

Ledinflammationer på häst och intraartikulär behandling med hyaluronsyra

En pilotstudie på Hyaluronsyra X

Karin Thorell

Handledare: Karin Roethlisberger-Holm
Inst. för Kliniska Vetenskaper, avdelningen för kirurgi och medicin

**Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet**

**Examensarbete 2007:7
ISSN 1652-8697
Uppsala 2007**

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SUMMARY	3
INLEDNING.....	4
LITTERATURSTUDIE	5
Ledens anatomi och fysiologi	5
Patofysiologi vid ledinflammation	7
Behandlingsprinciper vid ledinflammation	9
Hyaluronsyra	11
Intraartikulär behandling med hyaluronsyra	12
PILOTSTUDIE	16
Syfte.....	16
Material och metod.....	16
Resultat	17
DISKUSSION.....	19
SAMMANFATTNING	22
ACKNOWLEDGEMENTS.....	22
LITTERATURFÖRTECKNING	23

SUMMARY

Traumatic arthritis is a common cause of lameness in horses. One of different treatment alternatives of arthritis, is intra-articular injection with hyaluronan. As knowledge about pathophysiology of arthritis and function of hyaluronan is increasing, understanding grows about the mechanism of hyaluronan action in joints. Hyaluronan has, in addition to effects on viscosity, anti-inflammatory and analgesic effects. Extensive research and scientific studies have been made on exogenous hyaluronan. Still, there are questions to be answered about e.g. the importance of molecular weight on hyaluronan effect. Some scientific results say that higher molecular weight hyaluronan has an extended duration in the joint, compared to lower molecular weights. No studies on a product containing hyaluronan molecules with size $> 10 \times 10^6$ Da, have earlier been made.

A new product with a much higher molecular weight content than existing hyaluronan products, has been manufactured. Intra-articular treatment of traumatic arthritis with hyaluronan often needs to be repeated. The purpose of the new product, called "Hyaluronsyra X", is to have a longer duration in the joint, and fewer treatments of traumatic arthritis to be needed than with other products. A pilot study was made on "Hyaluronsyra X". The concentration of hyaluronan in synovial fluid from test joints increased after injection with the product. High prevalence of mild side effects was observed. Manufacture and administration of the new product need to be improved, to reduce the side effect frequency, and make it easier to use. Not until then the clinical effects can be tested and evaluated.

INLEDNING

Hästar har stor betydelse för människan. Från att ha varit ett oundgängligt hjälpmedel vid lantbruk och smågårdar, till stridsmedel i krig har hästar under flera sekel utgjort en del av människans levnadssätt. Idag innebär hästens existens sysselsättning för många tusen personer i Sverige, både professionellt och som fritidsintresse. Den ekonomiska omsättningen inom hästsektorn är stor.

För att människan ska kunna nyttja och njuta av hästen ska den vara funktionell. Detta innebär bl.a. att den ska hålla för den belastning den utsätts för. Vi måste också se till hästens hälsa och välfärd. Hältor blir ofta långvariga bekymmer för hästar och hästägare, och mycket resurser läggs på att diagnosticera och behandla hältor. Orsaken till hältan kan i många fall vara relaterad till leder och deras omgivande strukturer. I nästan all litteratur som handlar om hästkirurgi och hältor på häst kan man läsa om den stora betydelsen ledrelaterade problem har (Frisbie, 2006a).

Mycket forskning har gjorts på hyaluronsyra; dess struktur, funktion, syntes och nedbrytning. Stor vikt läggs vid vilken molekylvikt hyaluronsyra ska ha för att vara mest effektiv vid behandling av ledinflammationer. Ändå finns det många frågetecken och oklarheter kvar. Avsikten med detta arbete är att beskriva leders uppbyggnad och egenskaper, och vad som händer vid ledinflammation. Utifrån den kunskap som finns idag beskrivs också verkningsmekanismerna vid behandling med hyaluronsyra.

Hyaluronsyra har i tiotals år använts för behandling av ledinflammationer, både intraartikulärt och systemiskt. Den första rapporten om behandlingsresultat kom 1970 (Butler et al). Då jämfördes man behandling med hyaluronsyra och kortikosteroid i kombination, med enbart kortikosteroid. Man upptäckte att kombinationsbehandling gav ett bättre behandlingsresultat. Därefter kom flera rapporter om behandling med enbart hyaluronsyra (Asheim och Lindblad, 1976; Rose, 1979). Sedan dess har många studier utförts, men de har ofta haft svagheter p.g.a. avsaknad av objektiva parametrar, och resultaten har blivit ottydliga (Howard och McIlwraith, 1996).

LITTERATURSTUDIE

Ledens anatomi och fysiologi

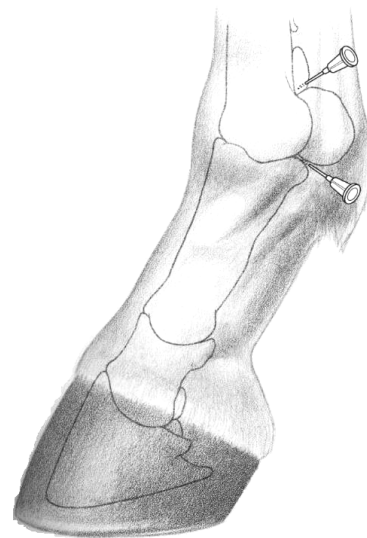
För att förstå hur hyaluronsyra kan påverka en led vid intraartikulär injektion, är det viktigt att känna till ledens konstruktion och fysiologi, samt hyaluronsyrans egenskaper. Leder utgör förbindelser mellan skelettdelar, och möjliggör rörelse under inflytande av muskler och andra mjukdelar. De flesta leder är synoviala. Utrymmet mellan skelettdelarna utgör ledrummet som är fyllt med ledvätska, synovia. Håligheten begränsas av ledkapseln som i huvudsak består av två olika lager; ett bindvävsskikt och ett synovialmembran. Den yttre bindvävsdelen fäster till skelettdelarna, och dess tjocklek beror på vilken belastning den ska hålla för. Den fibrösa ledkapseln är försedd med proprioceptiva receptorer som registrerar läge, position och även smärta. Skelettdelarnas ledytor bekläds av ledbrosk (Dyce et al, 1996). I pilotstudien utfördes försöket på kotleder, som förbinder metacarpal- eller metatarsalbenet med kotbenet. Figur 1 visar var kotleden sitter på hästbenet, och var intraartikulär injektion utförs.

Synoviala strukturer

Ledkapselns inre *synovialmembran* omger ledrummet och är uppbyggt av intima och subintima. Synovialmembranet kan vara olika tjockt och är ibland separerat från det yttre bindvävsskiktet. Den typ av celler som ger membranet dess funktion är synoviocyter. Membranet är försett med både kärl och nerver.

Synovialmembranets *intima* har både fagocytos och proteinproduktion som funktion. Detta verkställs av *typ A* och *typ B synoviocyter* (Iwanaga et al, 2000). Typ A rensar upp ledrummet från skadliga partiklar via fago- och pinocytos. De proteiner som typ B producerar är hyaluronsyra, kollagen, lubricin, matrix pro-metalloproteinaser, interleukiner och eikosanoider. Proteinerna går ut i synovian och deltar i flera olika reaktioner i både normala och sjuka leder. Synoviocyterna står även för produktion av matrix i synoviallagret. Intiman saknar basalmembran, vilket möjliggör passage av vissa ämnen mellan blodcirkulation och synovia. *Subintiman* påverkar synovians sammansättning genom att reglera vilka substanser som t.ex. glukos, syre, koldioxid och proteiner som släpps igenom från blodcirkulationen. Proteiner större än 10 kDa släpps inte igenom en normalt fungerande subintima (Frisbie, 2006a).

Synovialvätska (*synovia*) brukar ses som ett ultrafiltrat av plasma. Utöver plasma-substanser innehåller synovian hyaluronsyra, som produceras i synovialmembranet. Funktionen av synovia är förutom att minska friktionen vid rörelse, att förse intraartikulära delar med näring och energi. Vätskan innehåller celler,



Figur 1: Kotled, placering av kanyl vid intraartikulär injektion. Från Stashak, 2002.

främst mononukleära, men även polymorfonukleära. Synovia från en frisk led ska innehålla mindre än 500 nukleära celler/ μ L.

Det finns vissa teorier om hur intraartikulärt tryck och volym regleras (Frisbie, 2006a). Teorierna bygger på att passagen av substanser från blod till synovia sker med hydrostatiska och kolloidosmotiska krafter. Återflöde av vätska från leden ut i lymfsystemet sker m.h.a. tryckförändringar vid motoriska rörelser. Tryckkraft och volym styrs bl.a. av vilken belastning leden utsätts för, position den befinner sig i, och de omgivande strukturernas egenskaper (Todhunter, 1996).

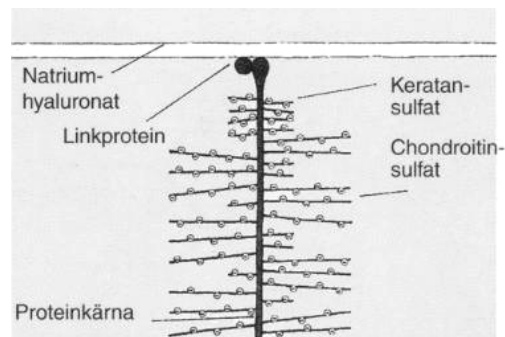
Ledbrosk

Det subkondrala skelettet täcks av det hyalina ledbrasket. Hyalin syftar på broskets jämna, glatta yta. Brosklaget följer det subkondrala benets kontur, och skelettet påverkas via brosket av aktiva rörelser. Tjockleken på brosket varierar mellan 1 och 4 mm. Broskets struktur och egenskaper möjliggör en minimal friktion och effektiv fortplantning av rörelse.

Karaktäriserande för ledbrasket är att det varken innehåller kärl eller nerver. Därför visar sig en skada i ledbrasket inte alltid direkt med kliniska symtom. Brosket är helt beroende av diffusion av näringsämnen och restprodukter, vilket sker via synovian.

Histologiskt består brosket av extracellulärt matrix och kondrocyter. Matrix består i huvudsak av kollagen, proteoglykaner och vatten. Den högsta andelen står vattnet för, ca 70 % hos en vuxen häst. Kondrocyterna producerar beståndsdelarna i matrix, inklusive hyaluronan. Molekyler passerar mellan synovia och ledbrosk med hjälp av de krafter som utvecklas vid rörelse. Kompression gör att molekyler ”trycks” in i broskdelen, och då belastningen minskar ”sugs” ämnen ut ur brosket av det undertryck som bildas (Frisbie, 2006a).

Proteoglykaner bidrar med stötdämpande egenskaper till brosket. De är uppbyggda av ett s.k. kärnprotein och glukosaminoglykaner, GAG's. Proteoglykaner länkas fast till kärnproteinet i hyaluronsyra, som är ”ryggraden” i ett proteoglykan-aggregat (figur 2). GAG's negativa laddningar gör att de repellerar varandra. De drar även till sig vatten som gör att det inre trycket ökar. Dessa båda egenskaper stärker broskets motståndskraft (Frisbie, 2006a).



Figur 2: Proteoglykan-aggregat. Från Pharmacia & Upjohn, 1999.

Patofysiologi vid ledinflammation

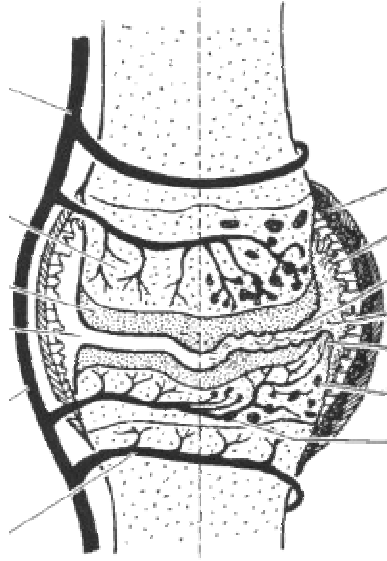
Valet av behandling vid ledinflammation är beroende av vilken typ av skada det rör sig om. Först är det alltså viktigt att ställa en så korrekt diagnos som möjligt. För att förstå verkningsmekanismer för olika behandlingar, underlättar det om man känner till patogenesen för ledinflammationer.

Leder utsätts för belastning vid all typ av rörelse. Påfrestningar sker på såväl synoviala som omkringliggande strukturer. Över- eller felbelastning kan orsaka skada, antingen akut eller över en längre tid. Ibland finns en underliggande defekt i någon ledstruktur t ex nedsatt hållbarhet i ledbrösket. Det finns många olika benämningar på denna typ av skada, men det mest korrekta anses vara traumatisk artrit. Den kan yttra sig på olika sätt, beroende av grad och typ av skada. Traumatisk artrit kan t ex inkludera synovit, kapsulit, desmit i ligament eller skada i ledbrösk. Dessa tillstånd kan om processen fortsätter tillräckligt länge utvecklas till s.k. degenerativ leddsjukdom vilket innebär skada på ledbrösket. Andra benämningar är osteoartros och osteoartrit. Normalt finns en jämvikt i metabolismen i ledens strukturer. En traumatisk artrit eller osteoartros innebär en ökad katabolism (Frisbie, 2006a). Förändringar i leden vid osteoartrit visas i figur 3.

Fysiologiska reaktioner vid traumatisk artrit innefattar frisättning av flera skadliga substanser, t.ex. *matrix metalloproteinaser* (MMP), *prostaglandiner* och *fria syreradikaler* (Von Rechenberg et al, 2000). Ämnena har en kaskadeffekt, där de stimulerar ytterligare frisättning av enzymer. Vissa enzymer kan bryta ner proteoglykaner, kollagen och hyaluronsyra i ledbrösket, synovialmembranet och synovian. Exempel på cytokiner som aktivt medverkar i den inflammatoriska reaktionen i leden är *interleukin-1* (IL-1) och *tumor necrosis factor* (TNF) - α . Resultatet blir en upplösning av ledbröskets matrix, och ledbrösket får en försämrad hållbarhet. Då nedbrytning sker släpps ännu mer enzymer och skadliga substanser ut i synovian. I leden finns naturliga inhibitorer av skadliga enzymer. IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) är en molekyl som hämmar IL-1 och dess biologiska effekter. Även TNF- α har sin naturliga inhibitor. Det som hämmar MMP är *tissue inhibitor of matrix metalloproteinase* (TIMP). Problemet är att inhibitorerna själva hämmas vid en katabolisk process i leden (Frisbie, 2006).

Synovialmembranet är involverat i ledinflammationens patogenes genom att påverka diffusionen av leukocyter och inflammatoriska mediatorer mellan cirkulationssystem och synovia. Genom förändringar i hyaluronsyrans struktur får synovialmembranet en förändrad permeabilitet. Det subkondrala benet kan i långt gångna fall också påverkas och sklerotiseras. Inflammationen kan stimulera bennybildning, och osteocyter kan uppstå. Skada i ledbrösk respektive inflammationsprocesser i andra ledkomponenter leder alltså till en "ond cirkel" som man snabbt vill häva. Skador i ledbrösk medför en helt annan behandlingsstrategi än om bara mjukdelar är involverade (Howard och McIlwraith, 1996). Flera olika studier har gjorts för att se vad som händer med hyaluronsyra i synovia vid traumatisk artrit, och resultaten varierar. I en studie gjord i Finland (Tulamo et al, 1994) har man undersökt molekylvikt och koncentration på hyaluronsyra i leder med klinisk artrit. Där drogs slutsatsen att koncentrationen av hyaluronsyra inte förändras vid en akut eller kronisk

traumatisk artrit, men däremot sjunker vid septisk artrit eller osteoartros med radiologiska förändringar. Molekylvikten minskade endast vid septisk artrit.



Figur 3: Normal led till vänster, led med osteoartros till höger. Förändringar som visas (markerat med streck i figuren) är kapsulit; synovit; skadat ledbrosk; depolymeriserad hyaluronsyra i synovialmembran; osteofyt; skleros; förstörade kärl. Från Frisbie, 2006a.

Klinisk manifestation

Karaktäristiska tecken på traumatisk artrit är ökad ledfyllnad, *galla*, och *håltä*. En skada i en led behöver inte alltid betyda att en häst visar kliniska symtom, eftersom ledbrosket inte är innerverat (Howard och McIlwraith, 1996). Däremot finns sensoriska nerver i omgivande strukturer som ledkapsel, synovialmembran, sensor, ligament, periost och subkondralt ben. Nervreceptorer reagerar på mekaniska och kemiska stimuli och utlöser smärtreaktioner. Smärta gör att hästen blir öm och halt. Ju större defekt, desto kraftigare symtom utvecklas. Leder kan provoceras med böjprov, då smärtan ökar och en håltä kan bli tydligare. I akut skede kan det vara varmare än normalt kring leden. Beroende av var skadan sitter kan omkringliggande mjukdelsvävnad vara svullen och ödematös. Vid t.ex. kapsulit i kotleden, brukar man kunna palpera en svullnad på dorsalsidan av leden (McIlwraith, 2002a).

Ett vanligt kliniskt fynd vid traumatisk artrit och osteoartrit är ökad mängd ledvätska i leden (Frisbie, 2006a). Detta är orsakat av en ökad permeabilitet för serum, och försämrat dränage via lymfan. Vid kapsulit reagerar ledkapseln efter en tid med fibros för att förstärka ledens stabilitet. Detta resulterar i att leden blir stel och rörligheten minskar. Det är även vanligt att synovialmembranet involveras i inflammationen, och en synovit utvecklas. Histologiska förändringar som kan ses i synovialmembranet är ödem, hyperplasi av synoviocyter, hypervaskulärisering, cellinfiltration, och även här fibros.

Synovians makroskopiska utseende är lätt att kontrollera då synoviaprov tas vid behandling eller bedövning av leden. Denna bedömning är subjektiv och inte så specifik. Vätskan ska normalt vara ljusgul och genomskinlig och fri från flockor.

Synovians karaktär kan i vissa fall förändras i form av makroskopiskt minskad viskoelasticitet. Man anser att en förändring i viskoelasticitet beror på en minskad koncentration av hyaluronsyra, och depolymerisering av densamma. Synoviaprovet kan undersökas kemiskt avseende proteinhalt och cytologi. Dessa mätningar har relativt låg specificitet och sensitivitet, men kan ge en fingervisning om graden av skada. Man kan då också se om leden är infekterad (septisk artrit). Totalprotein ligger normalt på 0,8-2,5 g/dL. Totalt antal leukocyter ska vara 50-500 st/ μ L. Man försöker att utveckla nya mätmetoder för ämnen som uppstår vid nedbrytning av ledbrosk, t.ex. TNF- α . Förhoppningen är att kunna detektera skador tidigare och bedöma graden av skada mer specifikt.

Ledinflammationer kan i kroniska fall ge radiologiska förändringar. Man kan ibland även se förändringar med andra bilddiagnostiska metoder som t.ex. ultraljud, scintigrafi eller magnetröntgen (Frisbie, 2006a).

Behandlingsprinciper vid ledinflammation

Vid ledinflammationer finns flera olika behandlingsalternativ. Ibland väljer man att kombinera flera olika metoder. Det val man gör baseras på vilken typ av skada som finns i leden, vilka egna erfarenheter och preferenser den behandlande veterinären har, vad hästen används och kommer att användas till samt vad djurägaren har för önskemål. Som i många andra fall har man även ekonomi i åtanke.

Vid en akut synovit med eller utan kapsulit är målet att så snabbt som möjligt återställa ledens fysiologi och minska skadorna som inflammationen medför. Det har flera gånger visats hur viktigt det är att hästen får *vila*, d v s minska belastningen på den drabbade leden (Grant, 1996). Ett stödbandage stimulerar mekanoreceptorer och minskar smärtan. Man vill i de flesta fall att hästen får en begränsad mängd lätt motion (i skritt) under kontrollerade former. En annan typ av behandling är *fysioterapi*. Den går ut på att hålla den skadade leden i en så fysiologiskt stimulerande miljö som möjligt. Exempel på använda metoder är hydroterapi, massage, laser-behandling och elektromagnetisk stimulering. Ett viktigt komplement till en lyckad behandling kan ofta vara en korrekt *hovverkning* och *skoning* (McIlwraith, 2002a).

Det finns kirurgiska behandlingsmetoder att tillgå vid behandling av ledproblem. De blir aktuella främst vid kroniska skador och när ledbrosk och skelettdelar är involverade. Via *artroskopi* kan man kirurgiskt gå in i leden och skrapa ledytter, spola ledrummet, kurertera eller avlägsna lösa benfragment. Artroskopi möjliggör också inspektion av leden och dess tillstånd och har därför även en diagnostisk betydelse (McIlwraith, 2002b).

Medicinsk behandling används i stor utsträckning vid hältor och ledproblem. En grupp av substanser som ofta är förstahandsval vid systemisk behandling är *non steroid antiinflammatoriska läkemedel* (NSAIDs), t ex fenylbutazon och flunixin meglumin. NSAID's generella uppgift är att hämma cyklooxygenas (COX), som är ett enzym involverat i bildandet av prostaglandiner och tromboxaner. NSAIDs utgör därför en effektiv hjälp att häva den inflammatoriska processen (May och

Lees, 1996). Det finns även *per orala tillskottsmedel* som innehåller t.ex. kondroitinsulfat, glukosamin och numera även hyaluronsyra. Det är ämnen som utgör byggstenar i ledbrosk och synoviala strukturer (Frisbie, 2006b). Ett medel som utvinns ur hemicellulosa i trä och som kan användas för systemisk behandling är *pentosan polysulfat (PPS)* (Frisbie, 2006b).

Intraartikulär behandling

Ett sätt att göra sig av med skadliga, inflammatoriska produkter från ledrummet är *lavage* eller ledspolning. Substanser som verkar anti-inflammatoriskt är hyaluronsyra, DMSO, PSGAG's och kortison (McIlwraith, 2002a). *DMSO* har både anti-inflammatoriska och anti-mikrobiella egenskaper, men i Sverige finns inga registrerade preparat för intraartikulärt bruk. *Hyaluronsyra* används f.f.a. för intraartikulära behandlingar, men idag finns även preparat som kan ges systemiskt. I en studie undersökte man effekten av intravenös behandling med hyaluronsyra efter en experimentell fragmentering av ledbrosk, och hade där positivt resultat jämfört med kontrollgruppen (Kawcak et al 1995). *PSGAG's* är en typ av polysulfaterade polysackarider, och är en naturlig beståndsdel i den molekyl som binder till hyaluronsyra i ledbrosk. Studier har visat på *PSGAG's* anti-inflammatoriska egenskaper, men osäkerhet råder fortfarande om vilken effekt de har på läkningsprocessen i skadat ledbrosk (Barr et al, 1994).

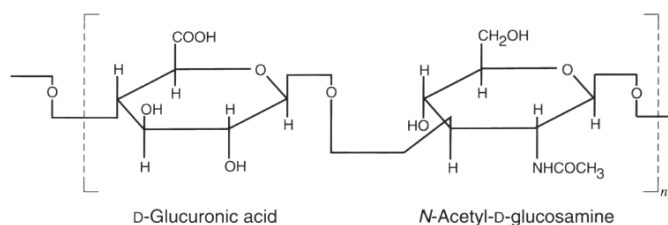
Det medel som oftast används vid behandling av ledinflammationer och som också anses mest potent är *kortison*. Då man började behandla ledproblem använde man sig av systemiskt administrerad kortison. Idag är intraartikulär behandling mest aktuell. Medlet verkar bl.a. genom att binda till inflammatoriska celler och därigenom påverka enzymsyntesen. Det kan också hämma produktion av inflammatoriska mediatorer, som arakidonsyra. Jämfört med NSAID verkar kortison på en högre nivå i den inflammatoriska verkningskedjan, och påverkar därför en större del av det inflammatoriska svaret. Det kontroversiella med behandlingen är att den även kan ha negativa bieffekter, t.ex. hämma det kroppsegna immunförsvaret. Vetenskapliga studier har klarlagt mycket om kortisonets anti-inflammatoriska mekanismer. Effekter och bieffekter är beroende av vilken typ av steroid substans, koncentration och behandlingsstrategi man väljer att använda (Trotter, 1996).

Framtida metoder

Intensiv forskning pågår om ledinflammationer och behandling av dem. Ju mer kunskap som finns om patofysiologin, desto fler alternativ uppstår. Nya behandlingsmetoder håller på att utvecklas och värderas. Skador i ledbrosk avgör ofta prognos och möjlighet till förbättring. Därför försöker man hitta sätt att reparera ledbrosk, exempelvis genom att tillsätta tillväxtfaktorer och göra implantat i leden. Efter att man upptäckt att IL-1 är involverat i destruktions av ledens strukturer vid synovit och kapsulit, har man börjat utforska möjligheter att använda sig av genterapi. Med en interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) vill man minska produktionen av cytokinen. Liknande metoder för att även hämma TNF är under utveckling. En ny teknologi som används är genterapi. Kirurgiska metoder är också under utveckling (McIlwraith, 2006; Frisbie, 2006b).

Hyaluronsyra

Hyaluronsyra som endogen substans finns i särskilt hög koncentration i ögats glaskropp, navelsträngen och leder. I en fysiologisk miljö är molekylerna positivt laddad och kallas då hyaluronan. Det är då molekylerna är sammansatt med attraherade katjoner som den kallas hyaluronsyra. På molekylnivå är hyaluronsyra en linjär polysackarid. Den kan bestå av olika många disackarider (figur 4); man säger att den är olika polymeriserad. Synovia hos en och samma individ består av hyaluronsyra med olika molekylvikter. En ännu okänd mekanism bestämmer längden på hyaluronsyrakedjorna vid produktion i synoviocyterna. Försök på synovia från människor och djur visar att molekylvikten ligger mellan 2 och 6 miljoner Dalton (Todhunter, 1996).



Figur 4: Disackarid, beståndsdel i hyaluronsyra. Från Howard och McIlwraith, 1996.

Koncentrationen av hyaluronsyra kan variera, beroende på djurart och typ av led. De mindre lederna har ofta en högre koncentration av hyaluronsyra (Howard och McIlwraith, 1996) än de större. Molekylvikt och koncentration påverkar hyaluronsyrans funktion. Dessa värden kan beräknas med olika mätmetoder. I en studie gjord på hästar (Saari et al, 1989), beräknades medelvärdet av koncentrationen hyaluronsyra i synovia till $0,47 \pm 0,19$ mg/ml. Man fann också att graden av polymerisering, och därmed molekylvikt, varierade mycket mellan olika individer.

Viskositet syftar på hur tjock och trögflytande en vätska är, och påverkar vätskans motståndskraft mot tryck och friktion. Synovians viskositet beror på dess koncentration av hyaluronsyra (Aviad och Houpt, 1994). I synovian har hyaluronsyra till uppgift att smörja leden och möjliggöra rörelse med minsta möjliga friktion.

I ledbrosk produceras hyaluronsyra av kondrocyter. Varje sträng av hyaluronsyra binder 50-100 proteoglykaner. Aggregaten ger ledbrosket dess motståndskraft mot kompression. Man har även sett att hyaluronsyra ligger i ett slags skyddande, acellulärt lager ytterst på ledbrosket (Howard och McIlwraith, 1996). Permeabilitetsbarriären i synovialmembranet utgörs av synoviocyter och matrix. Hyaluronsyra i synovialmembranets matrix bidrar till den filtrerande effekten och hindrar stora molekyler från att komma in i ledrummet. Mängd och struktur hos hyaluronsyra i synovialmembranet bestämmer vad som släpps igenom (Todhunter, 1996).

Exogena beredningar av hyaluronsyra används vid intraartikulära behandlingar. Sådana preparat har även effekt på mjukdelsvävnad genom att minska fibros och

produktion av granulationsvävnad. De kan därför användas även för behandling av sår och vid senskador (Howard och McIlwraith, 1996).

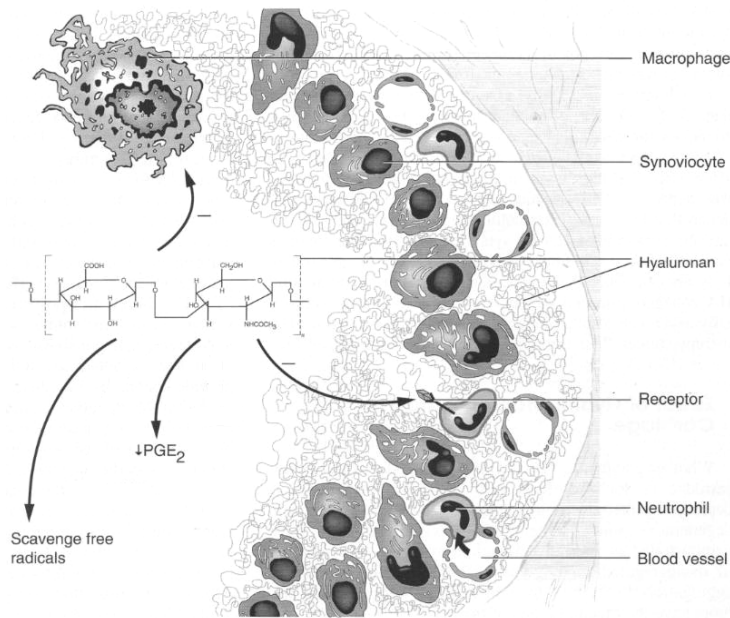
Intraartikulär behandling med hyaluronsyra

Då man lyckats ”släcka” en hälta med intraartikulär bedövning kan intraartikulär behandling bli aktuell. Fördelen är att man då riktar behandlingen till det drabbade området, istället för att behöva behandla systemiskt då hela djuret påverkas. Det finns dock en viss risk för komplikationer (Moyer, 1993). Att föra in något utifrån in i en led medför alltid en risk för kontaminering av synovian med bakterier. Det kan även bli en inflammatorisk reaktion vid själva perforationen. En del hästar är mycket känsliga för nålstick och kan vara svåra att hantera vid intraartikulär behandling. I mycket sällsynta fall har det, om en häst varit svårhanterad, hänt att nålen gått av då den varit inne i leden. För att minska riskerna vid intraartikulära injektioner är det viktigt att tillämpa strikt aseptik, god hantering av hästen och lämplig och väl anpassad utrustning.

Verkningsmekanism

Då en led ska behandlas är det viktigt att ha en så fullständig diagnos som möjligt. Studier som avhandlar behandling med hyaluronsyra har ofta som kriterium att de hästar som tas med i studien har en hälta som släcks vid intraartikulär anestesi. Man vet dock i sådana fall inte om det är en kapsulit eller synovit, eller om ledbrusket är skadat. Därför kan man inte utesluta att hyaluronsyra har bättre effekt vid vissa tillstånd än andra. Man har försökt hitta ett sätt att utvärdera om behandlingen har effekt genom att använda sig av ”force plates”. Dessa plattor mäter tryck och man kan därigenom se hur mycket belastning hästen lägger på benet vid rörelse i trav. Den generella slutsatsen är att en halt häst ökar belastningen på benet efter behandling med hyaluronsyra, och att de kliniska symtomen minskar (Auer et al, 1980). Vetenskapliga studier visar på varierande grad av förbättring efter intraartikulär behandling med hyaluronsyra, jämfört med en obehandlad kontrollgrupp (Howard och McIlwraith, 1996).

I figur 5 sammanfattas hyaluronsyrans effekter i en led. Hyaluronsyra har visat sig ha antiinflammatoriska egenskaper vid *in vitro* studier. Det är troligen till största delen dessa egenskaper som ger ett positivt behandlingsresultat. Inflammationen minskar genom att hyaluronsyran hämmar kemotaxis av granulocyter och makrofager, och minskar deras kapacitet att fagocytera. Migrering av lymfocyter hämmas. Resultatet är minskade nivåer av skadliga kemiska ämnen i leden (Howard och McIlwraith, 1996). Fria syreradikaler, som t ex NO, kan förstöra hyaluronsyra-molekyler. Hyaluronsyra ”skyddar sin egen existens” genom att eliminera syreradikaler. Andra verkningsmekanismer är hämning av produktionen av PGE₂. Vid läkning av en skada sker normalt tillväxt av bindväv (fibros). Behandling med hyaluronsyra kan minska fibros.



Figur 5: Hyaluronsyrans antiinflammatoriska egenskaper i en inflammerad led; som exogen molekyl och i synovialmembran. Hyaluronsyra hämmar bl.a. prostaglandiner, makrofager och neutrofiler och kan förstöra fria syreradikaler. Från Howard och McIlwraith, 1996.

Halveringstid

Även om många studier gjorts på exogen hyaluronsyras verkningsmekanism i leder, finns fortfarande många oklarheter om vad som händer med hyaluronsyra efter injektion i en led. Man har gjort studier där man tittat på halveringstiden av intraartikulärt injicerad hyaluronsyra. En studie utfördes på kaniner (Brown et al 1991). Halveringstiden varierade med molekylvikten på den injicerade hyaluronsyran. Substansen med minst $6,0 \times 10^6$ Dalton i molekylvikt hade en genomsnittlig halveringstid på 13,2 timmar. En annan substans med lägre molekylvikt ($0,09 \times 10^6$ Dalton) hade en signifikant kortare halveringstid, i medeltal 10,2 timmar. I en senare studie (Lindholm et al 1996) fick man andra resultat. Där jämförde man två olika preparat med molekylvikterna $0,6 \times 10^6$ Dalton och $2,5 \times 10^6$ Dalton. Sex hästar ingick i studien. Det fanns ingen signifikant skillnad i eliminationshastighet hos de två olika preparaten.

Det verkar som att det mesta av exogen hyaluronsyra, oberoende av molekylvikt, är eliminerad ur synovia på 48 timmar (Frisbie, 2006). Man har sett att halveringstiden i leder med traumatisk artrit är kortare än i friska leder (Ghosh och Guidolin, 2002). Även om den exogena hyaluronsyran snabbt försvinner ur leden, kan effekten av den finnas kvar en längre tid. Detta tror man beror på att den tillförda hyaluronsyran lägger sig kring synoviocyterna i synovialmembranet och kan verka där.

Molekylvikt och effekt på olika ledstrukturer

Man har länge diskuterat molekylviktens betydelse vid intraartikulär behandling med hyaluronsyra (Aviad och Houpt, 1994; Ghosh och Guidolin, 2004). En frågeställning har varit om exogent tillförd hyaluronsyra har någon effekt på den endogena hyaluronsyra-produktionen. Då *in vitro* studier har gjorts (Smith och Ghosh, 1987) har man kommit fram till att exogen hyaluronsyra med minst $0,5 \times 10^6$ Dalton kan stimulera endogen produktion. Produktionen är dosrelaterad. Frågan återstår om en ökning av mängden hyaluronsyra sker även *in vivo*, och om det beror på stimulerad endogen produktion, eller har någon annan förklaring (Howard och McIlwraith, 1996).

Det finns studier där man har tittat på vilken effekt exogen hyaluronsyra har på ledbrosk, och resultaten har varit både positiva och negativa. En studie (Tobetto, 1993) visade att hyaluronsyra utgör ett skydd, genom att hämma neutrofilernas nedbrytning av brosket. Den skadliga effekten av prostaglandiner och syreradikaler på ledbrosk förhindras delvis genom minskad frisättning av dessa. Den skyddande effekten ökar med hyaluronsyrans koncentration och molekylvikt. I en *in vitro* studie (Brandt 1976) undersöktes hyaluronsyras effekt på broskceller. Då hyaluronsyra tillsattes ett medium med fria proteoglykan-subenheter, kunde det bildas proteoglykan-aggregat. Man misstänker dock att exogen hyaluronsyra kan ha svårt att komma i kontakt med kondrocyter och ha en direkt påverkan på dem (Howard och McIlwraith, 1996). Man har också diskuterat hyaluronsyrans skyddande effekt vid kombinerad intraartikulär behandling med kortison. 1993 fann man i en svensk studie (Ronéus et al) att mängden proteoglykaner i synovian minskade vid kortisonbehandling i kombination med hyaluronsyra jämfört med enbart kortisoninjektion. Detta skulle antyda att den nedbrytning av ledbrosk kortisonbehandling medför, minskar vid kombination med hyaluronsyra. I en färsk studie där proteoglykansyntes *in vitro* undersöktes efter behandling med kortison och hyaluronsyra, visade däremot resultatet på att hyaluronsyra inte ökar produktionen av proteoglykaner i brosket (Doyle et al, 2005). Dessutom finns idag kortisonpreparat som inte har någon påvisbar skadlig effekt på ledbrosk.

Det har visats att hyaluronsyra även har en neurologiskt smärtstillande effekt (Balazs, 2003). Försök har gjorts på råttor, där tre olika hyaluronsyrapreparat jämförts (Gomis et al 2004). Man mätte nervimpulser (smärta) från en led där preparatet injicerades. Ett av preparaten hade olika effekt i normal respektive inflammerad led. Det preparat som hade högst molekylvikt hade den största effekten på impulser i leden. Det med lägst molekylvikt hade minst effekt. Slutsatsen var att molekylvikten har betydelse för effekten på smärta både i normala och inflammerade leder.

Aviad och Houpt (1994) har gjort en sammanställning av studier gjorda på hyaluronsyra. De är sammanfattningsvis kritiska till att en högre molekylvikt skulle ha en bättre effekt i leden. En av förklaringarna är att hyaluronsyran ändå depolymeriseras så snabbt då den kommer in i leden. De menar också att koncentrationen av hyaluronsyra skulle spela en större roll för synovians viskositet än molekylvikten. Ett annat försök att få klarhet i vilken roll molekylvikten hos hyaluronsyra spelar, har gjorts av Ghosh och Guidolin (2004). De påpekar även svårigheten att jämföra olika studier, eftersom de är utförda med olika kriterier, under olika förhållanden och på olika typer av djur.

Hyaluronsyrans egenskaper definieras som biokemisk, biofysisk och cellulär. De olika typerna av egenskaper påverkas olika mycket av molekylvikten på hyaluronsyra. Som exempel verkar en lägre molekylvikt ge en bättre cellulär effekt, och en högre molekylvikt ge en bättre biofysisk effekt genom att viskositeten blir högre. Slutsatsen som dras är att hyaluronsyrapreparat med en molekylvikt på $0,5 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6$ Dalton skulle kunna ge det bästa behandlingsresultatet.

Hyaluronsyrapreparat

De preparat som finns registrerade i Sverige innehåller hyaluronsyra i form av natriumhyaluronat. För alla preparat rekommenderas strikt aseptik vid intraartikulär injektion. Biverkningar i form av lindrig lokal svullnad som avtar inom några dagar finns registrerade för samtliga preparat.

Hylartil®

Finns som 10 mg/ml injektionsvätska. Molekylvikten anges vara mellan $3,0-6,9 \times 10^6$ Dalton. Indikationer förutom icke infektiösa ledinflammationer är seninflammationer. Medlet ges intraartikulärt respektive intratendinöst. I mindre och medelstora leder ges 2 ml, d v s 20 mg. Om hästen fortfarande är halt efter 2-4 veckor rekommenderas att man upprepar behandlingen. Preparatet framställs från tuppkammar och tillhandahålls av Pfizer ApS (Produktresumé FASS vet. 2006; produktinformation).

I en produktinformation om Hylartil® kan man läsa om en studie som gjordes 1997 (White). Intraartikulär injektion med Hylartil® jämfördes med placebo (NaCl), intravenös injektion med lågmolekylär hyaluronsyra och intraartikulär injektion med en lågmolekylär hyaluronsyraprodukt. De lågmolekylära hyaluronsyraprodukternas medelmolekylvikt var ca $0,3 \times 10^6$ Dalton. Intraartikulär injektion med högmolekylär hyaluronsyra (Hylartil®) visade sig ha den mest långvariga effekten på graden av hälta hos hästar med inducerad ledinflammation. Preparatet hade klinisk effekt i genomsnitt 4,5 dagar då man tittade på hästarna vid arbete i trav på rullmatta.

Hyonate®

Finns som 10 mg/ml injektionslösning och kan ges både intraartikulärt och intravenöst. Efter intravenös injektion transporteras, enligt tillverkarens uppgift, en viss del av natriumhyaluronatet till leden utan att sönderdelas. Molekylvikten är $0,12-0,6 \times 10^6$ Dalton. Doseringen är 20 mg i mindre till medelstor led. Halveringstiden i leden är 9-13 timmar. Om resultatet av behandlingen inte är tillfredställande kan den upprepas max 3 gånger med 1-2 veckors mellanrum. Preparatet framställs från bakterier och produceras av Bayer HealthCare AG (Produktresumé, FASS vet. 2006; produktinformation).

Hy-50®

Finns som 17 mg/ml injektionsvätska. Molekylvikten är inte angiven. Enda indikation är intraartikulär behandling av hälta orsakad av icke-infektiös synovit. Vid test på får och kaniner försvinner medlet ur leden inom 4-5 dagar. I mindre och medelstora leder ges 1,5 ml, d v s ca 25 mg. Preparatet framställs från bakterier och produceras av Vet Medic Oy (Produktresumé, FASS vet. 2006).

PILOTSTUDIE

Syfte

Det har länge funnits teorier om att en högre molekylvikt på hyaluronsyra skulle ha en bättre effekt än en lägre molekylvikt vid intraartikulär behandling. Därför har intresse funnits att testa en ny, högmolekylär exogen beredning av hyaluronsyra. Det finns ännu inte några publicerade resultat om preparat med molekylvikt högre än ca 6×10^6 Dalton. Ett nytt hyaluronsyrapreparat, som här kallas Hyaluronsyra X, med en molekylvikt på $15-17 \times 10^6$ Dalton, är framställt. Viloviskositeten är högre än hos de preparat som finns på marknaden idag. Det är framställt för att undersöka effekterna av hyaluronsyra med mycket högre molekylvikt än vad som tidigare undersökts. Målet med det nya preparatet är att det ska ha en längre duration i leden, med en halveringstid på ca två veckor. Man skulle därigenom kunna minska behovet av upprepade behandlingar vid ledinflammationer. En pilotstudie utfördes där man undersökte mängden hyaluronsyra i synovia efter intraartikulär injektion av Hyaluronsyra X. Pilotstudien skulle klarlägga om medlet har några kliniska biverkningar, och om det var kliniskt praktiskt att använda. Resultaten från denna pilotstudie ska ligga till grund för studier av effekter vid behandling av kliniska fall med denna typ av preparat.

Material och metod

Studien utfördes vintern 2005/2006 på Institutionen för Kliniska Vetenskaper, kirurgi och medicin, Ultuna, SLU. Fem hästar i åldern 7 till 20 år (i medeltal 12 år) ingick i studien. Både ston och vallackar, halvblod och varmbloodstravare var representerade. Alla hästar avlivades efter studiens slut.

Eftersom kotleden ofta är drabbad av ledinflammation valdes denna led som försöksled. Kotleden på ett annat ben valdes som kontroll. 2 ml av Hyaluronsyra X med en koncentration på 2 % injicerades i försöksleden. Synoviaprov togs från försöksleden vid fem tillfällen: ett nollprov före injektion med Hyaluronsyra X, sedan 24 timmar, 1 vecka, 2 veckor samt 3 veckor efter injektionstillfället. Från kontrollerleden togs synoviaprov före och 3 veckor efter injektion i försöksleden. I samband med provtagningarna gjordes en klinisk undersökning inklusive kontroll av rörelse i trav, avseende symtom på biverkningar. Biverkning karaktäriseras som svullnad och/eller värme kring leden, ökad ledfyllnad och/eller hälla, d.v.s. tecken på ledinflammation. Mellan provtagningarna kontrollerades hästarnas allmäntillstånd och rektaltemperatur dagligen. Hästarna vistades dagligen ensamma i rasthage.

För mätning av hyaluronsyra i synovia användes den s.k. Karbacol-metoden. Svavelsyra sätts till synoviaprovet, så att uronsyra bildas. Karbacol tillsätts och därefter mäts våglängden i en accelerator. Utifrån måttet på våglängden kan mängden hyaluronsyra beräknas. Synoviaprovet analyserades även avseende TNF- α , en inflammationsmarkör. Analysen utfördes vid Patologen, SLU, och resultaten redovisas i ett annat EEF-arbete.

Resultat

Försökshästarna hade vid undersökning före injektion ingen initialhälta som kunde härledas till kotleden, och visade max ½ grad hälta efter böjprov av det aktuella benet. Kotlederna som ingick i försöket röntgades, och alla hästar bedömdes vara inom normala gränser eller med mycket lindriga förändringar. Samtliga försöksleder var utan anmärkning vid palpation och bedömning av ledfullnad, värme och svullnad. I tabell 1 redovisas de förändringar i kliniska parametrar som kunde iakttas vid de kliniska undersökningarna efter injektion med Hyaluronsyra X. Symtomen bedömdes i graderna lindrig (+), måttlig (++) eller kraftig (+++). Hälta graderades i graderna 0-5, där markering motsvarar mindre än 0,5 grad.

Tabell 1: Biverkningar efter injektion med Hyaluronsyra X

Häst	Förändringar i eller kring försöksleden efter injektion			
	24 timmar	1 vecka	2 veckor	3 veckor
A	Galla ++	-	-	-
B	Galla ++ Svullnad o värme + Böjprovsreaktion 1 gr	Galla + Svullnad o värme +	-	-
C	Galla +	Galla +	Galla +	Galla +
D	Galla ++ Svullnad o värme + Initialhälta ½ gr	-	Galla ++ Svullnad + Värme ++	Galla ++ Svullnad + Värme ++
E	Galla ++ Svullnad o värme +	Galla +	Galla + Värme ++	Galla + Böjprovsmark

Alla hästar hade under hela studiens gång gott allmäntillstånd och normal rektaltemperatur.

Vid bedömning av symtom på biverkning, uppvisade alla fem hästar någon typ av symtom 24 timmar efter injektion med Hyaluronsyra X. Alla hade ökad ledfullnad. Efter en vecka kvarstod symtom hos tre av dem. Tre av fem hästar uppvisade symtom av olika grad även efter 2 och 3 veckor.

Vid injektion av Hyaluronsyra X i kotled på häst D och E noterades att preparatet var mer opakt än vid de andra tillfällena. Senare framkom att det kunde ha förekommit kontamination med etanol i preparatet vid framställningen. Häst D uppvisade efter 24 timmar den kraftigaste reaktionen kring leden. Det är osäkert om detta berodde på den eventuella kontaminationen eller på preparatet i sig.

Preparatets höga viskositet gjorde att en kanyl med 1,2 mm diameter var nödvändig vid injektion. Då kunde injektionen utföras tillräckligt snabbt och smidigt.

Synoviaproven analyserades med avseende på koncentrationen av hyaluronsyra (tabell 2). De värden på koncentrationen hyaluronsyra som överstiger värdet före injektion, är markerade med fet stil.

Tabell 2: Koncentration av hyaluronsyra i synovia vid injektion med Hyaluronsyra X. De värden som överstiger värdet före injektion är markerade med fet stil. F=försöksled, K=kontrollad.

Häst	A		B		C		D		E	
	F	K	F	K	F	K	F	K	F	K
Före	1,25	1,18	1,35	1,48	1,6	1,51	1,34	1,41	0,96	1,11
Efter 24 timmar	1,66		1,96		1,87		1,63		1,32	
1 vecka	1,44		1,73		1,36		1,41		1,08	
2 veckor	1,09				1,08		1,13		0,88	
3 veckor	1,11		0,9	1,06	1,23	1,37	1,22	1,5	0,99	0,91

Koncentrationen av hyaluronsyra före injektion varierade både mellan individer och mellan försöks- och kontrollad hos samma individ. Synovian i försöksleden hade en ökad koncentration av hyaluronsyra hos alla fem hästar 24 timmar efter injektion med Hyaluronsyra X. En vecka efter injektion hade 4 av 5 synoviaprov ökad koncentration jämfört med före injektion. Efter 2 veckor hade koncentrationen minskat under det ursprungliga värdet hos alla hästar. Vid sista provtagningen låg värdet över det ursprungliga hos en av hästarna, men dock i närheten av ursprungsvärdet. Fyra av 5 värden hade alltså sjunkit under ursprungsnivån. Två av provresultaten saknas p.g.a. tekniska fel vid analys.

Inga statistiska beräkningar har gjorts, p.g.a. att antalet hästar i denna studie var för få.

DISKUSSION

Det finns stora mängder information och kunskap om ledinflammationer och behandlingsprinciper vid sådana. Eftersom olika studier visar på olika resultat av behandling kvarstår frågan hur effektivt intraartikulär behandling med hyaluronsyra egentligen är, och även vilken betydelse molekylvikten har. Något som skulle kunna påverka resultatet i olika studier är att de utförts på leder i olika tillstånd. Flera studier visar att en normal led och dess omgivande strukturer kan reagera på exogen hyaluronsyra annorlunda än en inflammerad led med en eventuell broskskada. Man måste också väga in de effekter som injektioner och provtagningar har på leden. Man har t.ex. kommit fram till att upprepade injektioner med 0,9 % NaCl har bättre effekt vid traumatisk artrit än enbart vila (Gaustad et al, 1999).

Fem hästar ingick i pilotstudien av Hyaluronsyra X. En kliniskt frisk kotled på varje häst injicerades med preparatet. Vid efterföljande undersökningar fann man varierande grad av förändringar av kliniska parametrar. Synoviaprov togs från försöks- och kontrollerad för analys av hyaluronsyra-koncentration. Koncentrationen hyaluronsyra i försöksleden ökade under en tid efter injektionen. Hästarnas allmäntillstånd var opåverkat under hela studien.

Ofta använder man sig av kanyler med 0,8-1,0 mm i diameter vid intraartikulär injektion. Hyaluronsyra X har en mycket hög viskositet, och därför behövdes en grövre kanyl. Vissa leder som t ex hovleden har en smal ledspringa, och då är det önskvärt att kunna använda kanyler med mindre diameter. Det bör vara möjligt att gå ner från 2 % i koncentration till 1 % och därmed få en mer tunnflytande produkt. Vilken duration och eventuella biverkningar ett sådant preparat skulle ha, måste i så fall utvärderas.

Koncentrationen hyaluronsyra i synovia ökade efter intraartikulär injektion med Hyaluronsyra X. Det går inte helt att jämföra koncentrationen av hyaluronsyra mellan försöks- och kontrollerad eftersom prov från kontrollerad tagits vid färre tillfällen än från försöksleden. Hyaluronsyra-koncentrationen i serum varierar hos en individ under ett dygn (Popot et al, 2004). Det är även möjligt att koncentrationen i synovia varierar över dygnet. För att kunna bortse från dygnsvariationen, skulle det vara värdefullt att kunna jämföra försöksleden med kontrollerad. Provtagning av synovia innebär att leden penetreras och en inflammatorisk reaktion kan uppstå, varför ambitionen i denna studie var att minimera antal stick i lederna. Provtagningen i sig kan också ha effekt på synovians sammansättning. I kommande försök bör synoviaprov tas lika många gånger från kontroll- som från försöksled. Då kan slutsatser lättare dras om hur koncentrationen av hyaluronsyra förändras efter injektion av Hyaluronsyra X.

En vecka efter injektion med Hyaluronsyra X hade fyra av fem hästar ökad koncentration av hyaluronsyra i försöksleden jämfört med före injektion. Det skulle kunna tyda på en längre duration i leden än för registrerade preparat. Efter två veckor hade endast en häst ökad koncentration. Vid den sista provtagningen hade alla koncentrationsnivåer utom en sjunkit under ursprungsnivån. Vad denna sänkning är orsakad av är oklart, men skulle kunna bero på en inflammatorisk process i leden.

En av hyaluronsyrans effekter i leden är att stimulera produktion av endogen hyaluronsyra. Man vet därför inte från denna pilotstudie hur stor del av den exogena hyaluronsyran som fortfarande fanns kvar i leden. Den tillförda hyaluronsyran kan märkas med ett radioaktivt ämne, för att sedan kunna se vilken del av hyaluronsyran i synovia som har exogent ursprung (Lindholm et al, 1996). Det går inte att utifrån denna pilotstudie med god precision säga hur lång halveringstid Hyaluronsyra X har i leden. För att mer exakt se vilken eliminationshastighet medlet har i kotleder, hade synoviaprover kunnat tas mer frekvent. Detta skulle dock innebära fler nålstick in i leden och därmed ökad stress för försökshästen och eventuellt även ökad inflammation i leden.

Alla hästar som ingick i studien hade vid ett eller flera undersökningstillfällen symtom på biverkningar. Dessa symtom kan bedömas ha olika betydelse för hästens välbefinnande. T.ex. visade häst D initialhätta 24 timmar efter injektion, och detta är knappast acceptabelt vid klinisk användning av preparatet. Däremot kan en övergående, lindrigt ökad ledfylld accepteras. Den typen av biverkningar finns också beskrivna för de hyaluronsyrapreparat som används kliniskt idag. Det är möjligt att en lägre dosering av Hyaluronsyra X skulle kunna minska frekvensen och graden av biverkningar.

Det går inte att utesluta att hättan hos häst D var orsakad av fel vid framställning av preparatet. En noggrann genomgång bör göras av framställningsmetoden, och säkerställa att kontamination inte kan ske.

Vid bedömning av biverkningar måste hänsyn tas till att graderingen är ett subjektivt mått. På häst D och E mättes yttemperatur och omfång kring kotleden m.h.a. måttband och värmeelektroder. Då kunde ökad temperatur och svullnad bekräftas objektivt. En annan analys som utfördes var mätning av TNF- α i synovia som en indikation på inflammation. Där såg man att endast en av hästarna, C, hade en ökning efter injektion med Hyaluronsyra X (redovisas fullständigt i ett annat EEF-arbete). Häst C hade dock vid klinisk undersökning enbart en lindrig galla i försöksleden, och visade inga andra tydliga tecken på ledinflammation. Detta tyder på en ofullständig korrelation mellan kliniska parametrar och mätning av TNF- α , men förklaringen till detta är ännu okänd.

Utifrån den produktinformation som finns att tillgå, verkar de hyaluronsyra-preparat som finns registrerade idag generellt ha liknande effekt på att minska hätta vid ledinflammation. Det är svårt att helt jämföra de olika preparatens kliniska effekt, eftersom det inte finns samma typ av uppgifter om dem. Som exempel finns halveringstid bara angivet för ett av preparaten. Det är därför också svårt att jämföra dem med Hyaluronsyra X. Ett preparat med samma höga molekylvikt som Hyaluronsyra X, som har en begränsad mängd biverkningar och är lätt att hantera, behöver framställas. Först då kan man i vetenskapliga försök jämföra de olika preparaten under samma förutsättningar och med samma kriterier.

Forskning kring intraartikulär behandling av ledinflammationer med hyaluronsyra går framåt varje år. Kunskaperna om hyaluronsyrans verkningsmekanism ökar och gör det möjligt att förbättra behandlingsstrategierna. Dagens forskning

handlar dock inte bara om hyaluronsyra, utan är även inriktad på andra alternativ, som genterapi och "joint remodeling". Enligt ledande forskare, är de nya metoderna de som i framtiden kommer att ge störst framsteg i behandling av ledinflammationer (McIlwraith, 2006).

Många kliniskt arbetande veterinärer har en positiv erfarenhet av intraartikulär behandling med hyaluronsyra. Medlet har också i vetenskapliga studier visats ha flera positiva egenskaper vid behandling av ledinflammationer. Detta gör att fortsatt behandling är väl befogad. Osäkerhet råder om hur det mest effektiva hyaluronsyrapreparatet ser ut. Det saknas studier på ett liknande preparat som Hyaluronsyra X. En längre duration i leden än vad dagens preparat har, skulle kunna vara möjlig. Den pilotstudie som genomförts är ett första steg i att utvärdera den kliniska effekten ett sådant preparat skulle kunna ha.



SAMMANFATTNING

Ledinflammation är en vanlig orsak till hältproblem på häst. Ett behandlingsalternativ vid ledinflammation är intraartikulär behandling med hyaluronsyra. Allteftersom kunskaperna har ökat om patofysiologin vid ledinflammationer och hyaluronsyrans funktioner, ökar förståelsen för hyaluronsyrans verkningsmekanism i leder. Förutom att påverka viskositeten i synovia, har hyaluronsyra bl.a. antiinflammatoriska och smärtlindrande egenskaper. Mycket forskning och många studier har gjorts på exogen hyaluronsyra. Oklarhet råder bl.a. om vilken betydelse hyaluronsyrans molekylvikt har. Vissa forskningsresultat tyder på att hyaluronsyrapreparat med en hög molekylvikt har en längre duration i leden än lågmolekylära preparat. Inga studier har tidigare gjorts på hyaluronsyra med molekylvikt $>10 \times 10^6$ Da.

Ett nytt preparat med mycket högre molekylvikt än de preparat som finns på marknaden idag, har framställts. Idag krävs ofta upprepade intraartikulära behandlingar vid ledinflammation. Syftet med det nya preparatet, som här kallas Hyaluronsyra X, är att medlet ska ha en längre duration i leden jämfört med nuvarande preparat. Därigenom ska färre behandlingar krävas vid ledinflammationer. En pilotstudie genomfördes på Hyaluronsyra X. Koncentrationen av hyaluronsyra i synovia ökade en tid efter injektion i försöksleder. Preparatet visade sig ha en relativt hög frekvens av lindriga biverkningar. Framställning och administrering av medlet behöver förändras med avseende på praktisk hanterbarhet och biverkningar. Först då kan medlets kliniska effekt utvärderas.

ACKNOWLEDGEMENTS

Karin Roethlisberger-Holm – för stor hjälp och engagemang

Patrik Dofs – för teknisk och moralisk support

Mikael Erixon och Björn Sandgren – för tillhandahållande av produktinformation

Jim Åkerblom – för tillhandahållande av analyser, mätvärden och information

Personalen på OG – som tagit god hand om hästarna i pilotstudien

LITTERATURFÖRTECKNING

- Asheim, A. Lindblad, G. 1976. Intra-articular treatment of arthritis in race-horses with sodium hyaluronate. *Acta Vet Scand*; 17(4):379-94 (abstract).
- Aviad, A.D. Houpt, J.B. 1994. The molecular weight of therapeutic hyaluronan (sodium hyaluronate): how significant is it? *J Rheumatol*; 21:297-301.
- Auer, J.A. Fackelman, G.E. Gingerich, D.A. Fetter, A.W. 1980. Effect of hyaluronic acid in naturally occurring and experimentally induced osteoarthritis. *Am J Vet Res*; 41(4):568-74 (abstract).
- Balazs, E.A. 2003. Analgesic effect of elastoviscous hyaluronan solutions and the treatment of arthritic pain. *Cells Tissues Organs*; 174(1-2):49-62 (review).
- Barr, A.R.S. Duance, V.C. Wotton, S.F. Waterman, A.E. 1994. Influence of intra-articular sodium hyaluronate and polysulphated glycosaminoglycans on the biochemical composition of equine articular surface repair tissue. *Eq Vet J*; 26(1):40-42.
- Brandt, K.D. Pamoski, M.J. Perricone, E. 1976. Aggregation of cartilage proteoglycans. II Evidence for the presence of a hyaluronate-binding region on proteoglycans from osteoarthritic cartilage. *Arthritis Rheum*; 19(6):1308-14 (abstract).
- Brown, T.J. Laurent, U.B. Fraser J.R. 1991. Turnover of hyaluronan in synovial joints: elimination of labelled hyaluronan from the knee joint of the rabbit. *Exp Physiol*; 76(1):125-34.
- Butler, J. Rydell, N.W. Balazs, E.A. 1970. Hyaluronic acid in synovial fluid. VI. Effect of intra-articular injection of hyaluronic acid on the clinical symptoms of arthritis in track horses. *Acta Vet Scand*; 11(2):139-55 (abstract).
- Doyle, A.J. Stewart, A.A. Constable, P.D. Eurell, J.A.C. Freeman, D.E. Griffon, D.J. 2005. Effects of sodium hyaluronate and methylprednisolone acetate on proteoglycan synthesis in equine articular cartilage explants. *Am J Vet Res*; 66(1):48-53.
- Dyce, K.M. Sack, W.O. Wensing, C.J.G. 1996. Some basic facts and concepts. In: *Textbook of veterinary anatomy*. 2nd ed, W.B. Saunders company, Philadelphia, USA, pp 15-21.
- FASS vet. 2006. Läkemedelsindustriföreningen, Stockholm.
- Frisbie, D.D. 2006a. Synovial joint biology and pathobiology. In: *Equine surgery*. 3rd ed. Auer J.A. Stick J.A. Saunders, Elsevier Inc. Missouri, USA, pp 1036-55.
- Frisbie, D.D. 2006b. Principles of treatment of joint disease. In: *Equine surgery*. 3rd ed. Auer, J.A. Stick, J.A. Saunders, Elsevier Inc, Missouri, USA, pp 1055-73.
- Gaustad, G. Dolvik, N.I. Larsen S. 1999. Comparison of intra-articular injection of 2 ml of 0,9 % NaCl solution with rest alone for treatment of horses with traumatic arthritis. *Am J Vet Res*; 60(9):1117-21 (abstract).
- Ghosh, P. Guidolin, D. 2002. Potential mechanism of action of intra-articular hyaluronan therapy in osteoarthritis: are the effects molecular weight dependent? *Sem Arthritis Rheum*; 32(1):10-37.
- Gomis, A. Pawlak, M. Balazs, E.A. Schmidt, R.F. Belmonte, C. 2004. Effects of different molecular weight elastoviscous hyaluronan solutions on articular nociceptive afferents. *Arthritis Rheum*; 50(1):314-26.

- Grant, B.D. 1996. Rest, exercise, and physical therapy programs. In: *Joint disease in the horse*. McIlwraith, C.W. Trotter, G.W. W.B. Saunders company, Philadelphia, USA, pp 217-223.
- Howard, R.D. McIlwraith, C.W. 1996. Hyaluronan and its use in the treatment of equine joint disease. In: *Joint disease in the horse*. McIlwraith, C.W. Trotter, G.W. W.B. Saunders company, Philadelphia, USA, pp 257-269.
- Iwanaga, T. Shikichi, M. Kitamura, H. Yanase, H. Nozawa-Inoue, K. 2000. Morphology and functional roles of synoviocytes in the joint. *Arch Histol Cytol*; 63(1):17-31, review (abstract).
- Kawcak, C.E. Frisbie, D.D. McIlwraith, C.W. Trotter, G.W. Powers E.P. 1995. Sodium hyaluronate – studies on intravenous administration. Proceedings International Equine Orthopaedic Conference “The Carpus”; Oct Skara, Sweden.
- Lindholm, A. Ronéus, B. Lindblad, G. Jones, B. 1996. Hyaluronan turnover in the synovial fluid in metacarpophalangeal – and middle carpal joints in standardbred horses. *Acta Vet Scand*; 37:147-151.
- May, S.A. Lees, P. 1996. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. In: *Joint disease in the horse*. McIlwraith, C.W. Trotter, G.W. W.B. Saunders company, Philadelphia, USA, pp 223-237.
- McIlwraith, C.W. 2002a. Diseases of joints, tendons, ligaments, and related structures. In: *Adams' lameness in horses*. 5th ed. Stashak, T.S. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, USA, pp 491-494.
- McIlwraith, C.W. 2002b. Diseases of joints, tendons, ligaments, and related structures. In: *Adams' lameness in horses*. 5th ed. Stashak, T.S. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, USA, pp 533-543
- McIlwraith C.W. 2006. How has 20 years of osteoarthritis research changed clinical practice? Proceedings ECVS Annual scientific meeting, Sevilla Spain.
- Moyer, W. 1993. A guide to equine joint injection. Veterinary learning systems Co. Inc.
- Popot, M.A. Bonnaire, Y. Guéchet, J. Toutain, P.L. 2004. Hyaluronan in horses: physiological production rate, plasma and synovial fluid concentrations in control conditions and following sodium hyaluronate administration. *Eq Vet J*; 36(6):482-487.
- Produktinformationer: Orion, Animal Health, Orion corporation. Sollentuna; Bayer Healthcare AB, Animal Health. Göteborg.
- Pharmacia & Upjohn Animal Health AB. 1999. Hylartil vet. Behandling av artrit och tendinit hos häst. Aktuella trycksaker AB, Malmö, s 8.
- Ronéus, B. Lindblad, A. Lindholm, A. Jones, B. 1993. Effects of intraarticular corticosteroid and sodium hyaluronate injections on synovial fluid production and synovial fluid content of sodium hyaluronate and proteoglycans in normal equine joints. *J Vet Med A*; 40:10-16.
- Rose, R.J. 1979. The intra-articular use of sodium hyaluronate for the treatment of osteoarthritis in the horse. *N Z Vet J*; 27(1-2):5-8 (abstract).
- Saari, H. Kontinen, Y.T. Tulamo, R-M. Antti-Poika, I. Honkanen, V. 1989. Concentration and degree of polymerization of hyaluronate in equine synovial fluid. *Am J Vet Res*; 50(12):2060-3.
- Smith, M.M. Ghosh, P. 1987. The synthesis of hyaluronic acid by human synovial fibroblasts is influenced by the nature of the hyaluronate in the extracellular environment. *Rheumatol Int* 7:113-122 (abstract).

- Stashak, T.S. 2002. Examination for lameness. In: *Adams' lameness in horses*. 5th ed. Stashak, T.S. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, USA, p 173.
- Tobetto, K. Nakai, K. Akatsuka, M. Yasui, T. Ando, T. Hirano, S. 1993. Inhibitory effects of hyaluronan on neutrophil-mediated cartilage degradation. *Connect Tissue Res*; 29(3):181-90 (abstract).
- Todhunter, R.J. 1996 Anatomy and physiology of synovial joints. In: *Joint disease in the horse*. McIlwraith, C.W. Trotter, G.W. W.B. Saunders company, Philadelphia, USA, pp 1-28.
- Trotter, G.W. 1996. Intra-articular corticosteroids. In: *Joint disease in the horse*. McIlwraith, C.W. Trotter, G.W. W.B. Saunders company, Philadelphia, USA, pp 237-256.
- Tulamo, R-M. Heiskanen, T. Salonen, M. 1994. Concentration and molecular weight distribution of hyaluronate in synovial fluid from clinically normal horses and horses with diseased joints. *Am J Vet Res*; 55(5):710-15.
- Von Rechenberg, B. McIlwraith, C.W. Akens, M.K. Frisbie, D.D Leutenegger, C. Auer, J.A. 2000. Spontaneous production of nitric oxide (NO), prostaglandin (PGE₂) and neutral metalloproteinases (NMPs) in media of explant cultures of equine synovial membrane and articular cartilage from normal and osteoarthritic joints. *Equine Vet J*; 32(2):140-50 (abstract).
- White, G.W. 1997. The efficacy of various sodium hyaluronate preparations with respect to molecular weight and route of administration in an induced equine carpal. *J Eq Vet Sci*; (pending publication).