



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap

Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsovetenskap

Oralt administrerad hyaluronan - påverkan på hästars ledhälsa

Tina Hansen

*Uppsala
2018*

*Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen
Delnummer i serien: 2018:31*

Oralt administrerad hyaluronan – påverkan på hästars ledhälsa

Orally Administered Hyaluronan – Impact on Joint Health in Horses

Tina Hansen

Handledare: *Eva Tydén, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Biträdande handledare: *Maria Löfgren, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Examinator: *Maria Löfgren, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2018

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2018:31

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

Nyckelord: hyaluronan, häst, ledsjukdom, fodertillskott

Key words: hyaluronan, horse, joint disease, feed supplements

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning	3
Material och metoder	3
Litteraturoversikt	3
Leders anatomi och fysiologi	3
<i>Synoviala leder</i>	4
Traumatisk artrit	5
Hyaluronan	6
Behandling med Hyaluronan	6
<i>Intraartikulär administration</i>	7
<i>Intravenös administration</i>	8
Farmakokinetik Hyaluronan	8
Hyaluronan som fodertillskott	10
Diskussion	11
Litteraturförteckning	15

SAMMANFATTNING

Hälta är ett vanligt förekommande problem hos våra svenska sport- och ridhästar och två tredjedelar av alla hältor uppges vara orsakade av ledsjukdom. Behandling av traumatisk artrit syftar till att dämpa inflammation och minska smärta samt att hämma nedbrytning och stimulera nybildning av ledbrosk. Ett läkemedel som används vid behandling av traumatisk artrit är hyaluronan. Hyaluronan är en glukosaminoglykan som förekommer naturligt både i ledbrosk och ledvätska. Läkemedel som innehåller hyaluronan finns registrerade både för intraartikulär och intravenös administrering. Verkningsmekanismen för hyaluronan är inte helt klarlagd men studier *in vitro* tyder på en antiinflammatorisk samt broskskyddande effekt och i kliniska studier har en sjukdomsmodifierande effekt påvisats. På senare tid har intresset för oralt administrerad hyaluronan ökat men det finns i dagsläget inga läkemedel godkända för oral administration för veterinärt bruk. Hyaluronan förekommer däremot som fodertillskott och används av många hästägare i syfte att förbättra hästarnas ledhälsa. Den här litteraturstudien syftar till att utreda huruvida oralt administrerad hyaluronan kan förbättra hästars ledhälsa genom att antingen bota eller förebygga traumatisk artrit.

För att oralt administrerad hyaluronan ska kunna utöva en positiv effekt på lederna krävs att substansen kan absorberas i tarmen och ta sig till den systemiska cirkulationen. Det har enbart utförts ett fåtal kinetikstudier som studerar oralt administrerad hyaluronan och inte en enda har studerat kinetik hos häst. I de studier som genomförts råder det varierande åsikter huruvida hyaluronan kan absorberas i tarmen. En studie gjord på råttor tyder på ingen eller minimal absorption av hyaluronan och annan studie, som också är gjord på råttor, visar på uppemot 90% absorption efter oral administration. Oavsett om en hög grad av hyaluronan faktiskt kan absorberas i tarmen uppges det att en stor andel av substansen metaboliseras i levern innan den når den systemiska cirkulationen. Biotillgängligheten är beräknad till 16% i en studie på råttor och det är därför osäkert om substansen når lederna i tillräckligt höga koncentrationer för att utöva någon effekt. Det finns en möjlighet att låga koncentrationer av hyaluronan som befinner sig i den systemiska cirkulationen kan verka för god ledhälsa hos häst men i dagsläget finns det inte tillräckligt med vetenskapliga bevis för det här. Det finns ett fåtal studier som utvärderar effekten av oralt administrerad hyaluronan på häst *in vivo*. I två studier har behandling med oral hyaluronan minskat synovial effusion (galla) hos hästar med osteokondros. I en studie förekom det paradoxalt nog tendens till ökad koncentration av prostaglandin E2 och kväveoxid som visats bidra till nedbrytning av ledbrosk. Det råder alltså oklarheter både i huruvida oralt administrerad hyaluronan kan tas upp i tarmen och huruvida substansen har någon positiv effekt på lederna när den förekommer i den systemiska cirkulationen. Det är inte uteslutet att oralt administrerad hyaluronan kan förbättra hästars ledhälsa men i dagsläget finns det inte tillräckligt med vetenskapliga bevis som stödjer den hypotesen.

SUMMARY

Lameness is a common case of illness for Swedish sport horses and joint disease is reported to cause two thirds of these cases. Several different pharmaceuticals are available in order to treat joint disease. One substance that is commonly used is hyaluronan. Hyaluronan is naturally occurring in both articular cartilage and synovial fluid. Pharmaceuticals containing hyaluronan is available for both intravenous and intraarticular administration. Treatment of traumatic arthritis strives to moderate inflammation and reduce pain as well as inhibit degradation and promote synthesis of articular cartilage. The mechanism through which hyaluronan acts is not completely understood but studies *in vitro* indicates an anti-inflammatory as well as chondroprotective action and clinical trials demonstrate a disease-modifying effect. In recent times hyaluronan administered through the oral route has come of great interest. There are no approved pharmaceuticals for oral administration but hyaluronan is available as a feed supplement and is used by horse owners in order to improve joint health. This essay strives to investigate if orally administered hyaluronan could improve joint health by preventing or treating traumatic arthritis in horses.

In order to affect the joints, orally administered hyaluronan must be absorbed from the gastrointestinal tract and reach the systemic circulation. There are only a few conducted studies that investigate the kinetics of hyaluronan after oral administration, none of which is performed on horses. The different studies present varying results regarding the absorption from the gastrointestinal tract. One study claims that only a negligible amount of hyaluronan is absorbed after oral administration to rats and another study on the other hand states that approximately 90% of the administered dose is absorbed. Even if a large amount of hyaluronan is absorbed in the gastrointestinal tract a great share of the substance is metabolized in the liver before it reaches the systemic circulation. One study calculated the bioavailability in rats to 16% and it is therefore uncertain if sufficient concentrations of hyaluronan will reach the joints. Although there is a possibility that low concentrations of hyaluronan in the systemic circulation may exert a prophylactic action there is not enough scientific proof for this today. There are only a few studies that investigate the effect of orally administered hyaluronan on horses *in vivo*. These studies demonstrated reduced synovial effusion in horses with osteochondrosis after treatment with oral hyaluronan. Paradoxically one study found that treated horses had higher concentrations of prostaglandin E2 and nitric oxide in synovial fluid, which is shown to contribute to articular cartilage degradation. Thus there is discrepancy both regarding whether hyaluronan is absorbed in the gastrointestinal tract and whether the substance exerts a positive effect on the joints. Improvement of joint health in horses after oral administration of hyaluronan is not precluded but there is not enough scientific proof to support this thesis yet.

INLEDNING

Hälta orsakar omkring hälften av alla sjukdomsfall hos svenska hästar och ledsjukdom uppges vara orsaken till två tredjedelar av alla hältor. Det framgår i en avhandling där Johanna Penell undersökt databaser från hästkliniker och försäkringsbolag (Penell 2009). På marknaden finns flertalet preparat tillgängliga för att komma underfund med det här problemet, varav hyaluronan är en vanligt förekommande substans. Det finns läkemedel godkända både för intraartikulär och intravenös administration och substansen används både profylaktiskt och som behandling av traumatisk artrit. På senare år har intresset för oralt administrerad hyaluronan ökat men det finns i dagsläget inget läkemedel godkänt för oral administration. Hyaluronan för peroralt bruk förekommer däremot som fodertillskott och används av många hästägare runt om i landet med syfte att förbättra hästarnas ledhälsa. Marknaden för fodertillskott är stor men i princip helt oreglerad. Preparaten ska registreras hos Jordbruksverket men det ställs inga krav på effekt vilket försätter djurägaren i en svår situation när denne ska bedöma huruvida ett fodertillskott är användbart eller ej.

Med tanke på att ledsjukdom är ett vanligt problem hos sport- och ridhästar är ett fodertillskott som förebygger, eller kanske till och med botar, traumatisk artrit väldigt värdefullt. Om fodertillskottet å andra sidan inte har någon effekt, eller rentav är skadligt för hästen, är det istället onödigt investerade pengar eller till och med farligt att använda. Den här litteraturstudien syftar till att undersöka om det finns forskning som visar att oralt administrerad hyaluronan kan förbättra hästars ledhälsa genom att antingen bota eller förebygga traumatisk artrit.

MATERIAL OCH METODER

Den här uppsatsen är en litteraturstudie som sammanfattar befintlig forskning gällande oralt administrerad hyaluronan. Vid litteratursökningen användes databaserna PubMed, Scopus, Web Of Science och Google Scholar. Sökord som använts är "hyaluronan" eller "hyaluronic acid" i kombination med "farmakokinetics". Även "hyaluronan" eller "hyaluronic acid" i kombination med sökorden "horse" och "osteoarthritis" eller "osteocondrosis" användes. Dessutom har förslag på liknande artiklar och artiklar från källors referenslistor nyttjats.

LITTERATURÖVERSIKT

Leders anatomi och fysiologi

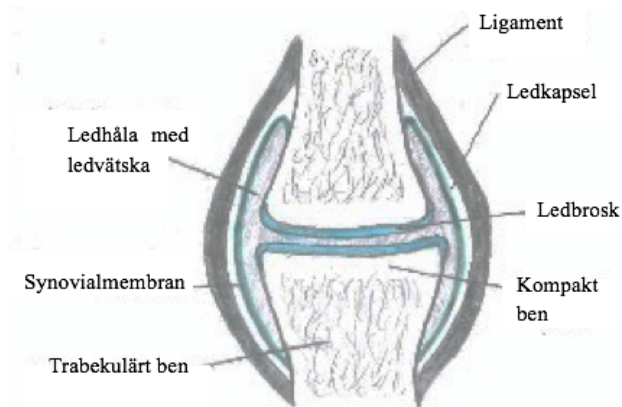
En led är ett komplext organ som består av flera olika komponenter som samverkar för att möjliggöra att mötande skelettdelar kan röra sig i förhållande till varandra. För att det här ska vara genomförbart ställs en rad funktionella krav på lederna. De ska vara robusta nog att tåla de krafter som genereras vid förflyttning, tillåta mjuk och friktionslös rörelse mellan benytorna samt dämpa stötar i samband med hovsättning (René van Weeren, 2016).

Leder delas in i tre olika kategorier baserat på strukturella kännetecken: fibrösa leder, kartilaginösa leder och synoviala leder. I fibrösa leder är benen förenade av tät bindväv och i kartilaginösa leder är benen förenade av brosk. I synoviala leder är inte ledytorna strukturellt

förenade med varandra utan åtskilda av en ledhåla fylld med ledvätska. Majoriteten av kroppens leder är synoviala (Sjaastad, Sand & Hove, 2010). Exempel på en kartilaginös led är fogen mellan blygdbenen. Lederna mellan kotkropparna i ryggraden, med undantag för första och andra halskotan, är exempel på fibrösa leder. Den här uppsatsen kommer enbart behandla synoviala leder då övriga typer sällan ger kliniska problem (René van Weeren, 2016).

Synoviala leder

De basala strukturer som en led består av är ledbrosk, subkondralt ben, ledvätska som omger ledytorna och en ledkapsel som omsluter hela leden (René van Weeren, 2016). Benens ledytor är vanligtvis beklädda med hyalint ledbrosk. Ledbroskets funktion är att reducera friktion och skydda den underliggande skelettvävnaden. Ledbrosket är både avaskulariserat och saknar innervering vilket gör att det kan motstå kraftig belastning utan blödning eller smärta (Sjaastad, Sand & Hove, 2010). Ledbrosk har få cellulära komponenter (kondrocyter) och mycket extracellulär matrix (ECM) (René van Weeren, 2016). ECM består till 70–80% av vatten och resterande 20–30% består av kollagen (50%), proteoglykaner (35%), glykoproteiner (10%), mineraler (3%), lipider (1%) och diverse andra komponenter (1%). Kollagen i ledbrosk är främst av typ II, vilka bildar ett fibrillärt nätverk som ger struktur och draghållfasthet. Proteoglykaner (PG) består av en eller flera sidokedjor av glukosaminoglykaner (GAG) kopplade till ett kärnprotein (Todhunter, 1996). Aggrekan är en vanligt förekommande PG där sidokedjorna utgörs av keratansulfat (KS) och kondroitinsulfat (CS). Både KS och CS är kraftigt hydrofila till följd av sulfatgrupper som är negativt laddade vilka bidrar till broskets vattenhållande förmåga. Aggrekan kan bilda stora aggregat med hyaluronan (HA) som också är en GAG. HA utgör en viktig komponent i ledbroskets ECM men förekommer även fritt i ledvätska (René van Weeren, 2016).



Figur 1: schematisk bild av en synovial led.

Det subkondrala benet verkar stödjande åt det överliggande ledbrosket. Subkondralt ben består både av trabekulärt ben och kompakt ben varav det senare ligger anslutet till ledbrosket via kalkifierat brosk. För schematisk bild, se figur 1. Det subkondrala benet är, till skillnad från ledbrosket, rikligt vaskulariserat och innerverat (René van Weeren, 2016).

Ledkapseln består av två lager, ett yttre fibröst lager som omsluter leden och ett inre synovialmembran som linjerar ledhålan. Synovialmembranet består i sin tur också av två lager: en intima och en subintima. Subintiman ligger i anslutning till det fibrösa lagret och består av rikligt vaskulariserad och innerverad lucker bindväv. Intiman utgörs av ett tunt lager av synoviocyter. Det förekommer både typ A synoviocyter som är makrofag-lik, typ B synoviocyter som är fibroblast-lik och typ C synoviocyter som är intermediära. Det tunna lagret av synoviocyter i intiman saknar basalmembran vilket gör att plasmakomponenter från

blodet kan passera till ledhålan. Ledvätska är ett ultrafiltrat av plasma, fri endast från de större molekylerna som ej kan passera förbi synoviocyterna. Det sker även aktiv sekretion av proteiner, som produceras av typ B synoviocyter, till ledvätskan. Ledvätska består bland annat av höga koncentrationer av HA som syntetiseras av synoviocyterna. Ledvätskan är viktig för att tillgodose det avaskulariserade ledbrusket med näringsämnen och transportera bort avfallsprodukter (René van Weeren, 2016). Ledvätskan verkar även smörjande och minskar friktion mellan ledytorna (König & Leibich, 2004).

Traumatisk artrit

Begreppet traumatisk artrit innefattar en rad olika patologiska tillstånd, däribland vrickning, intrartikulär fraktur, synovit, kapsulit och rupturerad menisk. Alla de här tillstånden kan utvecklas till osteoartrit (OA) (McIlwraith, 2016). OA definieras som en obalans i uppbyggande och nedbrytande processer i leden (Creamer & Hochberg, 1997) vilket ger upphov till förändringar både i ledbrusk, subkondralt ben och mjukvävnad (McIlwraith, 2016). Den här obalansen kan uppstå vid normal belastning på en onormal led eller onormal belastning på en normal led. Exempel på den förstnämnda mekanismen är då ledbrusket skadats av osteokondros, infektion eller trauma; det subkondrala benet försvagats av bencystor eller infektion; ledytan på det subkondrala benet förstyvats. Exempel på den sistnämnda mekanismen är intra- och extraartikulär felställning, ökad viktbelastning på ett ben för att avlasta smärta i ett annat ben och för stor belastning på en led som ännu inte anpassats till den nya arbetsbördan (Pool, 1996).

Mekanisk belastning kan ge upphov till att kondrocyterna skadas och de svarar då genom att producera matrixdegraderande enzymer, till stor del metalloproteinaser (MMP), men även proinflammatoriska cytokiner som IL-1 β (Trumble *et. al.*, 2001). Biokemiskt sker en nedbrytning av både proteoglykaner och typ II kollagen vilket gör brosket mjukare och minskar draghållfastheten (McIlwraith, 1996). MMP, som bland annat innefattar kollagenas, gelatinas och stromelysin, (Creamer & Hochberg, 1997) samt aggrecanaser bedöms ha en viktig roll i nedbrytningen av PG och kollagen (McIlwraith, 2016). Det har även visats att inflammerade leder producerar prostaglandin E2 (PGE2) som ytterligare bidrar till ett minskat innehåll av PG i ECM. Produktion av både PGE2, MMP och aggrecanas induceras av den proinflammatoriska cytokinen IL-1 β . Skadade leder kan även frisätta fria radikaler vilket är ännu en bidragande faktor i nedbrytningen av matrix (McIlwraith, 2016). Makroskopiskt manifesterar sig det här som fibrillering, erosion och fåror i ledbrusket (Pool, 1996).

Förändringar i det subkondrala benet är vanligt förekommande vid OA. Det har föreslagits att förändringar i det subkondrala benet är en orsak till OA snarare än en följsjukdom. En förstelning av det subkondrala benet gör att dess stötansamlade förmåga minskar och ledbrusket utsätts för större påfrestning (Creamer & Hochberg, 1997). Förtjockning av det subkondrala benet är ofta en tidigt förekommande lesion vid OA och kan möjligen föregå förändringarna i ledbrusket. I mer långtgående fall av OA är skleros vanligt, det vill säga ökad mängd ben per ytenhet till följd av minskad resorption och ökad formation. Det kan även bildas bencystor, osteofyter och ske remodelering av benet (Olson & Carlson, 2017)

Synovit med hyperplasi och hypertrofi av synoviocyter samt infiltration av makrofager, lymfocyter och plasmaceller är också karakteristiskt för OA (Olson & Carlson, 2017). Inflammation i synovialmembranet är problematisk då det ger upphov till smärta, synovial effusion (galla) och skadliga inflammatoriska mediatorer, som nämnts ovan (McIlwraith, 2016). Enzymer som frisätts från den inflammerade ledkapseln bidrar till nedbrytning av GAG och minskad viskositet i ledvätskan. Det kan även utvecklas fibros i kapseln vilket är en av många orsaker till minskad rörlighet i leden (Olson & Carlson, 2017).

Hyaluronan

Hyaluronan (HA) är en komponent i extracellulärt matrix och förekommer i höga koncentrationer både i ledbrosk och ledvätska. HA gör ledvätskan viskoelastisk (Howard & McIlwraith, 1996) och bidrar till en smörjande funktion vilket minskar friktionen mellan benytorna i leden (Frisbie, 2016). HA är en icke sulfonerad glukosaminoglykan som består av alternerande disackaridenheter av D-glukuronsyra och N-acetylglukosamin. Polysackariden är linjär och kan bestå av uppemot 10 000-12 000 enheter. Howard & McIlwraith har sammanfattat befintlig litteratur om HA och funnit att molekylvikt och koncentration av HA i synoviala leder varierar med olika testmetoder. Det bedöms att molekylvikten ligger inom intervallet $0,5 - 3,0 \times 10^6$ Dalton och koncentrationen inom intervallet 0,33–1,5 g/L (Howard & McIlwraith, 1996).

HA i ledvätska är syntetiserad av synoviocyter och HA i ledbrosk är syntetiserad av kondrocyter. HA lämnar leden via det lymfatiska systemet och degraderas i levern. Det har även visats att de kan ske lokal degradering av HA i leden (Howard & McIlwraith, 1996).

Behandling med Hyaluronan

Det finns många läkemedel för behandling av traumatisk artrit hos häst. En substans som används frekvent är HA. I Sverige finns läkemedel registrerade både för intraartikulär (i.a.) och intravenös (i.v.) administration (Läkemedelsverket, 2010). Verkningsmekanismen för behandling med HA, oavsett administrationsväg, är inte helt klarlagd. Det finns teorier om att exogen HA kan verka som byggsten för endogen HA som depolymeriserats till följd av OA eller att exogen HA kan öka produktionen av endogen HA (Frean, Abraham & Lees, 1999). *In vitro* studier har visat att HA kan stimulera ekvina kondrocyters produktion av proteoglykaner (Frean, Abraham & Lees, 1999). Det har även visats att HA delvis kan reversera den inhiberande effekt som mekanisk stress har på PG-syntes i bovint ledbrosk (Miki *et. al.*, 2009). Fortsättningsvis finns det även studier som visar på att exogen HA kan stimulera humana fibroblasters syntes av endogen HA (Smith & Gosh, 1987).

Howard & McIlwraith har i en review av befintlig litteratur sammanställt flertalet *in vitro* studier som demonstrerar HAs antiinflammatoriska verkan både hos djur och människor. Det har visats att HA inhiberar granulocyter och makrofagers kemotaxi samt lymfocytens migration. HA reducerar även makrofager och granulocytens förmåga till fagocytos samt minskar lymfocytens proliferation. En teori är att den antiinflammatoriska effekten beror på att HA

verkar som ett steriskt hinder vilket innebär att elektronmoln från närliggande kemiska grupper repellerar varandra och minskar interaktionen mellan enzymer, antigen, cytokiner och deras målceller. Neutrofiler har en CD44 cell-receptor som HA interagerar med. Det har föreslagits att den här interaktionen är anledningen till neutrofilers minskade fagocytos och kemotaxi (Howard & McIlwraith, 1996).

En annan teori är att den antiinflammatoriska verkan beror på en minskad produktion av inflammatoriska mediatorer. Det har visats att HA kan minska produktionen av PGE2 från kaniners kondrocyter *in vitro* (Akatsuka *et. al.*, 1993) Det har även visats att HA hämmar uttrycket av IL-1 β och MMP efter i.a. administration till kaniner med experimentellt inducerad OA (Takahashi *et. al.*, 1999). Resultat tyder dessutom på att högmolekylär HA stimulerar bovina kondrocyters uttryck av TIMP som i sin tur har en inhiberande verkan på MMP (Yasui *et. al.*, 1992). Slutligen finns det även studier som visar att HA kan reducera halterna av fria syreradikaler hos människor med OA (Sato *et.al.*, 1988).

Molekylviktens påverkan på behandlingseffekten är mycket omdiskuterad. Det verkar som att 500 kDa är en kritisk gräns. I en *in vitro* studie visades att humana synoviala fibroblaster som exponerats för HA med en molekylvikt högre än 500 kDa stimulerats till att syntetisera endogen HA. Den här effekten kunde ej påvisas vid exponering av HA med en molekylvikt lägre än 500 kDa (Smith & Gosh, 1987). Därför rekommenderas en molekylvikt på mer än 500 kDa. Huruvida HA av hög vikt (<3,0 miljoner Da) har bättre effekt än en medelviktig HA (1,0–3,0 miljoner Da) förblir i dagsläget oklart (Frisbie, 2016).

Intraartikulär administration

Det har genomförts många kliniska studier för att avgöra hyaluronans terapeutiska effekt *in vivo*. Howard & McIlwraith sammanfattar de första studierna som utvärderat effekten av HA. Den första studien genomfördes redan 1970 och då jämfördes en behandling med enbart kortikosteroider med en behandling med både kortikosteroider och HA. Slutsatsen i den här studien var att HA i kombination med kortikosteroider var fördelaktigt eftersom effekten var bättre och varade längre. Den första studien där enbart HA utvärderades genomfördes 1976 på 45 travhästar med traumatisk artrit. Efter ett år var 38 hästar fria från hälta och 32 stycken hade återvänt till tävlingsbanan (Howard & McIlwraith, 1996). Sedan de här första rapporterna har det genomförts flertalet olika kliniska studier. En randomiserad dubbel-blindad, placebo-kontrollerad studie genomförd på 77 travhästar visade att hästar behandlade med HA hade en signifikant lägre grad av hälta än hästar behandlade med placebo. Det bedömdes även att obehandlade hästar blev friska snabbare. Hästar klassades som friska när graden av hälta var 2 eller lägre på en skala från 0–6 (Gaustad & Larsen, 1995). En annan randomiserad, dubbel-blindad, placebo-kontrollerad studie kunde inte observera någon skillnad i hältgrad mellan hästar behandlade med HA i.a. och hästar behandlade med placebo. Däremot förekom en signifikant minskad böjprovsreaktion hos hästar behandlade med HA vilket indikerar en sjukdomsmodifierande effekt (Niemelä, Tulamo & Hielm-Björkman, 2016). En tredje studie inducerade OA artroskopiskt och behandling med HA jämfördes mot behandling med polysulfaterade glukosaminoglykaner (PSGAG) och placebo. Såväl kliniska parametrar, som

grad av hälta, reaktion på böjprov och synovial effusion, som radiologiska, biokemiska, immunologiska och histologiska parametrar undersöktes. Resultatet visade ingen förbättring av kliniska parametrar men signifikant minskad fibrillering av ledbrusket vid behandling med HA jämfört med placebo (Frisbie *et. al.*, 2009). Studierna visar varierande behandlingsresultat men generellt stödjer de flesta användningen av HA vid behandling av traumatisk artrit hos häst.

Vilken dos av HA som krävs för att få effekt har utvärderats i en studie där OA inducerats experimentellt genom operation i ena frambenets interkarpalled hos 25 hästar. Hästarna delades in i 5 doseringsgrupper med 5 hästar i varje grupp. Doser om 0, 5, 10, 20 och 40 mg HA administrerades i.a. i OA-leden. Klinisk hälta bedömdes av experter samt utvärderades med hjälp av kraftplattor före och efter operation samt veckovis i 4 veckor efter behandling. Alla hästar behandlade med 20 respektive 40 mg HA var fria från hälta 2 veckor efter behandling. Dessutom hade värdena på den vertikala kraften från benet med OA återgått till ursprungsvärdena innan operation. Inga signifikanta förbättringar varken gällande hälta eller vertikala krafter observerades hos hästar behandlade med 0, 5 och 10 mg HA (Gingerich, Auer & Fackelman, 1981). Enligt FASS rekommenderas 20-25 mg HA till små leder och 50-52 mg till medelstora och stora leder vid i.a. behandling av icke infektiösa ledinflammationer hos häst (FASSa; FASSb; FASS;).

HA bedöms generellt vara en säker behandling. Enligt läkemedelsverkets behandlingsrekommendationer kan det efter intraartikulär behandling med HA förekomma övergående svullnad, smärta och hälta (Läkemedelsverket, 2010). I de ovan nämnda studierna kunde inga skadliga effekter ses vid behandling med HA (Gaustad & Larsen, 1995; Niemelä, Tulamo & Hielm-Björkman, 2016; Frisbie *et. al.*, 2009).

Intravenös administration

Intravenöst administrerad HA används både som behandling av traumatisk artrit och i profylaktiskt syfte (Frisbie, 2016). Det har genomförts en studie där effekten av i.v. HA utvärderats (Kawcak *et. al.*, 1996). Ett osteokondralt fragment inducerades genom artroskopisk operation i ena interkarpalleden hos 12 hästar. 6 av hästarna behandlades med 40 mg HA i.v. 13, 20 och 27 dagar efter operation och övriga 6 hästar behandlades med placebo. 72 dagar efter operation var 11 av 12 hästar halta i benet med osteokondralt fragment men hästar behandlade med HA hade signifikant lägre grad av hälta än hästar som fick placebo. Vid 72 dagar efter operation hade behandlade hästar även signifikant lägre koncentrationer av totalprotein och PGE2 i ledvätskan än kontrollgruppen. Vid histologisk undersökning observerades dessutom en minskad infiltration av inflammatoriska celler och en minskad vaskularitet i synovialmembranet hos behandlade hästar jämfört med obehandlade hästar.

Farmakokinetik Hyaluronan

Kinetiken hos intravenöst administrerad HA har studerats hos flera djurslag. Lebel sammanfattar befintlig litteratur i en review-artikel. Generellt är koncentrationen av HA i plasma låg jämfört med i andra vävnader. En studie undersökte farmakokinetiska parametrar genom att injicera en bolusdos av radiomärkt HA i.v. till kaniner. Det visade sig att 98% av

dosen hade lämnat den systemiska cirkulationen inom 6 timmar efter administration. Efter 100 timmar hade HA utsöndrats till 63% via utandningsluft, 20% via urin och 0,5% via avföring. HA avlägsnas väldigt effektivt från den systemiska cirkulationen med en halveringstid på 2-6 minuter. Den huvudsakliga metabolismen sker i levern men det har på senare tid visats att en signifikant mängd HA kan metaboliseras även i njurarna (Lebel, 1991).

Kinetiken hos oralt administrerad HA är dessvärre inte lika väl studerad. Det finns fåtal studier på råttor och hund men inga på häst. En studie undersökte farmakokinetiken hos oralt administrerad HA genom att administrera teknetiummärkt HA med molekylvikten 1,1–1,5 MDa oralt till 5 råttor och 2 hundar. Resultaten från den här studien visade att $84.6 \pm 7.8\%$ av oralt administrerad dos utsöndrats med avföring och $2.0 \pm 0.63\%$ utsöndrats med urin 72 timmar efter administrering. Total utsöndring via avföring och urin beräknades till $86.7 \pm 8.0\%$ vilket innebär att i genomsnitt 13.3% av den administrerade dosen återfinns i kroppen efter 72 timmar. Det här har jämförts med oral administration av teknetiumperteknetat (Tc-P). Efter 72 timmar hade endast $1.2 \pm 0.09\%$ av given dos utsöndrats med avföring och $93.2 \pm 4.5\%$ utsöndrats med urin (Balogh *et. al.*, 2008).

I samma studie som ovan studerades även radioaktiviteten i organ och vävnader vid olika tidpunkter (5, 15, 20 min, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72 h) för att följa distributionen av HA. 3 råttor avlivades och undersöktes varje tidpunkt. Majoriteten av HA lämnade aldrig gastrointestinaltrakten och återfanns först i magsäck, följt av tunntarm och tjocktarm, i enlighet med normal tid för tarmpassage. Det gick att identifiera viss ackumulation av HA i blod, ben, knäled, muskler och hud men ingen eller minimal förekomst i njurar, thyroidea och urinblåsa. 6 olika leder (tarsal-, knä-, höft-, karpal-, armbågs- och axelled) hos råttor studerades även med datortomografi 48 timmar efter administrerad dos. Det radioaktivitet påvisades i ledvätska, brosk och ben vilket tyder på upptag av HA i ledvävnad efter oral administration. Det här skiljer sig avsevärt från den distribution Tc-P uppvisar. Tc-P lämnar snabbt gastrointestinaltrakten och distribueras i de flesta vävnader. Radioaktiviteten i vävnaderna avlägsnas inom 2 timmar förutom i thyroidea, njurar och urinblåsa där rester av radioaktivitet kan ses även efter längre tid. Upptag av Tc-P i ledvävnad kunde ej påvisas (Balogh *et. al.*, 2008).

En annan liknande studie administrerade både teknetiummärkt HA (Tc-HA) och kol-14-märkt HA (^{14}C -HA) av olika molekylvikt (100 kDa, 0,5 MDa och 1,0 MDa) oralt till råttor. Den här studien kunde enbart observera spår av radioaktivitet i blod, organ och vävnader oavsett vilken molekylvikt och radioaktiv märkning som använts. Det här tyder på ingen eller minimal absorption av HA i gastrointestinaltrakten (Laznicek *et. al.*, 2012).

En tredje kinetikstudie administrerade kol-14-märkt HA (^{14}C -HA) med molekylvikt 920 kDa oralt till råttor. Radioaktivitet i blodet samt exkretionshastighet via urin, avföring och utandningsluft uppmättes vid flera tidpunkter till och med 168 timmar efter administrering. 72 timmar efter administrering hade $2,8 \pm 0,2\%$ av den administrerade dosen utsöndrats med urin, $11,4 \pm 1,0\%$ via avföring och $74,7 \pm 1,5\%$ via utandningsluft. Den totala utsöndringen via urin, avföring och utandningsluft beräknades till $88,8 \pm 0,9\%$ vilket innebär att i genomsnitt 11,2%

av den administrerade dosen återfanns i kroppen efter 72 timmar. I djur som avlivats efter 168 timmar kunde $8,8 \pm 0,6\%$ av den administrerade dosen uppmätas i kroppen. Det administrerades även ^{14}C -HA i.v. för att kunna beräkna biotillgänglighet vid oral administration. Biotillgängligheten beräknades till 16% (Oe *et. al.*, 2014).

Samma studie som ovan genomförde även autoradiografiska undersökningar vid tre olika tidpunkter (8, 24, 96 h efter administrerad dos). Tarminnehållet uppvisade högst radioaktivitet i kroppen både vid 8 timmar (710,02 PSL/mm²) och 24 timmar (86,68 PSL/mm²) efter administration. Radioaktivitet detekterades även i blod samt många olika organ och vävnader men då i betydligt lägre nivåer än i tarmen (0,10–18,75 PSL/mm² beroende på organ och tidpunkt). Vid 96 timmar efter administrerad dos var all radioaktivitet lägre än 3,0 PSL/mm². Radioaktivitet i leder studerades ej (Oe *et. al.*, 2014).

Hyaluronan som fodertillskott

Enligt läkemedelslagen (SFS 2015:315) är ett läkemedel ”varje substans eller kombination av substanser som tillhandahålls med uppgift om att den har egenskaper för att förebygga eller behandla sjukdom hos människor eller djur, eller som kan användas på eller tillföras människor eller djur i syfte att återställa, korrigera eller modifiera fysiologiska funktioner genom farmakologisk, immunologisk eller metabolisk verkan eller för att ställa diagnos.” Vad som definieras som ett läkemedel baseras alltså både på produktens innehåll och produktens syfte. Det är i många fall svårt att avgöra om en produkt ska klassas som ett läkemedel eller tillskott (Läkemedelsverket, 2016). I dagsläget finns det inget godkänt läkemedel avsett för oral administration som innehåller HA. Det här beror på att det för närvarande saknas tillräckligt vetenskapligt stöd för att oral HA har nytta vid behandling av traumatisk artrit. Hyaluronsyra för oral administration säljs därför som fodertillskott och regleras således av foderlagen. Alla fodertillskott ska vara registrerade hos Jordbruksverket (SJV) (Läkemedelsverket, 2010). I EG nr 767/2009 förtydligas vilka regler som gäller för märkning av foder ”I märkning och presentation av foderråvaror och foderblandningar får det inte hävdas att fodret förebygger, behandlar eller botar sjukdom”. Om det förekommer medicinska påståenden klassas fodertillskottet istället som läkemedel (Läkemedelslagen SFS 2015:315).

Det finns åtminstone två olika fodertillskott på marknaden i Sverige som enbart innehåller HA. Det ena preparatet är Conquer 200^{PRO} som innehåller 200 mg HA/15 ml. På tillverkarens hemsida finns rekommendationer för dosering: ”Initialt ges 7.5 ml två gånger dagligen per 500 kg kroppsvikt i en vecka. Därefter ges 7.5 ml en gång dagligen per 500 kg kroppsvikt i en vecka eller längre. När önskad effekt har uppnåtts ges 7.5 ml varannan dag per 500 kg kroppsvikt som underhållsdos” (EvaVet, 2018). Det andra preparatet är VIMITAL Hyaluron 100 som innehåller 100 mg HA/20 ml. Deras doseringsrekommendationer lyder: ”20 ml 2 gånger per dag i 10 dagar. Därefter 20 ml per dag” (Trikem AB). Båda fodertillskotten har 0 timmars karenstid inför tävling (Svenska Ridsportförbundet, 2016).

Det finns endast ett fåtal studier som utvärderar effekten av oralt administrerad HA. I en dubbel-blindad, placebo-kontrollerad studie administrerades 100 mg HA oralt i 30 dagar till 24 hästar som genomgått artroskopisk operation för osteokondros dissekans (OCD). Hästar behandlade med HA hade signifikant lägre synovial effusion än hästar behandlade med placebo oavsett lesionens lokalisering och initiala storlek (Bergin *et. al.*, 2006). Det har även genomförts en dubbel-blindad, placebo-kontrollerad pilotstudie där 6 hästar med osteokondros (OC) behandlades med 250 mg HA oralt i 60 dagar. Vid studiens start samt efter 60 och 90 dagar studerades synovial effusion, koncentration av HA i plasma och koncentration av NO, PGE2 och HA i ledvätska. På grund av få antal hästar som deltog i studien gick det ej att uppnå några statistiskt signifikanta resultat. Hästar behandlade med HA tenderade att ha mindre synovial effusion än hästar behandlade med placebo. Hästar behandlade med HA tenderade även att ha högre koncentrationer av både NO, PGE2 och HA i ledvätska än hästar behandlade med placebo (Carmona *et. al.*, 2009).

Tillverkaren av preparatet Conquer har på sin hemsida publicerat en rapport om ett fältförsök med oralt administrerad HA. Försöket är randomiserat och placebo-kontrollerat men ej blindat. 8 travhästar behandlades med 100 mg HA i fodret dagligen i 12 veckor. Hästarna tränades 3-4 dagar i veckan och vid varje träningsstillfälle utvärderades rörelsemönster och puls. Det gjordes även anteckningar av antalet vilodagar/häst. Hästar behandlade med HA hade signifikant förbättrad smidighet och en tendens till mindre antal vilodagar jämfört med de hästar som ej behandlades (Skiöldebrand & Nordin, 2012).

På Conquers hemsida finns det även publicerat en dubbel-blindad placebokontrollerad studie där oral HA administrerats till 13 kapploppshästar dagligen i 59 dagar. Efter administreringsperiodens slut studerades antalet dagar på banan, antalet promenaddagar, eventuella veterinärbesök, synovial effusion, bøjprovsreaktion och tecken på hälta. Antalet hästar som undersöktes av veterinär under perioden var signifikant lägre i behandlingsgruppen än i placebo-gruppen. Dessutom tenderade behandlade hästar att ha fler dagar på banan än obehandlade hästar. 14 av de 26 hästar som deltog i studien hade kliniska problem, de flesta relaterade till lederna, när studien startade. Av de här 14 hästarna randomiserades 8 hästar till behandlingsgruppen och 6 hästar till placebo-gruppen. Alla hästar i behandlingsgruppen som redan hade existerande problem förbättrades (8 av 8) jämfört med den obehandlade gruppen där förbättring sågs hos hälften av hästarna (3 av 6). Författaren drar slutsatsen att oralt administrerad HA förebygger hälta (Pierce, 2005).

DISKUSSION

Det finns flera kliniska studier som undersökt effekten av i.a. administrerat HA. Även om studierna visar varierande behandlingsresultat stödjer generellt de flesta rapporter användningen av i.a. HA vid behandling av traumatisk artrit hos häst (Howard & McIlwraith 1996; Gaustad & Larsen, 1995; Niemelä, Tulamo & Hielm-Björkman, 2016; Frisbie *et al.*, 2009). Även om verkningsmekanismen inte är helt klarlagd tyder studier *in vitro* på en broskskyddande och antiinflammatorisk verkan (Frean, Abraham & Lees, 1999; Miki *et al.*,

2009; Smith & Gosh, 1987; Howard & McIlwraith 1996; Akatsuka *et al.*, 1993; Takahashi *et al.*, 1999; Yasui *et al.*, 1992; Sato *et al.*, 1988). På senare tid har intresset för oralt administrerad HA ökat. Substansen förekommer som fodertillskott och används frekvent bland hästägare i syfte att förebygga ledproblem. Det är värdefullt om ett oralt preparat kan uppnå samma effekt som HA administrerat i.a. men för att det ska fungera behöver den verksamma substansen kunna tas upp via tarmen till den systemiska cirkulationen.

Det förekommer varierande resultat i de kinetikstudier som publicerats. Oe *et al.* (2014) administrerade ¹⁴C-märkt HA till råttor och fann att 90% av oralt administrerad HA absorberas från gastrointestinaltrakten. Lacnizek *et al.* (2012) administrerade både ¹⁴C-märkt HA och teknetiummärkt HA (Tc-HA) oralt till råttor men kom istället till slutsatsen att absorptionen i tarmen är låg eller minimal. Balogh *et al.* (2008) genomförde en studie där syftet var att undersöka om HA kunde absorberas i tarmen och ta sig till lederna. Tc-HA administrerades till råttor och hundar och distributionen jämfördes med teknetiumperteknetat (Tc-P). Resultatet från den här studien visar också att HA absorberas från gastrointestinaltrakten men att majoriteten, i genomsnitt 84,6%, passerar rakt igenom och utsöndras med avföringen. Lacnizek *et al.* (2012) diskuterar möjligheten att radioaktivt märkt HA uppvisar andra biologiska egenskaper än naturlig HA. De tar även upp det faktum att radioaktivt märkta produkter snabbt kan degraderas efter administration och att radioaktiviteten som observeras kan komma både från HA och dess nedbrytningsprodukter. Det har föreslagits att de här problemen kan undvikas genom att använda märkning med ¹⁴C och syftet med deras studie var därför att jämföra teknetiummärkning med ¹⁴C-märkning. Forskarna påvisar viss skillnad i biodistribution efter i.v. administration av TC-HA jämfört med ¹⁴C-HA men varken TC-HA eller ¹⁴C-HA uppvisar någon signifikant absorption i gastrointestinaltrakten. Det här tyder på att val av radioaktiv märkningsmolekyl ej bör vara anledningen till variationen i absorption. Oe *et al.* (2014) hävdar att anledningen till att Lacnizek *et al.* (2012) och Balogh *et al.* (2008) fått olika absorptionsresultat kan bero på att Tc-HA-komplexet har separerats eller att det skett ligandutbyte mellan komplexet och biologiska komponenter. Balogh *et al.* (2008) diskuterar möjligheten att Tc-märkningen separerats från HA-molekylen men finner det osannolikt dels eftersom att Tc-HA visats stabilt i serum och ledvätska men också eftersom att radioaktiviteten då bör ha uppvisat samma distribution som Tc-P. Det är alltså oklart vad som är anledningen till att resultaten skiljer sig så mycket åt. Något som det däremot inte råder någon tvekan om är det stora behovet av fler kinetikstudier som undersöker oralt administrerad HA.

Oavsett om HA absorberas till 90% som Oe *et al.* (2014) påstår i sin kinetikstudie går det inte att frånga den låga biotillgänglighet som uppmätts. Oe *et al.* (2014) administrerade ¹⁴C-märkt HA både i.v. och oralt och beräknade biotillgängligheten till 16%. Om enbart 16% av den administrerade dosen når den systemiska cirkulationen uppkommer frågan hur mycket av de här 16 procenten som når lederna. Det har visats att vid i.a. administration krävs 20 mg HA för att få effekt (Gingerich, Auer & Fackelman, 1981). De fodertillskott som finns på marknaden rekommenderar en dos á 200 mg dagligen under en inledningsperiod och därefter 100 mg dagligen (EvaVet 2018; Trikem AB). Med biotillgängligheten 16% innebär det att 32 respektive 16 mg når den systemiska cirkulationen vid doserna 200 respektive 100 mg. Även om HA är

känt för att ha affinitet till bindväv (Balogh *et al.*, 2008) är det låg sannolikhet att koncentrationen i lederna efter oral administration uppnår lika höga nivåer som då 20 mg administrerats i.a. Dels eftersom HA har en kort halveringstid och snabbt lämnar den systemiska cirkulationen (Lebel, 1991) men också för att större molekyler ej kan passera synoviocyterna och ta sig till ledvätskan (René van Weeren, 2016). Det är dock möjligt att lägre koncentrationer kan ha en förbyggande effekt. Det spekuleras även i om exogen HA inte behöver ta sig till ledvätskan utan istället kan utöva en positiv verkan på synovialmembranet. Resultatet från studien där Kawcak *et al.* (1996) undersökte effekten av i.v. administrerad HA tyder på att HA som befinner sig i den systemiska cirkulationen kan lindra hälsa, sänka koncentrationen av PGE2 i ledvätskan och minska infiltrationen av inflammatoriska celler. Studien är dock den enda som utvärderar effekten av i.v. administrerad HA så det behövs vidare forskning för att undersöka effekten.

Det finns ett begränsat antal studier som utvärderar effekten av oralt administrerad HA vilket försvårar bedömningen gällande huruvida HA har potential som ett fodertillskott eller ej. I litteraturöversikten presenterades två dubbel-blindade och placebo-kontrollerade studier där HA administrerats till hästar med osteokondros. Bergin *et al.* (2006) visade på signifikant minskad synovial effusion efter behandling med HA oralt och Carmona *et al.* (2009) visade på tendens till minskad synovial effusion. De här resultaten tyder på att oralt administrerad HA kan ha en sjukdomsmodifierande effekt. Carmona *et al.* (2009) testade även biokemiska parametrar relaterade till traumatisk artrit. Inga signifikanta resultat kunde påvisas men paradoxalt nog tenderade hästar behandlade med HA att ha högre koncentrationer av PGE2 och NO. Både PGE2 och NO har visats bidra till nedbrytningen av ledbrosk (McIlwraith, 2016). Därför tyder en höjning av de här mediatorerna snarare på att oralt administrerad HA har en negativ effekt på lederna. Höjningen av PGE2 som Carmona *et al.* (2009) påvisat motsäger de resultat som Kawcak *et al.* (2006) fick fram. Det råder alltså oklarheter i vilken effekt HA som befinner sig i den systemiska cirkulationen har på biokemiska parametrar.

Det finns inga vetenskapligt publicerade studier som utvärderar huruvida oralt administrerad HA kan förebygga ledsjukdom. På hemsidan som marknadsför Conquer finns det däremot två publicerade pilotstudier som ämnat att undersöka den effekten. Studierna visade att oralt administrerad HA ökar smidigheten, minskar antalet vilodagar och förebygger hälsa (Skiöldebrand & Nordin, 2012; Pierce 2005). Fältförsöket av Skiöldebrand & Nordin (2012) är dock utfört av veterinären som driver företaget som marknadsför Conquer vilket medför risk för bias. Dessutom är försöket ej blindat vilket bidrar till minskad tillförlitlighet till studiens resultat, särskilt eftersom att en av parametrarna som studeras är smidighet. Smidighet är en subjektiv bedömning som sannolikt kan påverkas av vetskapen om hästen fått behandling eller ej. I studien utförd av Pierce (2005) förekommer det också potentiellt bias eftersom att författaren samarbetar med veterinären bakom Conquer och själv marknadsför preparatet via eget företag. Hästarna som ingick i studien hade olika förutsättningar från start då några ansågs friska och några hade kliniska problem. Det här medför skillnader både inom och mellan studiegrupperna vilket gör att grupperna inte kan anses jämförbara då det är fler faktorer än enbart administreringen av HA som påverkar resultatet. Även om resultaten från Skiöldebrand

& Nordin (2012) och Pierce (2005) tyder på att oralt administrerad HA kan ha en förebyggande verkan behövs mer vetenskapliga bevis som styrker detta.

Utifrån den vetenskapliga litteraturen går det i dagsläget inte att avgöra om oralt administrerad HA kan förbättra hästars ledhälsa. Det saknas tillräckligt med vetenskapligt belägg både vad gäller förmågan att förebygga ledproblem och behandla traumatisk artrit. Det finns först och främst inga studier som undersöker kinetiken hos oralt administrerad HA hos häst och studier från andra djurslag visar motsägelsefulla resultat. Det råder alltså oklarheter i om HA kan absorberas i tarmen överhuvudtaget. Likväl finns alldeles för få kliniska studier som utvärderar effekten av oralt administrerad HA *in vivo*, både vad gäller förebyggande och behandlande förmåga. Det är inte uteslutet att oralt administrerad HA kan förbättra hästars ledhälsa men i dagsläget finns det inte tillräckligt med vetenskapliga bevis som stödjer den hypotesen.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Akatsuka, M., Yamamoto, Y., Tobetto, K., Yasui, T., Ando, T. (1993). In vitro effects of hyaluronan on prostaglandin E2 induction by interleukin-1 in rabbit articular chondrocytes. *Agents Actions*, 38(1-2):122-125
- Balogh, L., Polyak, A., Mathe, D., Kiraly, R., Thuroczy, J., Terez, M., Janoki, G., Ting, Y., Bucci, L.R., Schauss, A.G. (2008). Absorption, Uptake and Tissue Affinity of High-Molecular-Weight Hyaluronan after Oral Administration in Rats and Dogs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:10582-10593
- Bergin, B.J., Pierce, S.W., Bramlage, L.R., Stromberg, A. (2006). Oral hyaluronan gel reduces post operative tarsocrural effusion in the yearling Thoroughbred. *Equine Veterinary Journal*, 38(4):375-378
- Carmona, J.U., Argüelles, D., Deulofeu, R., Martínez-Puig, D., Prades, M. (2009). Effect of the administration of an oral hyaluronan formulation on clinical and biochemical parameters in young horses with osteochondrosis. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*
- Creamer, P., Hochberg M.C. (1997). Osteoarthritis. *Lancet*, 350: 503-509
- EUROPAPARLAMENTETS OCH RÅDETS FÖRORDNING (EG) nr 767/2009
- EvaVet (2018). *Produkter för normal ledfunktion hos häst*. <http://evavet.se/index.php/hastens-leder/> [2018-02-26]
- FASSa. (2018-02-21). *Hyonate Vet*. [2018-02-28]
<http://fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=19921204000017>
- FASSb. (2016-02-25). *HY-50 Vet*. [2018-02-28]
<http://fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=19980612000019>
- FASSc. (2014-07-03). *Synvet*. [2018-02-28]
<http://fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20130710000121>
- Frean, S.P., Abraham, L.A., Lees, P. (1999). In Vitro Stimulation of Equine Articular Cartilage Proteoglycan Synthesis by Hyaluronan and Carprofen. *Research in Veterinary Science*, 67(2): 183-190.
- Frisbie, D.D., Kawcak, C.E., McIlwraith, C.W., Werpy, N.M. (2009). Evaluation of polysulfated glycosaminoglycan or sodium hyaluronan administered intra-articularly for treatment of horses with experimentally induced osteoarthritis. *American Journal of Veterinary Research*, 70(2).
- Frisbie, D.D. (2016). Hyaluronan. I: McIlwraith C.W., Frisbie D.D., Kawcak C., René van Weeren, P. (red.). *Joint Disease in the Horse*. 2 uppl. St Louis: Elsevier, 215-217
- Gaustad, G., Larsen, S. (1995). Comparison of polysulphated glycosaminoglycan and sodium hyaluronate with placebo in treatment of traumatic arthritis in horses. *Equine Veterinary Journal*, 27(5):356-362
- Gingerich D.A., Auer, J.A., Fackelman, G.E. (1981). Effect of exogenous hyaluronic acid on joint function in experimentally induced equine osteoarthritis: dosage titration studies. *Research in Veterinary Science*, 30(2):192-197

- Howard, R.D., McIlwraith, C.W. (1996). Hyaluronan and its Use in the Treatment of Equine Joint Disease. I: McIlwraith C.W., Trotter G.W. (red.). *Joint Disease in the Horse*. 1 uppl. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 257-278.
- Kawcak, C.E., Frisbie, D.D., McIlwraith, C.W., Trotter, G.W., Gillette S.M., Powers, B.E., Walton R.M. (1996). Effects of intravenously administered sodium hyaluronate on equine carpal joints with osteochondral fragment under exercise. *Pferdeheilkunde*, 12(4): 599-602
- König, H.E. & Liebich, H-G (2004). *Veterinary anatomy of Domestic Mammals*. 1. uppl. Stuttgart: Schattauer GmbH, 16.
- Laznicek, M., Laznickova A., Cozikova D., Velebny, V. (2012). Preclinical pharmacokinetics of radiolabelled hyaluronan. *Pharmacological Reports*, 64:428-437
- Lebel, L. (1991). Clearance of hyaluronan from the circulation. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 7:221-235
- Läkemedelslag (SFS 2015:315)
- Läkemedelsverket (2010). Medicinsk ledbehandling vid aseptisk/traumatisk artrit hos häst – ny rekommendation.
- Läkemedelsverket (2016-03-03). *Det här är ett läkemedel*.
<https://lakemedelsverket.se/malgrupp/Allmanhet/Vad-ar-ett-lakemedel/> [2018-02-26]
- McIlwraith, C.W. (1996). General Pathobiology of the Joint and Response to Injury. I: McIlwraith C.W., Trotter G.W. (red.). *Joint Disease in the Horse*. 1 uppl. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 40-63.
- McIlwraith, C.W. (2016). Traumatic Arthritis and Posttraumatic Osteoarthritis in the Horse. I: McIlwraith C.W., Frisbie D.D., Kawcak C., René van Weeren, P. (red.). *Joint Disease in the Horse*. 2 uppl. St Louis: Elsevier, 33-44.
- Miki, Y., Teramura, T., Tomiyama, T., Onodera, Y., Matsuoka, T., Fukuda, K., Hamanishi, C. (2009). Hyaluronan reversed proteoglycan synthesis inhibited by mechanical stress: possible involvement of antioxidant effect. *Inflammation Research*, 59:471-477.
- Niemelä, T.M., Tulamo R.M., Hielm-Björkman, A.K. (2016). A randomised, double-blinded, placebo-controlled clinical study on intra-articular hyaluronan treatment in equine lameness originating from the metacarpophalangeal joint. *BMC Veterinary Research*, 12(60)
- Oe, M., Mitsugi, K., Odanaka, W., Yoshida, H., Matsuoka, R., Seino, S., Kanemitsu, T., Masua, Y. (2014). Dietary Hyaluronic Acid Migrates into the Skin of Rats. *The Scientific World Journal*, 2014
- Olson, E.J. & Carlson C.S. (2017). Bones, Joints, Tendons and Ligaments. I: Zachary, J.F. (red.). *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 6. uppl. Illinois: Elsevier, 973-1005
- Penell, J. (2009). *Secondary Databases in Equine Research*. Diss. Uppsala: Sveriges Lantbruksuniversitet
- Pierce, S.W. (2005). Efficacy of Orally Administered Sodium Hyaluronate Gel in the Racing Thoroughbred.
http://kineticvet.com/images/files/SodiumHyaluronateGel_ThoroughbredEfficacyStudy.pdf

- Pool, R.R. (1996). Pathologic Manifestations of Joint Disease in the Athletic Horse. I: McIlwraith C.W., Trotter G.W. (red.). *Joint Disease in the Horse*. 1 uppl. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 87-94.
- René van Weeren, P. (2016). General Anatomy and Physiology of Joints. I: McIlwraith C.W., Frisbie D.D., Kawcak C., René van Weeren, P. (red.). *Joint Disease in the Horse*. 2 uppl. St Louis: Elsevier, 1-12.
- Sato, H., Takahashi, T., Ide, H., Fukushima, T., Tabata, M., Sekine, F., Kobayashi, K., Negishi, M., Niwa, Y. (1988). Antioxidant activity of synovial fluid, hyaluronic acid, and two subcomponents of hyaluronic acid. *Arthritis and Rheumatism*, 31(1).
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O., Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. 2. uppl. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Skiöldebrand, E., Nordin, C. (2012). *Oral hyaluronsyra till travhästar i träning*. <http://evavet.se/wp-content/uploads/2013/06/Oral-hyaluronsyra-till-travh%C3%A4star-i-tr%C3%A4ning-2012-06-09.pdf>
- 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. *Rheumatology International*, 7:113-122.
- Svenska Ridsportförbundet (2016). *Lista över olika växtbaserade substanser m.m. och deras karenstider*. http://www.ridsport.se/ImageVaultFiles/id_55577/cf_559/karenstider_hastvarvsprodukter_fodertillskott_2015.PDF
- Takahashi, K., Goomer, R.S., Harwood, F., Kubo, T., Hirasawa, Y., Amiel, D. (1999). The effects of hyaluronan on matrix metalloproteinase-3 (MMP-3), interleukin-1 β (IL-1 β), and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) gene expression during development of osteoarthritis. *Journal of the OsteoArthritis Research Society International*, 7:182-190
- Todhunter R.J. (1996). Anatomy and Physiology of Synovial Joints. I: McIlwraith C.W., Trotter G.W. (red.). *Joint Disease in the Horse*. 1 uppl. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1-23.
- Trikem AB. *VIMITAL Haluron 100*. [2018-02-26]
http://www.trikem.nu/se/produkt.lasso?act_kat=13&act_vm=13&act_prod=1125&fakta=A
- Trumble, T.N., Trotter, G.W., Thom, J.R., McIlwraith, W., Cammarata, S., Goodnight, J.L., Billingham, R.C., Frisbie, D.D. (2001). Synovial fluid gelatinase concentrations and matrix metalloproteinase and cytokine expression in naturally occurring joint disease in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 62(9).
- Yasui, T., Akatsuka, M., Tobetto, K., Umemoto, J., Ando, T., Yamashita, K., Haykawa, T. (1992). Effects of hyaluronan on the production of stromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in bovine articular chondrocytes. *Biomedical Research*, 13(5):343-348