (Eva Skiöldebrand) har vi i inflammationsmodell systemet identifierat specifika fragment orsakade av nedbrytning av proteiner i extra cellulär matrix (Slutrapport 2013-09-09). Vi kommer att söka efter ytterligare proteiner som fragmenterats och där det har genererats nya klyvningsställen, neo-epitoper, och proteinfragment som speglar nedbrytningsprocessen i brosket. Proteinernas fragment, som vi screenar, frisätts under distinkta tider i inflammationsförloppet och vi kommer att välja fragment som genereras tidigt, i mitten och sent under odlingstiden. På så sätt kan vi monitorera sjukdomsprogressionen då t.ex. en tidig skada inte ska innehålla fragment som genereras i mitten eller sent. Däremot kan en mer långtgående och kronisk skada identifieras med fragment som både genereras tidigt, i mitten och sent.

Identifiering av potentiella biomarkörer görs genom optimerad proteomics (Wilson et al 2009) via masspektrometri/proteomics och relativ kvantifiering med ”isobaric tandem mass tags (TMT)”. I korthet; friskt ledbrusk från häst stimulerades med IL1 β *in vitro* i 3,6,9,12,15,18 och 22 dagar. Genom att använda TMT-metoden identifierade vi 120 proteiner i media från dessa explants. COMP peptider kvantifierades och fragmenterades vid olika tidsintervaller.

Autologt konditionerat serum (ACS) används som behandling vid OA sedan flera år men dess exakta innehåll eller påverkan på inflammerat ledbrusk är inte utredd. Då denna kliniska behandling av OA hos häst har ökat är det av högsta prioritet att utvärdera ACS innehåll och farmakologiska effekter.

En *in vitro* studie där ACS och normalt serum tillsatts till den ovan beskrivna inflammatoriska pellet-modellen har genomförts, i ett försök att visa om en hämning av inflammationen sker vid behandling med ACS. Medium och broskpelletar har sparats och kommer också att undersökas med microarray (genuttryck av olika inflammationskomponenter) samt proteomik (olika faktorer involverade i en inflammation).

Resultat

Karakterisering av tillväxtbruskets kondrocyter under utveckling från broskmodell till ledbrusk avseende fenotyp med association till stamcellsmarkörer (Stro-1, Notch1, Delta4,

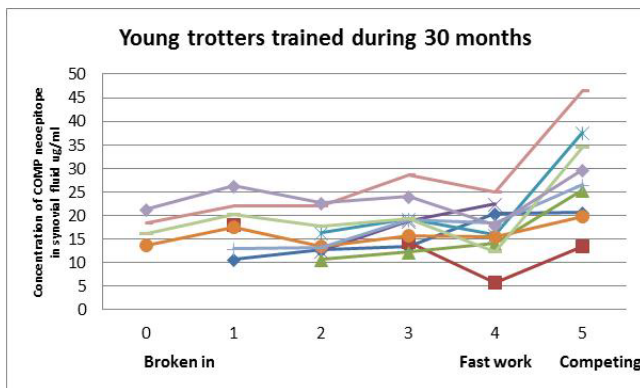
SLUTRAPPORT

Jagged1, Hes1) och till cellernas syntes av olika matrixmolekyler (COMP, Matrilin1, Chondroadherin, Fibromodulin), varav flera är involverade i det kollagena nätverket, är undersökt. Celler i Ranviers zon (stamcells-nichen) visar likartad infärgning (fenotyp) som vissa delar av tillväxtbrosk och ledbrosk vilket ger en antydning om att kondrogena stamceller migrerar från nichen längs perikondrium till ledbroskets mellersta zoner vid olika tidpunkter.

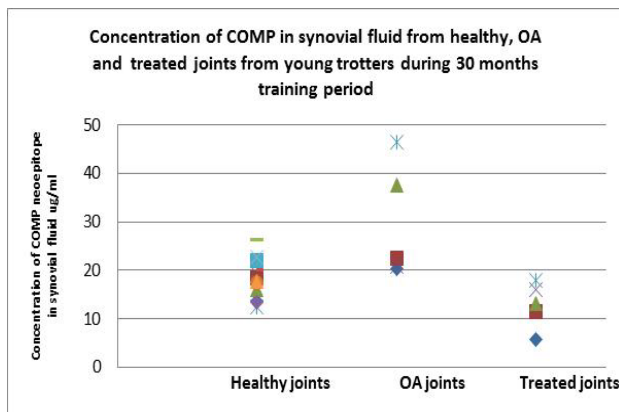
Detta arbete föreligger i manuskriptform, och är inskickat till Journal of Anatomy:

”Localization of Notch signaling components, Stro-1 and extracellular matrix molecules in prenatal and postnatal equine growth cartilage, zone of Ranvier and articular cartilage” Maria Löfgren, Stina Ekman, Emilia Svala, Anders Lindahl, Cecilia Ley, Eva Skiöldebrand. Major contributor: late Dick Heinegård

I stimuleringen av explants med IL1 β påvisades unik fragmentering av COMP vid olika tidsintervaller, vilket gett en möjlighet för oss att via framställning av antikroppar mot dessa fragment utveckla metoder (ELISA) för att mäta dessa i ledvätska och serum, från kliniskt halta hästar. Denna ELISA testades på delar av vårt insamlade material och resultaten kan ses in nedan figur 2a och b.



Figur 2a visar förekomsten av COMP-fragmenten i en grupp unghästar (material C) under uppträning från inkörning till start. En tydlig ökning av fragment-koncentrationen i ledvätska kan ses vid snabblopp (4) och tävling (5)



Figur 2b visar förekomsten av COMP-fragmenten i ledvätska från samma unghästpopulation där lederna uppdelats i friska leder (ej halta), OA-leder (halta) samt leder som behandlats intra artikulärt.

De specifika fragmenten sågs i hög koncentration vid inflammation och endast i mycket låg förekomst vid normal nedbrytning och syntes. Framtagandet, validering och användandet av dessa assayer fortsätter med FORMAS finansiering.

Även fragmentering av andra matrixmolekyler med unika fragment vid olika tidpunkter påvisades.

Denna modell visade matrixförändringar vid distinkta tidsintervall i OA processen. Frisättning av flera matrix komponenter och fragmentering av COMP och aggrecan sågs efter 3 och 6 dagar, vilket överensstämmer med förändringar som ses vid tidiga OA.

SLUTRAPPORT

En degradering av det kollagena nätverket påvisades efter 18 och 22 dagar, vilket överensstämmer med en senare utveckling av OA processen. Flera icke-kollagena molekyler, som är viktiga för broskmatrix homeostas, identifierades 9, 12 och 15 dagars stimulering med IL-1 β . Modellen visade på nya resultat där en specifik tidsordning, från tidig till sen skada, vad gäller frisättning/fragmentering av COMP, kollagen typ XII, IX, VI, SLRPs och till slut kollagen typ II sågs. Vilket talar för att det kollagena nätverket degraderas i ett distinkt tidsmönster utan att nysyntes av kollagen II förekommer. Detta illustreras i nedan figur 3.

Collagen network degradation

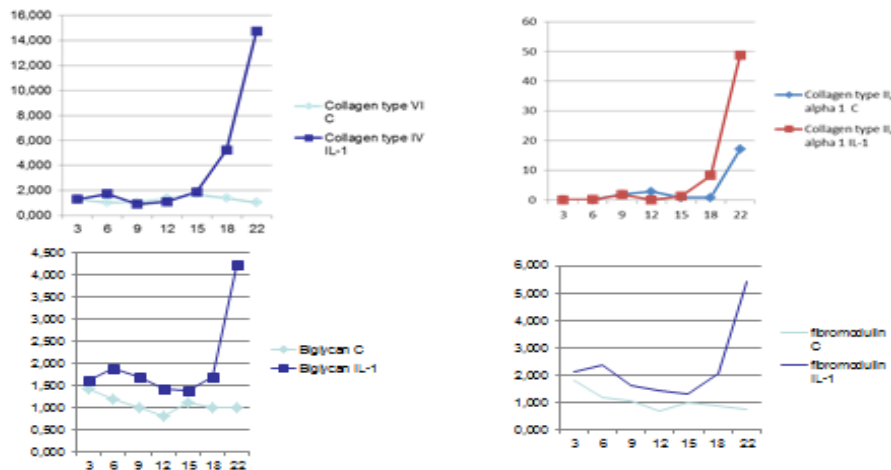


Fig. 3

Nedan figur 4, visar preliminära resultat från COMP fragment antikroppen påvisad i ledväska och serum hos häst, vilket visar att inflammationen leder till fragmentering av broskmatrix och att dessa fragment ses i mycket högre koncentration i akut inflammerade leder.

COMP-fragment in synovial fluid from horses with acute vs chronic lameness

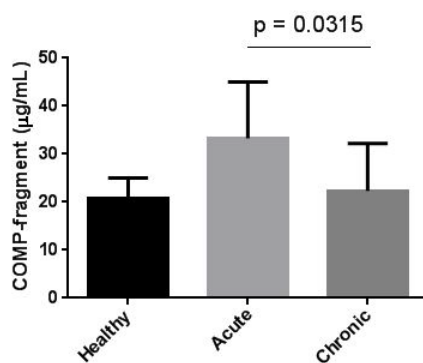


Fig. 4

Undersökningen har slutförts och föreligger i manuskriptform. Även undersökningarna vad gäller ACS är slutförda med resultaten har inte analyserats än. Preliminärt påvisades rikligt med IL1Ra både i normalt serum och konditionerat serum, vilket också tidigare har visats (Carlson et al 2013, Hraha et al 2011)

SLUTRAPPORT

Diskussion

Forskningen har som mål att detektera pro- och anti-inflammatoriska mediatorer i ledkapsel/ledvätska *in vivo* vid leddskada. samt *in vitro* studier avseende cellernas genuttryck och signalvägar vid inflammation samt identifiering av progenitor cells i tillväxtbrosk, friskt ledbrosk och osteoartrit (OA) brosk. Då kronisk hälta är en viktig orsak till frekvent ledbehandling och utslagning av unga sporthästar är det av största vikt att identifiera mätmetoder för den tidiga skadans början samt den pågående inflammationen i leden. Om ledens hälsotillstånd kan karakteriseras kan fysiologiska träningsprogram utformas, vilket ger hållbarare sporthästar och därmed stärker djurskyddet.

Framtagandet av hästspecifik ELISA för IL-receptor antagonist (IL-1ra), IL-10, och IL-6, fotsätter. Även fortsatt insamling av osteokondrala fragment, ledkapsel, ledvätska och serum från kliniskt halta hästar kommer att ske, för att de molekylära fragment som påvisas *in vitro* också ska kunna verifieras *in vivo* (translationell forskning).

Kondrocyternas signalvägar via Notch1 och dess ligander är undersökt med immunohistokemiska metoder. Immunofärgning avseende Notch1 receptor, liganderna Delta4 och Jagged1, aktiveringsmarkören Hes1 samt tillväxtfaktorn EGFL7 som kan reglera Notch1 signaleringen har avslutats. Vi går nu vidare med kartläggning av vad dessa olika celler uttrycker för molekyler (t.ex. matrilin, COMP, chondroadherin, heparan sulfat) och fragment i sitt extracellulära matrix. Detta har gjorts i samarbete med professor Dick Heinegård, Lunds Universitet. En fortsättning på denna karakterisering av olika kondrocyters fenotyp är jämförelse med OA-brosk, där en förändrad fenotyp mot celler i hypertrofi eller av mer bindvävskaraktär kan ses i olika stadier.

OA-brosk visar ofta grupper av broskceller med hypertrofisk differentiering, och vid läkning av broskförlust ses ofta fibroblastiska celler med syntes av kollagen typ I, istället för kollagen typ II, vilket ger försämrat extracellulärt matrix. De stamcells lika kondrocyter vi påvisat i ledbrosket, kan däremot vara viktiga vid läkning av skadad vävnad.

OA är svårbehandlat och det är inte ovanligt att resultaten efter medicinsk behandling inte är tillfredsställande eller att symptom återkommer efter avslutad en första lyckad behandling. De hästspecifika mätmetoder som tas fram i detta forskningsprojekt kommer att kunna användas för att utvärdera behandling av ledinflammation vid OA

Autogt konditionerat serum (ACS, handelsnamn IRAP) framtaget för humant bruk, används idag som intraartikulär ledbehandling på häst. Hästens eget blod inkuberas med "glaskulor" och centrifugeras för att skapa en immunologisk "soppa", där användarna anger att denna främst består av IL-1ra (Meier et al., 2003). Behandling med ACS är inte korrekt validerad på häst (Frisbie et al, 2007), eftersom koncentrationen av IL-1 β och IL-1ra i dessa undersökningar utvärderats med specifika antikroppar för humant IL-1 β , IL-1ra, men homologin mellan häst och människa är endast 65-78%. Dessutom har det visat sig att icke konditionerat serum uppvisar likartade nivåer av IL1ra (Hraha et al 2011) som IRAP behandlat serum. Därför är en undersökning av ACS innehåll och dess exakta effekt på ledbrosk-inflammation högt prioriterad i vår forskning av hästens OA.

SLUTRAPPORT

“Publikationer” Resultatpresentationer.

The effects of interleukin (IL)-6 and -1 β on growth differentiation factor (GDF)-5 in equine articular cartilage. Svala E, Ley C, Henriksson HB, Lindahl A, Ekman S, Skiöldebrand E, sixth Nordic Connective Tissue Meeting” 22/9-23/9-2011 i Uppsala

”*Notch1 and EGFL7 in equine cartilage*”, Maria Löfgren, Emilia Svala, Cecilia Ley, Anders Lindahl, Stina Ekman, Eva Skiöldebrand. Pilotundersökning av hästens tillväxtbrosk; presenterad på the ”sixth Nordic Connective Tissue Meeting” 22/9-23/9-2011 i Uppsala, som poster och utvald som oral presentation.

”*Immunohistochemical localization of notch signaling components, matrix components and stro-1 in prenatal, postnatal and osteoarthritic equine cartilage*”. Maria Löfgren, Stina Ekman, Emilia Svala, Anders Lindahl, Cecilia Ley, Eva Skiöldebrand. Major contributor: late Dick Heinegård. Poster OARSI, 2014, april 24-27, Paris, Frankrike

Manuskript

Dynamic changes, with respect to immune system and cartilage matrix molecules, in equine articular cartilage treated with interleukin-1 β *in vitro*. Emilia Svala, Maria Löfgren, Cecilia Ley, Anders Lindahl, Carina Sihlbom, Ulla Rüetschi, Stina Ekman, Eva Skiöldebrand. Major contributor: Dick Heinegård. Inskickad till J Orthopedic Research

”**Localization of Notch signaling components, Stro-1 and extracellular matrix molecules in prenatal and postnatal equine growth cartilage, zone of Ranvier and articular cartilage**” Maria Löfgren, Stina Ekman, Emilia Svala, Anders Lindahl, Cecilia Ley, Eva Skiöldebrand. Major contributor: late Dick Heinegård. Inskickad till J. of Anatomy

Anti-inflammatory factors in autologous conditioned serum (ACS) and Goldic treated blood, and their effect on chondrocyte pellets treated with IL-1 β , Maria Löfgren, Eva Skiöldebrand, Karin Holm-Forsström, Stina Ekman

Seminarium

Godkänt halvtidsseminarium för doktorand (Maria Löfgren) SLU, 23 Maj 2013 med titeln: ”Inflammationsmediators betydelse vid osteoartrit (OA) hos häst”.

Pågående resultat presenteras kontinuerligt på 3M seminarier på Sahlgrenska Universitetets sjukhus, Göteborg och på seminarier vid SLU, Uppsala.

Slutsatser (gällande nytta med råd till näringen)

Den höga frekvensen hälsa, som ses hos våra sporthästar, gör att känsligare diagnostik och bättre riktad behandling är önskvärd. Om leddskador kan förebyggas och minimeras hos tävlingshästarna, kommer detta att resultera i en friskare och hållbarare häst. Vid en uppkommen leddkada (OA) är det väsentligt att kunna prognostisera utvecklingen av skadan för hästens framtida karriär och även kunna utvärdera olika (både gamla och nya) behandlingsregimer mer objektivt än vad som är möjligt idag.

En ny generation av biomarkörer baserade på unika klyvningsställen som genereras i de tidiga stadierna av OA, kommer att ge möjlighet att tidigt diagnostisera ledpatologi innan

SLUTRAPPORT

leddestruktion sker. Dessa biomarkörer kan också användas för att utvärdera effekten av behandlingar och designa bättre utbildningsprogram för tävlingshäst, för att öka välbefinnandet hos den atletiska hästen.

En utvärdering av det numera populära behandlingsalternativet, autologt konditionerat serum (ACS), är också önskvärd, eftersom det finns indikationer på att de antiinflammatoriska faktorerna även finns i obehandlat serum. Dessutom kanske okända substanser med antiinflammatorisk och anabol potential kan upptäckas i detta serum.

En dyr behandling med en produkt där bakomliggande mekanism inte är känd förefaller som ett icke seriöst behandlingsalternativ idag.

Behandling med olika typer av stamceller används mer och mer, varför kunskap om förekomst av dessa celler i adult ledbrosk är av värde. Förekomsten av broskceller som uttrycker stamcellsmarkörer, i ledbrosk hos den unga hästen, talar för att en potential för läkning av broskskador kan finnas även hos den vuxna hästen. En tydligare identifiering av stamceller med broskcellsdifferentiering kan ge analyser som bättre utvärdera olika vävnaders kondrogena stamcellspotential. Det är mycket viktigt att inte stamceller med t.ex osteoid potential används vid intra-artikulär behandling.

Resultat förmedling till näringen

Resultaten förmedlas i populärvetenskapliga artiklar för hippologer, hovslagare, djursjukvårdare, tränare och hästägare kommer att publiceras i Tidningen Ridsport och Travronden.

Populärvetenskaplig press

Tidningen ridsport, nummer 8, 2013-04-26 "Blodprov kan ge snabb diagnos om ledskador"

Tidningen ridsport, nummer 6, 2014-04-26 "IRAP artikel"

Utställning "*För livet*" - är en utställning på Arlanda flygplats som handlar om hur forskningen och utvecklingen av nya behandlingar och metoder i Stockholm-Uppsala regionen som kan bidra till att komma tillrätta med global ohälsa och stigande kostnader i vården.. Från och med den 9 september 2011 och tre år (2014) framåt pågick projektet FÖR LIVET. **Utställningsarrangör:** Stockholm-Uppsala Life Science **Medarrangörer:** LIF – de forskande läkemedelsföretagen, Naturvetarna, SwedenBIO, Swedish Medtech **Partners:** Abbott, AstraZeneca, GE Healthcare Life Sciences, Karolinska Institutet, Kungliga Tekniska högskolan, Landstinget i Uppsala Län, Pfizer, Q-Med, Recipharm, Stockholms läns landsting, Stockholms universitet, Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala universitet.

Vi presenterade det SHF-finansierade projektet "Med hjälp av biomarkörer kan hästar slippa bli halta" Projektet är ett samarbete mellan SLU, Lunds Universitet och Göteborgs Universitet med flera anslag från Stiftelsen Hästforskning.

IRAP-resultaten kommer att förmedlas på Veterinärkongressen i Uppsala 2014, och på kurser som hålls för hästkliniker samt presenteras i Svensk Veterinär Tidning, ridsport och EquiLibris.

SLUTRAPPORT

Referenser

- Frisbie, D.D., Kawcak, C.E., Werpy, N.M., Park, R.D. and McIlwraith, C.W. 2007. Clinical, biochemical, and histologic effects of intra-articular administration of autologous conditioned serum in horses with experimentally induced osteoarthritis. *Am J Vet Res.* 68: 290-296
- Hraha, T.H., Doremus, K.M., McIlwraith, C.W. and Frisbie, D.D. 2011. Autologous conditioned serum: The comparative cytokine profiles of two commercial methods (IRAP and IRAP II) using equine blood. *Equine Vet J.* 43: 516-521
- Meijer, H., Reinecke, J., Becker, C., Tholen, G. and Wehling, P. 2003. The production of anti-inflammatory cytokines in whole blood by physic-chemical induction. *Inflamm Res.* 52: 404-407