



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**

Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsvetenskap

Effekten av träning på ledbroskets sammansättning av makromolekyler hos häst

Maja Ernback

*Uppsala
2017*

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2017:18

Effekten av träning på ledbroskets sammansättning av makromolekyler hos häst

Influence of exercise on the composition of macromolecules in the equine articular cartilage

Maja Ernback

Handledare: *Eva Skiöldebrand, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU*

Examinator: *Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU*

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: grund nivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2017

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serie: 2017:18

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: häst, ledbrosk, träning

Key words: equine, articular cartilage, exercise

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	2
INLEDNING	3
MATERIAL OCH METODER	3
LITTERATURÖVERSIKT	4
Ledens anatomi och fysiologi	4
Ledbrosk.....	4
Uppbyggnad och struktur	4
Osteoartrit.....	6
In-vitro studier.....	6
<i>In-vivo</i> studier över träningens effekt på ledbroskets sammansättning av makromolekyler. 7	
<i>In-vivo</i> studier över träningens effekt på ledbroskets utmognad hos den unga hästen.....	8
DISKUSSION	10
BILAGA.....	12
REFERENSER.....	14

SAMMANFATTNING

Osteoartrit är en vanlig orsak till hälta hos atletiska hästar och visar sig som broskdegeneration tillsammans med subchondrala förändringar och inflammation. Träning kan vara en bidragande orsak då mekanisk belastning av för hög intensitet orsakar mikrotrauman och försvagning av det kollagena nätverket. I strävan efter hållbara hästar är det intressant att veta vilken träning som främjar leden och vilken som är skadlig.

I synovialleden kläs benytorna av hyalint brosk (ledbrosk) som ger en kompressionsfast slitstark yta med liten friktion. Förutom vatten är ledbroskets viktigaste komponenter kollagen typ II och aggrecan. Aggrecan har negativt laddade sidokedjor som binder vatten och får brosket att svälla. Kollagenet begränsar dess svällande förmåga och på så sätt bildar brosket en mycket kompressionsfast struktur. Chondrocyterna producerar alla komponenter i det extracellulära matrixet. Som i andra vävnader sker en konstant remodelering av brosket genom anabola och katabola processer. I brosk är den omsättning dock mycket långsam. Halveringstiden för kollagen i ledbrosk hos människa har uppskattats till 117 år. Vid osteoartrit är homeostasen i ledbrosket störd. De katabola processerna är större än de anabola, och degeneration av brosket visar sig som uppmjukning, svullnad och fibrillering.

Belastningen över ledytan är inte jämn. Vid lågintensiv aktivitet är belastningen konstant och relativt centrerad. Den dorsala marginalen av ledytan utsätts däremot av intermittent mycket hög belastning och är predilektionsställe för kliniska förändringar hos högpresterande hästar. Det ställer olika krav på de olika områdena i leden. Dorsalt brosk innehåller mer kollagen än centralt brosk som istället innehåller mer proteoglykaner.

Träning vid rätt intensitet har en stimulerande effekt på broskets biosyntetiska förmåga medan överträning har motsatt effekt. Hård träning kan minska broskets stelhet, minska chondrocyternas förmåga till att syntetisera proteoglykan och ge mikroskador på kollagennätverket. Träning kan påverka ledbroskets tjocklek och distribution av COMP (cartilage oligomeric matrix protein).

Hos det neonatala fölet finns ingen heterogenitet i ledbroskets topografi. Adaptionen sker främst under fölets första 5 månader. Lågintensiv träning verkar ha en positiv men reversibel effekt på broskets innehåll av glykosaminoglykaner. Får fölen inte möjlighet till rörelse fördröjs broskets mognad. Får fölen sedan möjlighet att röra sig kommer fördröjningen att kompenseras för, men undantag för vissa kollagenparametrar. En viss nivå av aktivitet hos fölen verkar nödvändig för ett hållbart brosk.

Aktivitetsnivå har effekt på ledbrosket. Lågintensiv till måttlig träning främjar ledhälsan, medan högintensiv träning försämrar ledbroskets egenskaper och kan tolkas som tidiga degenerativa förändringar. För att på ett enkelt sätt kunna mäta träningens påverkan på ledbrosket är forskning på biomarkörer intressant. Om man i ett tidigt skede kan identifiera överbelastning och anpassa träningsnivån kan vi minska antalet hästar med progressiv broskdegeneration.

SUMMARY

Osteoarthritis is a common cause of lameness in the athletic horse. Hallmarks of the disease is cartilage degeneration, alterations in the subchondral bone and inflammation. Exercise can lead to micro-damage of the collagen network and sequent cartilage deterioration. In the ambition to increase the longevity in our horses it is of great interest to determine the level of exercise that promotes joint function and is not deleterious.

In the synovial joint the bones are covered with hyaline cartilage that provides a stiff, durable and friction free surface. Collagen type II and aggrecan are together with water the major components of the articular cartilage. Aggrecan have negatively loaded side-chains that attracts water and makes the tissue swell. The swelling is restricted by the collagen network and together they make a very stiff structure. As the only type of cell in the articular cartilage, the chondrocyte produces all the components of the extracellular matrix. As in other tissues, there is a constant remodelling the extra cellular matrix through anabolic and catabolic activity. The turn-over time in articular cartilage is however very long. In osteoarthritis, the homeostasis is disrupted and the catabolic activities increases and the anabolic activities can no longer compensate. It leads to cartilage deterioration with softening, swelling and fibrillation.

The distribution of load differs between areas of the articular surface. In low-intensive activities the load is centred and constant. In high-intensive activities the dorsal margin of the articular surface is subjected to high intermittent loading. This area is also predisposed to clinical lesions. Different kinds of loading put different demands on the tissues. Dorsal cartilage contains more collagen than cartilage in central areas, which as higher content of proteoglycans.

Exercise at the right intensity has a stimulation effect on the biosynthesis of the articular cartilage but excessive training has the opposite effect. High-intensity exercise decreases the chondrocytes ability to synthesise proteoglycans and can cause loosening of the collagen network. Training affects the thickness of cartilage and distribution of cartilage oligomeric matrix protein (COMP).

In the neonatal horse, there is no heterogeneity as seen in the mature horse. The adaption mainly takes place during the first 5 months postpartum. A low level of exercise has beneficial but reversible effect on the content of glycosaminoglycan. If the foal is deprived of movement the development is delayed. This is compensated for if the foal is allowed free exercise, except for some collagen parameters on witch there is a permanent effect. Some level of exercise seems necessary for optimal development of the articular cartilage.

The level exercise influences the articular cartilage. Low-intensity to moderate exercise promotes joint function while excessive exercise has deleterious effects and can be seen as early signs of degeneration. To easily measure the effect of exercise on the articular cartilage, research in biomarkers is of interest. If we in an early stage can identify over-loading in our horses, we could significantly decrease the number of horses with progressive cartilage degeneration.

INLEDNING

Hårt tränande och tävlande hästar löper en ökad risk att drabbas av osteoartrit. En viss nivå av rörelse främjar dock ledfunktionen. Mekanisk kompression av brosk kan påverka chondrocyternas syntetiska förmåga (Wong *et al.*, 1997). Dynamisk kompression av broskdelar från kalv kan stimulera eller inhibera biosyntes beroende på frekvens och hur mycket brosket komprimeras (Sah *et al.*, 1989). Träning utöver ledbroskets förmåga att motstå påfrestningen leder till mikroskador och inflammation som kan utvecklas till osteoartrit (McIlwraith, 2016). Det finns alltså gränser för vilka typer av aktiviteter som främjar och är skadliga för leden.

Osteoartrit är en progressiv degenerativ ledsjukdom där de kliniska symtomen sällan visar sig innan sjukdomen blivit kronisk (Heinegård and Saxne, 2011). I ett så sent stadie av sjukdomen är behandlingsalternativen begränsade till symtomatisk behandling av smärta och svullnad. Det är därför av intresse att upptäcka de tidiga förändringarna som sker i leden för att kunna anpassa träningsnivån i ett tidigt skede innan sjukdomen blir kronisk.

Som hästägare eller tränare är det svårt att veta vilken träningsintensitet som stimulerar ledfunktion och ger en hållbar häst, och vilken träning som är skadlig överbelastning. För att utvärdera träningens effekt på hästens hållbarhet är det även intressant att titta på hur träning påverkar fölet för att kunna ge råd för en hållbar häst.

Den aktuella litteraturstudien går igenom ledbroskets uppbyggnad, patofysiologin bakom osteoartrit och vilka parametrar som är intressanta att titta på vid träningsinducerad osteoartrit. För att kunna identifiera tidiga tecken på osteoartrit måste vi först känna igen ledbroskets adaptiva förändringar till träning och särskilja dem för begynnande ledsjukdom. Experimentella studier har använts för att utvärdera effekten av träning på biomekaniska och biokemiska egenskaper och förändringar i ledbrosket hos den mogna respektive juvenila hästen som kan tolkas som tidiga tecken på osteoartrit.

Syftet med den här litteraturstudien är att se vilka förändringar som sker i ledbroskets biokemiska komposition av makromolekyler vid träning hos den mogna respektive juvenila individen.

MATERIAL OCH METODER

För att besvara frågeställningen har jag använt mig av sökfraserna (horse OR equine AND articular cartilage AND training OR exercise) och (osteoarthritis AND exercise AND equine). Jag sökte i sökmotorerna Web of Science och PubMed, och har använt mig av facklitteratur.

LITTERATURÖVERSIKT

Ledens anatomi och fysiologi

Stället där två eller fler olika ben möts kallas led. Det finns olika typer av leder och de kan delas in efter struktur. Fibrösa leder består av bindväv, till exempel suturlinjerna i skallbenet, och erbjuder minimal rörelse. En broskled består av hyalint eller fibröst brosk, till exempel symfyser mellan pubisbenen i bäckenet och tillåter något större rörelse. Synovialleden är den led som tillåter mest rörelse och är den som oftast ger upphov till klinisk sjukdom hos häst. Nästan alla leder i hästens appendikulära skelett är av denna typ. I synovialleden fäster inte benen med varandra via någon struktur. Benytorna täcks av ledbrusk (hyalint brosk), och rörelse sker genom att dessa ytor glider mot varandra. Leden omges av en ledkapsel fylld av synovialvätska och rörelse begränsas av periartikulära och intraartikulära strukturer som kapsel och ligament (van Weeren, 2016).

Ledbrusk

Uppbyggnad och struktur

Ledbruskets huvudsakliga funktion är att ge styrka, elasticitet och en friktionsfri yta mellan benen i en led (van Weeren, 2016). Brusket innehåller 70-80% vatten beroende på ålder. De viktigaste komponenterna utöver vatten är kollagen och proteoglykaner. Chondrocyten är den enda celltypen som hittas i friskt brosk, men undantag ett en liten population progenitorceller (Dowthwaite *et al.*, 2004), och är den cell som producerar det extracellulära matrixet.

Det finns olika typer av kollagen, men den viktigaste i ledbrusk är kollagen typ II. Den här typen av kollagen är uppbyggt av tre identiska proteinkedjor, så kallade α_1 -kedjor, som består av ungefär 330 upprepningar av glycin-X-Y, där X och Y ofta är prolin eller hydroxyprolin men de kan också vara andra aminosyror. Kedjorna lindar sig kring varandra i en trippelhelix. I ändarna av helixen finns N-telopeptider respektive C-telopeptider. De är inte spiralformade och är ett viktigt ställe där kollagenmolekylerna kan tvärbinda till varandra och andra molekyler. Typiska för kollagen typ II är att de bildar stora fibrillära strukturer. Nätverket som kollagen typ II bildar i broskvävnad är av stor betydelse för broskets mekaniska egenskaper. Det fungerar som armering, och är organiserat i bågliknande strukturer som först beskrevs av Benninghoff (1925).

Olika typer av cross-links förbinder α_1 -kedjorna med varandra och kollagenmolekyler med varandra och andra molekyler. Vanliga kovalenta bindningar är pyridinolin cross-links som bildas mellan lysyl (lysylpyridinoline [LP]) och hydroxylysyl (hydroxylysylpyridinoline [HP]) i det kollagena nätverket i en irreversibel process. HP cross-links är vanligaste i ledbrusk (van Weeren, 2016).

Insprängt i nätverket mellan kollagenfibrerna finns proteoglykanaggregat. Proteoglykanet i ledbrusk har chondroitinsulfatsidokedjor som ingår i lectianfamiljen som inkluderar aggrecan, versican, neurocan och brevican. Aggrecan är mest förekommande av dessa. Aggrecanmonomeren består av ett stort kärnprotein till vilket sidokedjor av

glykosaminoglykaner (keratansulfat och chondroitinsulfat) fäster. Kärnproteinet har en N-terminal som fäster via ett länkprotein till andra komponenter i ECM, oftast hyaluronan, och en C-terminal som binder proteoglykanaggregatet till det extracellulära matrixet (ECM). Flera varianter av aggreganmolekylen existerar, och molekylen kan förlora delar på grund av ålder eller patologi. Hyaluronan är en glukosaminoglykan som inte är sulfaterad och är en viktig komponent i ECM som också finns fritt i synovialvätskan. I ledbrösket bildar aggregan tillsammans med hyaluronan stora aggregat med över 100 aggreganmonomerer placerade som en solfjäder runt en central hyaluronanmolekyl (van Weeren, 2016).

Utöver de stora komponenterna (vatten, kollagen och proteoglykaner) finns även matrilin och cartilage oligomeric matrix protein (COMP). Den sistnämnda har fem identiska subenheter som kan binda till kollagen. Den tros ha en stabiliserande effekt, och har en roll vid hopsättning av matrix (van Weeren, 2016), och är en lovande biomarkör vid diagnostisering av OA (Tseng *et al.*, 2009).

Cellerna utgör en väldigt liten del av den totala volymen av ledbrösket (1%-12%). De är av mesenkymalt ursprung och kan ses som differentierade fibroblaster. Vid odling av chondrocyter tenderar de till att dedifferentiera till ett fibroblastliknande stadium om de odlas på en platt yta. Om man istället odlar dem i bitar från hela brosklagret, s.k. explantat, eller om odling sker i tredimensionell modell av alginatpärlor, sker inte denna dedifferentiering. I broskvävnaden befinner sig chondrocyterna i lakuner. I det ytliga brosket har cellerna ett tillplattat utseende, och i broskets djupa lagar är de rundare till formen (van Weeren, 2016).

Chondrocyten producerar alla komponenter i ECM. Liksom alla vävnader genomgår ledbrösket konstant remodelering genom anaboliska och kataboliska processer. I en frisk led råder jämlikhet mellan de olika processerna i förhållande till den mekaniska belastning leden utsätts för (Kawcak, 2016). Omsättningen i ledbrösk är dock betydligt längre än för de flesta andra vävnader. Hos människa har olika varianter av aggregan halveringstider mellan 3,4 till 25 år (Maroudas *et al.*, 1998) och för kollagen i ledbrösk har halveringstiden uppskattats till 117 år (Verzijl *et al.*, 2000).

Aggregan innehåller en proteindel till vilket negativt laddade sidokedjor är bundna. Sidokedjorna är glykosaminoglykanerna (GAG) keratansulfat och kondroitinsulfat som genom att de binder stora mängder vatten bidrar till broskets kompressionshållfasthet. GAG binder stora mängder vatten men kollagennätverket begränsar dess svällande förmåga vilket bidrar till ytterligare styvhet. De biomekaniska egenskaperna hos brosket utgörs av dess två faser, där kollagen och proteoglykaner utgör en fast fas som är porös, och den interstitiella vätskan en flytande fas som fyller porerna. När brosket komprimeras kommer huvuddelen av belastning att tas upp av vätskan, och när belastningen ökar kommer mer och mer vätska att pressas ur den komprimerade ytan. Kraften som tagits upp av vätskan kommer att överföras till broskets fasta fas tills all vätska är urpressad. Vätskans tendens till rörelse avgör broskets permeabilitet (Kawcak, 2016). Förflyttningen av vätska som uppstår vid belastning och avbelastning av leden hjälper till att transportera näringsämnen och slaggprodukter i vävnaden (Maroudas *et al.*, 1968; O'Hara *et al.*, 1990).

Osteoartrit

Osteoartrit (OA) är en ledsjukdom som leder till nedbrytning av ledens ingående strukturer som synovit, broskförändringar, subchondral benskleros och cystor i ben. Grundprincipen för utveckling av OA är (1) onormal belastning på normalt brosk och (2) normal belastning på onormalt brosk. Hos den atletiska hästen är cykliskt trauma mot synovialmembran och ledkapsel vanligt. Det leder till synovit och ledkapselinflammation, och inflammatoriska mediatorer kan orsaka biokemisk skada i ledbrosket. Hög belastning av leden, till exempel karpus hos galoppörer, kan ge direkt skada på ledbrosk och ben vilket kan leda till ulcerationer och intraartikulära frakturer som orsakar olika grader av broskförluster (McIlwraith, 2016)

I friskt brosk sker långsam metabolismen av de extracellulära matrixmolekylerna. En jämvikt av anaboliska och kataboliska processer är nödvändigt för underhåll av ECM och reparation av slitage orsakat av daglig användning. Vid OA ökar katabola processer, men även de anabola. Dessa lyckas dock inte att kvalitativt och kvantitativt möta den katabola processerna och resulterar i skador eller förlust av brosket (Mueller and Tuan, 2011).

Vi OA prolifererar chondrocyterna i broskets ytliga lager och i närhet av broskador. De får en mer rundad form och upp till 20 chondrocyter kan ansamlas i samma lacun. Skillnaden mellan dessa celler och de normalt tillplattade cellerna i broskets ytliga lager är tydlig. Formationen av kluster är ett tydligt histologiskt kännetecken vid OA. Dessa kluster är alltid associerade till någon grad av apoptos (Lotz *et al.*, 2010). Incidensen av apoptos korrelerar positivt med tidiga osteoartritiska förändringar, och ökar med förändringarnas svårighetsgrad (Thomas *et al.*, 2011). Flera faktorer vid OA inducerar dedifferentiering till en fibroblastlik typ. Chondrocyten slutar då producera det viktiga kollagen typ II och aggrekan, och uttrycker istället kollagen typ I, III och V (Sandell and Aigner, 2001). De nya kollagenet bildar inte bågstrukturer likt de ursprungliga brosket, och har sämre mekaniska egenskaper (Hunziker, 2002).

När brosket förlorat en betydande mängd komponenter på grund av biokemiska förändringar blir följden morfologiska förändringar. Dessa innefattar uppmjukning av brosket och svullnad följt av yttlig fibrillering, fibrillering ner till mittzonen och till sist fibrillering ner till broskets djupa lager. (McIlwraith, 2016)

In-vitro studier

Tryckfördelning

Ledytan utsätts inte för en jämn belastning i alla gångarter. Snabbare gångarter innebär ett ökat tryck samt större kontaktyta mellan proximal och distal ledyta i kotleden. Vid högre belastning ökar trycket främst i den dorsala marginalen (kanten) av ledytan. Dessa ytor står inte i kontakt med varandra vid lägre belastning som när hästen står stilla eller skrittar (Brama *et al.*, 2001). Den centrala ytan av leden står under konstant låg belastning och den dorsala marginalen belastas intermittent med högre kraft. Degeneration av brosket startar ofta i den dorsala

ledmarginalen i kotlededen (Brommer *et al.*, 2004), samma yta som utsätts för högst intermittent tryck.

Biokemisk heterogenitet

Vid biokemisk kartläggning av ledbroskets topografi fann man att brosket hade lägre GAG-innehåll i dorsal och palmar marginal än centralt. Innehållet av kollagen och HP-crosslinks var högre i ledens marginaler än centrala områden (Brama *et al.*, 2000b), vilket indikerar att typen av belastning avgör hur ECM utformas. Samma samband kan ses i den mellersta karpalleden där de dorsala ytorna av det tredje karpalbenet utsätts för högst tryck vid större belastning (Palmer *et al.*, 1994).

I en jämförelse mellan dorsala och palmara ledytor i karpalleden, (Murray *et al.*, 2001a), fann man att dorsalt brosk innehåller mer kollagen och har högre celltäthet, men lägre GAG-innehåll än palmart brosk.

***In-vivo* studier över träningens effekt på ledbroskets sammansättning av makromolekyler**

Se bilaga, tabell 1. Sex hästar tränades 30 minuter, 3 dagar i veckan i 6 veckor. Kontrollgruppen stod på box under samma period. Efter 6 veckor analyserades det tredje karpalbenet. Vid analys av broskets mekaniska egenskaper fanns ingen signifikant effekt av träning, men däremot fanns en effekt beroende på vilket del av ledytan som testades. Dorsala ytor av den radiale delen och hela intermediala delen av tredje karpalbenet var mindre stelt än den palmara aspekten. Träning ökade permeabiliteten i hela brosket (Palmer *et al.*, 1995b). En annan studie undersökte broskets innehåll av proteoglykaner. Träning ökade signifikant mängden nysyntetiserade proteoglykaner. Det endogena proteoglykanet påverkades inte av träning, men det fanns en effekt av site, där palmara aspekten av tredje karpalbenets radiale del hade högre koncentration än den dorsala aspekten och hela intermediala delen (Palmer *et al.*, 1995a).

I en jämförelse mellan måttligt och hårt tränade hästar minskade aggregatsyntesen medan decorinsyntesen ökade i den dorso-radiale delen av det tredje karpalbenet. Den ändrade metabolismen i ledbrosket ansågs vara en predisponerad faktor för senare broskdegeneration och utveckling av osteoartrit (Little *et al.*, 1997).

Tvååriga fullblod genomgick 19 veckors träningsprogram. Interventionsgruppen galopperades på löpband 3 gånger i veckan, travades 3 gånger i veckan och skrittades i 40 minuter 6 gånger i veckan. Kontrollgruppen skrittränades bara. Prover togs från brosk i mellersta karpalleden. Den tränade gruppen hade tjockare kalkifierad zon än kontrollgruppen. Det fanns ingen skillnad i tjocklek av det hyalina brosket. Dorsala testzoner, som utsätts för hög intermittent belastning, hade tjockare kalkifierad zon än palmara aspekter (Murray *et al.*, 1999a). Dorsalt hyalint brosk var tunnare, hade lägre permeabilitet och hade förlorad cellorientering jämfört med palmart brosk i alla grupper. Den hårt tränade gruppens brosk var mindre stelt och uppvisade mer fibrillering och chondrocytkluster i anslutning till dessa. Studien visade att hård träning kan

leda till försämrat ledbrosk i zoner som utsätts för hög intermitterande belastning (Murray *et al.*, 1999b). Den hårt tränande gruppen hade signifikant högre GAG-innehåll än den lågintensivt tränade gruppen, och störst var skillnaden i de dorso-radiala och dorso-intermediala ledytorna. Träningen i denna studie hade ingen effekt på det totala kollageninnehållet, men den högintensivt tränade gruppen hade lägre kollageninnehåll i områden av ledbrosket som är predisponerade för kliniska förändringar (Murray *et al.*, 2001a). Distributionen av COMP påverkades också av träning (Murray *et al.*, 2001b). Nysyntes av proteoglykaner i kotleden ökade hos träningsgruppen (Bird *et al.*, 2000).

I en studie utformad att utvärdera adaptiva förändringar i rörelseapparaten hos häst användes också tvååriga fullblod. Hästarna tränades 6 gånger i veckan på gräs och sandbana, och kontrollgruppen hölls i stora gräshagar. I denna studie var det hyalina brosket tjockare i vissa områden av tredje karpalbenet hos den tränade gruppen än den otränade, och ingen effekt av träning fanns på tjockleken av det kalcifierade brosket (Firth and Rogers, 2005). Hos samma djur undersökte man även proximala ledytan av första falangen (kotled). Den tränade gruppen hade fler makroskopiska förändringar än kontrollgruppen. Heterogeniteten för kollagenparametrar hade hos interventionsgruppen minskat. De tränade hästarna hade ökat vatteninnehåll, och HP-crosslinks minskade i korrelation med synliga tecken av erosion. Förändringarna för kollagenparametrarna tolkades som mikroskador på det kollagena nätverket (Brama *et al.*, 2000a). Broskets tjocklek i kotleden hos djuren i den här studien förändrades inte vid träning (Ferguson *et al.*, 2008).

***In-vivo* studier över träningens effekt på ledbroskets utmognad hos den unga hästen**

Träning har hos det adulta hästen en tydlig men begränsad effekt. Från nyfödd till adult växer hästen i storlek, och många anatomiska och fysiologiska egenskaper förändras. Hos neonatala föl är kollagenfibrerna orienterade parallellt med ytan genom hela djupet av brosket (Brama *et al.*, 2009). I en undersökning (Turnhout *et al.*, 2008) av hästar som var 10 månader kunde man däremot se en båglikande orientering av kollagenfibrerna som beskriv först av Benninghof 1925. Det sker alltså en strukturell remodelering av kollagenet under fölets första månader. Frågan som måste besvaras är om heterogeniteten hos den adulta individen är medfödd eller en anpassning till yttre faktorer (atletisk aktivitet, rörelse).

43 holländska varmblod delades in i tre grupper där grupp 1 hölls på box 24 timmar om dygnet, grupp 2 genomgick ett träningsprogram av låg intensitet och stod övrig tid på box, och grupp 3 gick i hage. Vid fem månaders ålder avvandes hästarna, några från varje grupp avlivades för undersökning av ledbrosket och de övriga hästarna hölls i lösdrift ytterligare 6 månader innan de avlivades. Testytan var medialt om sagittalskåran på den proximala ledytan av första falangen. Signifikant skillnad ($P < 0,01$) fanns mellan boxgruppen och träningsgruppen hos 5-månadersfölen, och mellan tränings och haggruppen hos 11-månadersfölen. Träning verkar ha en positiv reversibel effekt på GAG-innehållet i ledbrosket. Vidare kunde man se att vatten-,

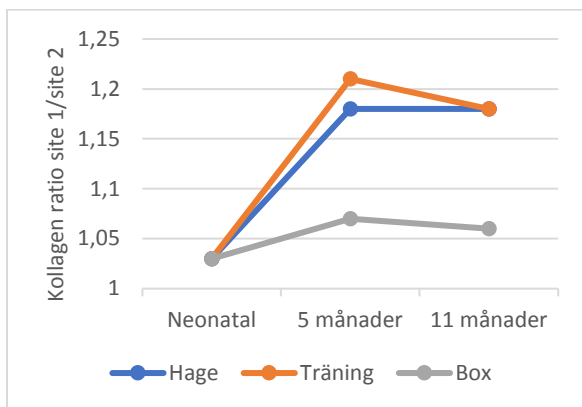
DNA- och GAG-innehåll sjönk under broskets mognad, medan kollagen och HP ökade (Brama *et al.*, 1999).



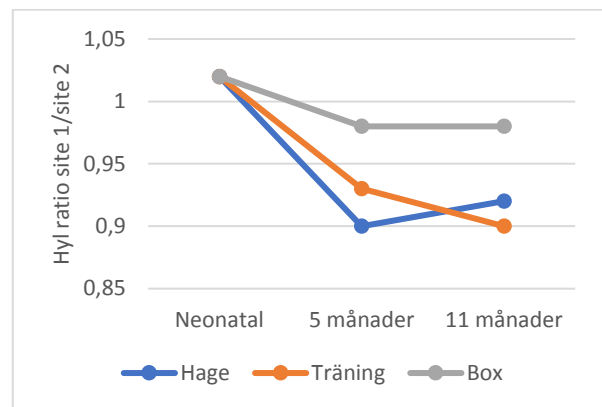
Figur 1. Medelvärde av glykosaminoglykaninnehåll i ledbrusket i metakarpofalangealeden hos juvenila hästar. (Brama *et al.* 1999).

I en annan studie på samma grupp föl (van den Hoogen *et al.*, 1999) tog man prover från ledbrusket och odlade i cellkultur. Träning inducerade en ökning av proteoglykansyntesen hos 5-månadersfölen, som följdes av en ökad frisättning av proteoglykaner i samma grupp. Ledbrusket hos 11-månadersfölen som ingått i träningsgruppen hade avsevärt nedsatt förmåga att vid stimulering syntetisera proteoglykaner. Författarna anser att kapaciteten att syntetisera proteoglykaner är av betydelse för ledens förmåga att reparera små skador och förebygga tidig påbörjan av degenerativ sjukdom.

Vidare kartläggning av utveckling gjordes av Brama *et al.* (2002) för att testa hypotesen att mängden träning i tidig ålder påverkar heterogeniteten hos brosket. I den studien inkluderades förutom de 43 holländska varmlodsfölen även äldre hästar med en genomsnittlig ålder på 9,7 år och neonatala föl. Parametrarna som undersöktes var DNA, vatten, GAG, kollagen, HP-crosslinks och hydroxylysine. För att synliggöra utveckling av heterogenitet presenterades resultaten som en kvot mellan site 1 (mediodorsala marginalen av den proximala ledytan av den första falangen) och site 2 (mittregion av den mediala fördjupningen av den proximala ledytan av den första falangen). Neonatala föl visade ingen heterogenitet, och de mogna individerna uppvisade heterogenitet för alla parametrar ($P < 0,01$). Vid fem månaders ålder var mognaden nästan slutförd, men hos fölen som hållits på box var mognaden fördröjd. Detta kompenserades för när fölen fick utrymme för rörelse med undantag av vissa kollagenparametrar som ej kompenserades, se figur 2 och 3. Den funktionella adaptationen äger främst rum under fölets första 5 månader. En viss nivå av aktivitet verkar vara nödvändig för optimal mognad av brosket.



Figur 2. Effekt av träning på kollagen under fölets första 5 månader (Brama *et al.*, 2002).



Figur 3. Effekt av träning på hydroxylysine (Hyl) under fölets första 5 månader (Brama *et al.*, 2002).

DISKUSSION

Klart är att träning har en effekt på ledbrusk hos den mogna individen, och att det finns träning som främjar och är skadlig för leden. Högintensiv träning visade sig försämra broskkvaliteten i intermittent högt belastade ledytter vilket indikerar att typen av träning snarare än duration gav upphov till förändringarna. Lågintensiv till moderat träningsintensitet verkar främja ledbroskets hälsa genom att stimulera produktion av proteoglykan. Högintensiv träning hade negativ effekt på kollagenparametrar vilket visar sig makroskopiskt som erosioner och eventuellt utveckling av OA.

Det är en utmaning för hästägare och tränare att hitta en lagom träningsnivå som ökar hästens hållbarhet. För att identifiera gränsen mellan ledfrämjande träning och överbelastning kan man titta vidare på biomarkörer, som även kan användas för att upptäcka tidiga stadium av OA. Biomarkörer kan till exempel vara fragment av kollagen II (Cleary *et al.*, 2010), keratansulfat (Okumura *et al.*, 2002), COMP (Helal *et al.*, 2007), GAG (Calatroni *et al.*, 2008), och inflammatoriska parametrar (Boom *et al.*, 2005; Brama *et al.*, 2004; Van den Boom *et al.*, 2004).

Fölet har vid partus ett homogent ledbrusk. För att motstå belastningen som brosket utsätts för måste det anpassa sig. Detta sker främst under fölets första 5 månader. Aktivitetsnivå hos fölet hade en tydlig effekt på mognaden av brosket. För lite rörelse innebar en fördröjning av broskets mognad, och för vissa kollagenparametrar komparerades det inte för. Det indikerar att formationen av kollagennätverket sker tidigt under hästens liv, och en svagare konstruktion till följd av bristande möjligheter till rörelse kan få irreversibla effekter som försämrar hästens hållbarhet på sikt.

Träning ökar de nedbrytande processerna i ledbrusk. Faktorer som bidrar till nedbrytningen är mekanisk belastning och inflammation. Inflammation komma alla ledens olika strukturer, och även om den primära skadan inte sitter i ledbrusk så är det brosket som drabbas hårdast

vid utveckling av klinisk OA. Genom att enbart titta på ledbrösket kan man få vissa svar, men hela bilden får man först när man tittar på ledens alla delar som en helhet och hur de olika delarna interagerar med varandra. Till exempel påverkas det subchondrala benet av träning (Murray *et al.*, 2001c) och är involverat vid ledpatologi (Kawcak *et al.*, 2001; Norrdin *et al.*, 1998).

De studier jag har valt att titta på är experimentella studier, och även om de är väl genomförda kan de inte ge en fullständig bild av verkligheten i alla sammanhang. Den här typen av studier är otroligt dyra att genomföra, vilket innebär att antalet hästar som ingår i studierna inte är så stort som man hade önskat. Samma hästmateriel används också till olika studier, vilket kan vara ett problem om experimentet har haft ouppmärksammade felkällor.

Det står klart att ledbrösket anpassar sig efter den belastning den utsätts för. En viss mängd träning verkar nödvändigt för ledens hälsa, och inte minst för den optimala mognaden av ledbrösket hos föl. Suboptimala förhållanden under fölets första år kan resultera i ett ledbrösk som sämre står emot mekaniska insulter. Detta kan vara en riskfaktor för OA. Vilken träningsnivå som är lämplig är svår att svara på, men när man identifierat vilka typer av förändringar som är patologiska i leden kan man börja titta på biomarkörer som indikerar överskridande av ledbröskets anpassningsförmåga, och man kan då istället anpassa träningsnivån innan hästen blir halt. Sannolikt finns en individuell variation i känslighet för belastning, underlag, vila etc. varför ytterligare forskning är angelägen för att identifiera riskpatienter.

BILAGA

Tabell 1. Översikt av studier.

Studie	Undersökning	Försöksdjur	Träningsregim	Kontroll	Anatomisk region	Resultat
Palmer <i>et al.</i> , 1995a	Distribution av proteoglykaner	n=16.	n=6. 30 min, 3 ggr/vecka i 6 veckor.	n=10. Boxvila.	Proximal yta av tredje karpalbenet.	Träning ökade signifikant (P=0,0002) syntes av proteoglykan. Endogent proteoglykan påverkades inte med det fanns en effekt av site.
Palmer <i>et al.</i> , 1995b	Biomekaniska egenskaper	n=12. Genomsnittlig ålder = 8,2 år.	n=6. 30 min, 3 ggr/vecka i 6 veckor.	n=6. Boxvila.	Proximal yta av tredje karpalbenet.	Ingen effekt av träning. Site hade signifikant effekt (P<0,01).
Little <i>et al.</i> , 1997	Distribution av proteoglykaner	n=12. Varmblodstravare. 3-5 år.	n=6. 16 veckors förberedande träning. Därefter 17 veckors snabbt stegrande träning. Därefter 16 veckor vila.	n=6. 16 veckors förberedande träning. Därefter 17 veckors långsamt stegrande träning. Därefter 16 veckor vila.	Proximal yta av tredje karpalbenet.	Ingen effekt av träning på proteoglykaninnehåll. Brosk från de hårt tränade hästarna hade en signifikant (P<0,05) minskad syntes av aggregat och samtidigt ökad syntes av decorin i dorso-radiala områden av ledytan.
Firth and Rogers, 2005	Broskets tjocklek	n=14. Engelska fullblod. 2 år.			Tredje karpalbenet.	Träningen ökade det hyalina broskets tjocklek (P<0,007)
Brama <i>et al.</i> , 2000a	Kollagenegenskaper	n=14. Engelska fullblod. 2 år.	n=7. 4 veckors inridning följt av 13 veckor banträning.	n=7. Hagvistelse.	Proximala delen av första falangen.	Träning ökade makroskopiska broskskador och heterogeniteten försvann. Hos de tränade djuren ökade broskets vatteninnehåll och HP-crosslinks minskade i korrelation med wear lines.
Ferguson <i>et al.</i> , 2008	Broskets tjocklek	n=8. Engelska fullblod 2 år.	n=4. 13-14 veckor banträning.	n=4. Hagvistelse.	Distala delen av tredje metakarpalbenet.	Träningen hade inte effekt på broskets tjocklek.

Tabell 1. Översikt av studier.

Studie	Undersökning	Försöksdjur	Träningsregim	Kontroll	Anatomisk region	Resultat
Murray <i>et al.</i> , 1999a	Broskets tjocklek	n=12. Engelska fullblod. 18-21 månader.				Träning ökade signifikant tjockleken på hela brosket och den kalkifierade zonen ($P < 0,0001$). Det hyalina brosket blev inte tjockare. Dorsalt brosk var tjockare än palmart i båda grupperna.
Murray <i>et al.</i> , 1999b	Biomekaniska egenskaper	n=12. Engelska fullblod. 18-21 månader.	n=6. 19 veckor av progressiv träning. Galopperades på löpband 3 gånger i veckan. De dagar hästarna inte galopperades travades de i 10 minuter. 6 dagar i veckan skrittades de i skrittmaskin.	n=6. Endast skritträning.	Proximala och distala ytor av mellersta karpalleden.	Dorsalt brosk hade lägre permeabilitet, var tunnare och hade förlorad cellorientering jämfört med dorsalt brosk i båda grupperna. De tränade hästarna uppvisade ökad fibrillering och chondrocytklusterformering än kontrollgruppen. De tränade hästarna hade lägre stelhet i brosket i tredje karpalbenet och dorsala radiala karpalbenet.
Murray <i>et al.</i> , 2001a	Distribution av makromolekyler	n=12. Engelska fullblod. 18-21 månader.				Dorsalt brosk hade högre innehåll av kollagen, DNA, och antal chondrocyter, men lägre GAG-innehåll än palmart brosk. Träningen ökade GAG-innehållet. Sites som är predisponerade för skador innehåll signifikant mindre brosk hos träningsgruppen än kontrollgruppen.
Murray <i>et al.</i> , 2001b	Distribution av COMP	n=12. Engelska fullblod. 18-21 månader.				Träningen gjorde att distributionen av COMP blev med interterritoriell än hos kontrollgruppen där distributionen var mer generell. Fibrillerat brosk visade ökad immunreaktivitet i matrixet för COMP.
Bird <i>et al.</i> , 2000	Distribution av proteoglykaner	n=12. Engelska fullblod. Genomsnittlig ålder 23,8 månader.			Kotleder	Träning ökade proteoglykansyntesen.

REFERENSER

- Benninghoff A., 1925. Form und Bau der Gelenkknorpel in ihren Beziehungen zur Funktion. Zweiter Teil: der Aufbau des Gelenkknorpels in seinen Beziehungen zur Funktion. *Zsch Zelforsch Mikroskop Anat.* 1925;2:783–862
- Bird, J.L.E., Platt, D., Wells, T., May, S.A., Bayliss, M.T., 2000. Exercise-induced changes in proteoglycan metabolism of equine articular cartilage. *Equine Veterinary Journal* 32, 161–163. doi:10.2746/042516400777591624
- Boom, R. van den, Lest, C. van de, Bull, S., Brama, P.A.J., Weeren, P.R., Barneveld, A., 2005. Influence of repeated arthrocentesis and exercise on synovial fluid concentrations of nitric oxide, prostaglandin E2 and glycosaminoglycans in healthy equine joints. *Equine veterinary journal* 37, 250–256.
- Brama, P. a. J., TeKoppele, J.M., Bank, R.A., Barneveld, A., van Weeren, P.R., 2002. Development of biochemical heterogeneity of articular cartilage: influences of age and exercise. *Equine Vet. J.* 34, 265–269.
- Brama, P. a. J., Tekoppele, J.M., Bank, R.A., van Weeren, P.R., Barneveld, A., 1999. Influence of different exercise levels and age on the biochemical characteristics of immature equine articular cartilage. *Equine Veterinary Journal* 31, 55–61. doi:10.1111/j.2042-3306.1999.tb05314.x
- Brama, P.A., Karssenbergh, D., Barneveld, A., van Weeren, P.R., 2001. Contact areas and pressure distribution on the proximal articular surface of the proximal phalanx under sagittal plane loading. *Equine Vet. J.* 33, 26–32.
- Brama, P.A.J., Boom, R. van den, DeGroot, J., Kiers, G.H., Weeren, P. van, 2004. Collagenase-1 (MMP-1) activity in equine synovial fluid: influence of age, joint pathology, exercise and repeated arthrocentesis. *Equine veterinary journal* 36, 34–40.
- Brama, P.A.J., Holopainen, J., van Weeren, P.R., Firth, E.C., Helminen, H.J., Hyttinen, M.M., 2009. Effect of loading on the organization of the collagen fibril network in juvenile equine articular cartilage. *J. Orthop. Res.* 27, 1226–1234. doi:10.1002/jor.20866
- Brama, P.A.J., Tekoppele, J.M., Bank, R.A., Barneveld, A., Firth, E.C., van Weeren, P.R., 2000a. The influence of strenuous exercise on collagen characteristics of articular cartilage in Thoroughbreds age 2 years. *Equine Vet. J.* 32, 551–554.
- Brama, P.A.J., Tekoppele, J.M., Bank, R.A., Karssenbergh, D., Barneveld, A., Van Weeren, P.R., 2000b. Topographical mapping of biochemical properties of articular cartilage in the equine fetlock joint. *Equine Veterinary Journal* 32, 19–26. doi:10.2746/042516400777612062
- Brommer, H., Brama, P. a. J., Barneveld, A., van Weeren, P.R., 2004. Differences in the topographical distribution of articular cartilage degeneration between equine metacarpo- and metatarsophalangeal joints. *Equine Vet. J.* 36, 506–510.
- Calatroni, A., Avenoso, A., Ferlazzo, A.M., Lindner, A., Campo, G.M., 2008. Transient Increase with Strenuous Exercise of Plasma Levels of Glycosaminoglycans in Humans and Horses. *Connective tissue research* 49, 416–425.
- Cleary, O.B., Trumble, T.N., Merritt, K.A., Brown, M.P., 2010. Effect of exercise and osteochondral injury on synovial fluid and serum concentrations of carboxy-terminal telopeptide fragments of type II collagen in racehorses. *American journal of veterinary research* 71, 33–40.
- Dowthwaite, G.P., Bishop, J.C., Redman, S.N., Khan, I.M., Rooney, P., Evans, D.J., Haughton, L., Bayram, Z., Boyer, S., Thomson, B., others, 2004. The surface of articular cartilage contains a progenitor cell population. *Journal of cell science* 117, 889–897.
- Ferguson, V.L., Bushby, A.J., Firth, E.C., Howell, P.G.T., Boyde, A., 2008. Exercise does not affect stiffness and mineralisation of third metacarpal condylar subarticular calcified tissues in 2 year old thoroughbred racehorses. *Eur Cell Mater* 16, 40–46; discussion 46.
- Firth, E.C., Rogers, C.W., 2005. Musculoskeletal responses of 2-year-old Thoroughbred horses to early training. 7. Bone and articular cartilage response in the carpus. *N Z Vet J* 53, 113–122. doi:10.1080/00480169.2005.36488
- Heinegård, D., Saxne, T., 2011. The role of the cartilage matrix in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 7, 50–56. doi:10.1038/nrrheum.2010.198

- Helal, I.E., Misumi, K., Tateno, O., Kodama, T., Ishimaru, M., Yamamoto, J., Miyakoshi, D., Fujiki, M., 2007. Effect of exercise on serum concentration of cartilage oligomeric matrix protein in Thoroughbreds. *American journal of veterinary research* 68, 134–140.
- Hunziker, E.B., 2002. Articular cartilage repair: basic science and clinical progress. A review of the current status and prospects. *Osteoarthritis and Cartilage* 10, 432–463. doi:10.1053/joca.2002.0801
- Kawcak, C.E., 2016. 2 - Biomechanics in Joints, i: *Joint Disease in the Horse (Second Edition)*. W.B. Saunders, Edinburgh, pp. 25–32. doi:10.1016/B978-1-4557-5969-9.00002-4
- Kawcak, C.E., McILWRAITH, C.W., Norrdin, R.W., Park, R.D., James, S.P., 2001. The role of subchondral bone in joint disease: a review. *Equine Veterinary Journal* 33, 120–126. doi:10.1111/j.2042-3306.2001.tb00589.x
- Little, C.B., Ghosh, P., Rose, R., 1997. The effect of strenuous versus moderate exercise on the metabolism of proteoglycans in articular cartilage from different weight-bearing regions of the equine third carpal bone. *Osteoarthritis and Cartilage* 5, 161–172. doi:10.1016/S1063-4584(97)80011-8
- Lotz, M.K., Otsuki, S., Grogan, S.P., Sah, R., Terkeltaub, R., D’Lima, D., 2010. Cartilage cell clusters. *Arthritis Rheum* 62, 2206–2218. doi:10.1002/art.27528
- Maroudas, A., Bayliss, M.T., Uchitel-Kaushansky, N., Schneiderman, R., Gilav, E., 1998. Aggrecan turnover in human articular cartilage: use of aspartic acid racemization as a marker of molecular age. *Arch. Biochem. Biophys.* 350, 61–71. doi:10.1006/abbi.1997.0492
- Maroudas, A., Bullough, P., Swanson, S.A.V., Freeman, M.A.R., 1968. The permeability of articular cartilage. *Bone & Joint Journal* 50, 166–177.
- McIlwraith, C.W., 2016. 3 - Traumatic Arthritis and Posttraumatic Osteoarthritis in the Horse, i: *Joint Disease in the Horse (Second Edition)*. W.B. Saunders, Edinburgh, pp. 33–48. doi:10.1016/B978-1-4557-5969-9.00003-6
- Mueller, M.B., Tuan, R.S., 2011. Anabolic/Catabolic balance in pathogenesis of osteoarthritis: identifying molecular targets. *PM R* 3, S3-11. doi:10.1016/j.pmrj.2011.05.009
- Murray, R.C., Birch, H.L., Lakhani, K., Goodship, A.E., 2001a. Biochemical composition of equine carpal articular cartilage is influenced by short-term exercise in a site-specific manner. *Osteoarthr. Cartil.* 9, 625–632. doi:10.1053/joca.2001.0462
- Murray, R.C., Smith, R.K., Henson, F.M.D., Goodship, A., 2001b. The Distribution of Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP) in Equine Carpal Articular Cartilage and its Variation with Exercise and Cartilage Deterioration. *The Veterinary Journal* 162, 121–128. doi:10.1053/tvjl.2001.0590
- Murray, R.C., Vedi, S., Birch, H.L., Lakhani, K.H., Goodship, A.E., 2001c. Subchondral bone thickness, hardness and remodelling are influenced by short-term exercise in a site-specific manner. *J. Orthop. Res.* 19, 1035–1042. doi:10.1016/S0736-0266(01)00027-4
- Murray, R.C., Whitton, R.C., Vedi, S., Goodship, A.E., Lekeux, P., 1999a. The effect of training on the calcified zone of equine middle carpal articular cartilage. *Equine Veterinary Journal* 31, 274–278. doi:10.1111/j.2042-3306.1999.tb05234.x
- Murray, R.C., Zhu, C.F., Goodship, A.E., Lakhani, K.H., Agrawal, C.M., Athanasiou, K.A., 1999b. Exercise affects the mechanical properties and histological appearance of equine articular cartilage. *J. Orthop. Res.* 17, 725–731. doi:10.1002/jor.1100170516
- Norrdin, R.W., Kawcak, C.E., Capwell, B.A., McIlwraith, C.W., 1998. Subchondral bone failure in an equine model of overload arthrosis. *Bone* 22, 133–139.
- O’Hara, B.P., Urban, J.P., Maroudas, A., 1990. Influence of cyclic loading on the nutrition of articular cartilage. *Annals of the rheumatic diseases* 49, 536–539.
- Okumura, M., Kim, G.H., Tagami, M., Haramaki, S., Fujinaga, T., 2002. Serum Keratan Sulphate as a Cartilage Metabolic Marker in Horses: the Effect of Exercise. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 49, 195–197. doi:10.1046/j.1439-0442.2002.00434.x
- Palmer, J.L., Bertone, A.L., Litsky, A.S., 1994. Contact area and pressure distribution changes of the equine third carpal bone during loading. *Equine Veterinary Journal* 26, 197–202. doi:10.1111/j.2042-3306.1994.tb04369.x

- Palmer, J.L., Bertone, A.L., Malesud, C.J., Carter, B.G., Papay, R.S., Mansour, J., 1995a. Site-specific proteoglycan characteristics of third carpal articular cartilage in exercised and nonexercised horses. *Am. J. Vet. Res.* 56, 1570–1576.
- Palmer, J.L., Bertone, A.L., Mansour, J., Carter, B.G., Malesud, C.J., 1995b. Biomechanical properties of third carpal articular cartilage in exercised and nonexercised horses. *J. Orthop. Res.* 13, 854–860. doi:10.1002/jor.1100130608
- Sah, R.L.-Y., Kim, Y.-J., Doong, J.-Y.H., Grodzinsky, A.J., Plass, A.H., Sandy, J.D., 1989. Biosynthetic response of cartilage explants to dynamic compression. *Journal of Orthopaedic Research* 7, 619–636.
- Sandell, L.J., Aigner, T., 2001. Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis. *Arthritis Res.* 3, 107–113. doi:10.1186/ar148
- Thomas, C.M., Fuller, C.J., Whittles, C.E., Sharif, M., 2011. Chondrocyte death by apoptosis is associated with the initiation and severity of articular cartilage degradation. *Int J Rheum Dis* 14, 191–198. doi:10.1111/j.1756-185X.2010.01578.x
- Tseng, S., Reddi, A.H., Di Cesare, P.E., 2009. Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP): A Biomarker of Arthritis. *Biomark Insights* 4, 33–44.
- Turnhout, M.C. van, Haazelager, M.B., Gijzen, M.A.L., Schipper, H., Kranenbarg, S., Leeuwen, J.L. van, 2008. Quantitative description of collagen structure in the articular cartilage of the young and adult equine distal metacarpus. *Animal Biology* 58, 353–370. doi:10.1163/157075608X383674
- Van den Boom, R., Brama, P.A., Kiers, G.H., DeGroot, J., Barneveld, A., Van Weeren, R.R., 2004. The influence of repeated arthrocentesis and exercise on matrix metalloproteinase and tumour necrosis factor alpha activities in normal equine joints. *Equine veterinary journal* 36, 155–159.
- van den Hoogen, B.M., van den Lest, C.H.A., Van Weeren, P.R., van Golde, L.M.G., Barneveld, A., 1999. Effect of exercise on the proteoglycan metabolism of articular cartilage in growing foals. *Equine Veterinary Journal* 31, 62–66. doi:10.1111/j.2042-3306.1999.tb05315.x
- van Weeren, P.R., 2016. 1 - General Anatomy and Physiology of Joints, i: Joint Disease in the Horse (Second Edition). W.B. Saunders, Edinburgh, pp. 1–24. doi:10.1016/B978-1-4557-5969-9.00001-2
- Verzijl, N., DeGroot, J., Thorpe, S.R., Bank, R.A., Shaw, J.N., Lyons, T.J., Bijlsma, J.W., Lafeber, F.P., Baynes, J.W., TeKoppele, J.M., 2000. Effect of collagen turnover on the accumulation of advanced glycation end products. *J. Biol. Chem.* 275, 39027–39031. doi:10.1074/jbc.M006700200
- Wong, M., Wuethrich, P., Buschmann, M.D., Eggli, P., Hunziker, E., 1997. Chondrocyte biosynthesis correlates with local tissue strain in statically compressed adult articular cartilage. *J. Orthop. Res.* 15, 189–196. doi:10.1002/jor.1100150206