

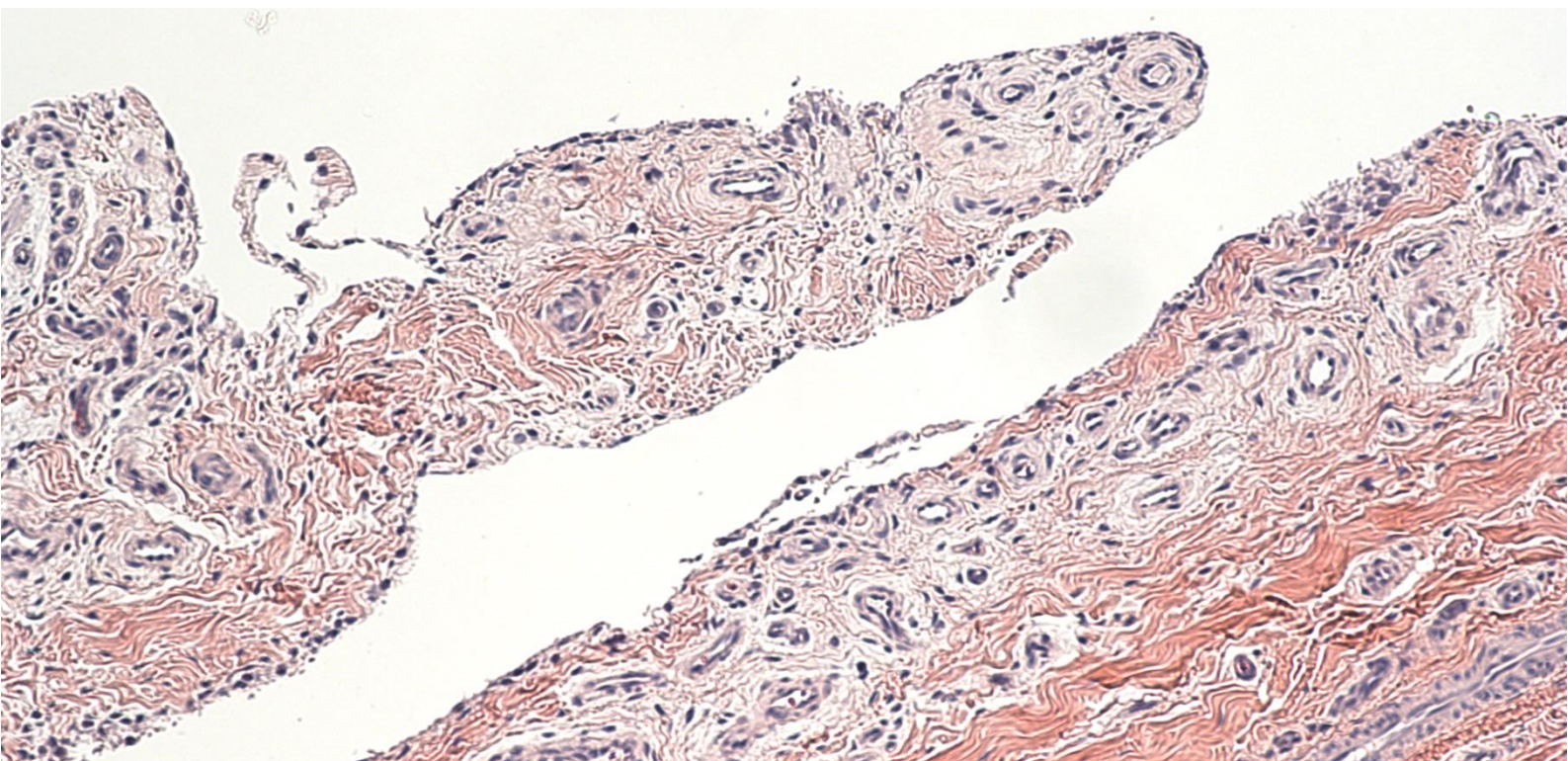


Jämförelse av synovitgrad mellan olika lokalisationer i ledkapseln hos häst

Matleena Rahkonen

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Uppsala 2023



Jämförelse av synovitgrad mellan olika lokalisationer i ledkapseln hos häst

A comparison of the synovitis score between different sampling locations of the joint capsule in horses

Matleena Rahkonen

Handledare: Anna Kendall, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Bitr. handledare: Sofia Tengstrand, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator: Karin Vargmar, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX1003

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Kursansvarig inst.: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2023

Omslagsbild: Histologisk bild på synovialmembranet, fotografi taget av Matleena Rahkonen

Upphovsrätt: Alla bilder i arbetet är tagna av Matleena Rahkonen

Nyckelord: Osteoartrit, synovit, histologisk bedömning

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Osteoartrit är en vanlig ledsjukdom hos häst och drabbar alla ledens vävnader. Synovial inflammation (synovit) ses ofta i samband med osteoartrit hos häst. Humanstudier har visat att synovitgraden varierar inom leden, men trots detta finns det brister i hur väl provtagningsstället anges i studier som tittar på synovialmembranet. Syftet med detta examensarbete var att bedöma om provtagningsstället påverkar den histologiska bedömningen av synovitgraden hos häst. Dessutom undersöktes om man riskerar att över- eller underskatta synovitgraden vid provtagning på andra ställen än dorsalt på ledkapseln.

För den histologiska bedömningen samlades material från en kotled och en carpalled från 10 hästar. Tre prover från varje led bedömdes enligt OARSIs (Osteoarthritis Research Society International) histologiska graderingssystem för synoviopatier. Därefter jämfördes de dorsala proverna från varje led med de mediala och laterala proverna från samma led.

Denna studie visar att den histologiska bedömningen av synovitgraden hos häst påverkas av provtagningsstället. Exempelvis var totalpoängen lägre för synovitgraden vid provtagning på andra ställen än dorsalt i kotleden. Dessutom sågs en skillnad i totalpoängen för synovitgraden mellan prover som tagits dorsalt respektive mediallyt eller lateralt i carpus. Däremot kunde ingen skillnad påvisas mellan de laterala och mediala proverna. Eftersom det histologiska utseendet på synovialmembranet skiljer sig mellan olika provtagningsställen finns det en risk för att även andra parametrar, såsom mängden inflammatoriska celler eller cytokiner, varierar inom leden. Ytterligare studier behövs för att utreda betydelsen av variationen i synovitgrad som sågs inom leden. Dessutom bör provtagningsstället alltid anges i studier av ledkapseln.

Nyckelord: osteoartrit, synovit, histologisk bedömning

Abstract

Osteoarthritis is a common joint disease in horses and affects all the tissues of the joint. Inflammation of the synovial membrane (synovitis) is commonly seen in horses with osteoarthritis. Human studies have shown that the synovitis score differs within the joint. Despite this, many studies fail to specify where in the joint capsule the samples have been obtained. This study describes the effect of sampling site on the histological synovitis scoring in horses. Furthermore, this study investigates if the synovitis score is over- or underestimated when the sample is obtained medially or laterally, instead of dorsally in the joint capsule.

Samples for the histological assessment were collected from 10 horses. The joint capsules of one metacarpophalangeal joint and one intercarpal joint were sampled from each horse. Three samples from each joint were assessed with OARSIs (Osteoarthritis Research Society International) histological grading system for synoviopathies. The dorsal samples were then compared to the medial and lateral samples from the same joint.

The results of this study show that the histological assessment of the synovitis score in horses is dependent on the sampling site. As an example the total score for synovitis was lower when the sample was obtained medially or laterally instead of dorsally in the metacarpophalangeal joint. The total score of the medial and the lateral samples also differed from the dorsal sample in the carpal joint. However, no statistically significant differences were detected between the lateral and medial samples. The variation in the synovitis score within the joint may indicate that other parameters, such as the amount of inflammatory cells or cytokines also vary. Further studies are needed to shed light on the impact of the variation in the synovitis score within the joint. Information on synovial membrane sampling site should always be included in the materials and methods.

Keywords: osteoarthritis, synovitis, histological assessment

Innehållsförteckning

Förkortningar	8
1. Introduktion	9
2. Litteraturoversikt.....	10
2.1 Synovialmembranets normala uppbyggnad och funktion	10
2.2 Synovialmembranet och osteoartrit	11
2.2.1 Synovialmembranets histologi vid osteoartrit	11
2.2.2 Synovialmembranets komplexa roll i osteoartrit-patogenesen.....	11
2.2.3 Synovialmembranets koppling till symptomen.....	13
3. Material och metoder	15
3.1 Statistik.....	17
4. Resultat	18
4.1 Skillnad mellan de laterala och mediala reella differenserna	18
4.2 Skillnader i de reella och absoluta differenserna	19
4.2.1 Kotled.....	19
4.2.2 Carpus	20
5. Diskussion	22
Referenser.....	25
Populärvetenskaplig sammanfattning	29
Tack	31
Bilaga 1.....	32

Förkortningar

ADAMTS	a disintegrin and metalloproteinase with trombospondin motifs
CE-MRI	kontrast magnetresonanstomografi
HE	hematoxylin och eosin
IL	interleukin
MMP	matrix metalloproteinas
OARSI	Osteoarthritis Research Society International
SD	standardavvikelse
SLU	Sveriges lantbruksuniversitet
ST	Sofia Tengstrand
TNF	tumör nekros faktor

1. Introduktion

Osteoartrit är en vanlig ledsjukdom hos häst (McIlwraith 2011) och kännetecknas kliniskt av bland annat hälta och stelhet (Caron 2011). Osteoartrit drabbar hela leden. Patologiska förändringar kan bland annat ses i ledbrösket, i det subchondrala benet samt i synovialmembranet (Scanzello & Goldring 2012). Inflammation i synovialmembranet eller synovit ses ofta i samband med osteoartrit hos häst (Ley *et al.* 2009).

Flera humana studier gjorda på knäleder har visat att synovitgraden varierar inom leden. I en histologisk studie utförd på patienter med olika ledsjukdomar påvisades mest inflammatoriska förändringar i områden nära ledbrösket i knäleden (Lindblad & Hedfors 1985). Roemer *et al.* (2010) konstaterade i sin tur att osteoartritrelaterad synovit i knäleden oftast påträffas i området kranialt om det främre korsbandet och suprapatellart. En annan humanstudie visade att de största histologiska variationerna i synoviten sågs i området för den infrapatellara fettkudden (Mussaway *et al.* 2022).

Trots denna variation i synovitgraden inom leden finns det brister i hur noggrant provtagningsstället anges i synovialmembranstudier gjorda på häst. Exempelvis finns det studier som inte anger något specifikt provtagningsställe (Kamm *et al.* 2010; Agreste *et al.* 2021). I en annan studie angavs enbart att biopsierna från synovialmembranet tagits i närheten av brosklesioner eller i områden som oftast är drabbade vid osteoartrit (Menarim *et al.* 2020).

Syftet med detta examensarbete var att vidare utreda om provtagningsstället har betydelse för den histologiska bedömningen av synovitgraden hos häst. Dessutom strävar arbetet efter att kartlägga om man riskerar att under- eller överskatta synovitgraden vid provtagning på andra ställen än dorsalt i leden. Den histologiska bedömningen utfördes enligt OARSIs riktlinjer för gradering av synoviopatier (McIlwraith *et al.* 2010).

2. Litteraturöversikt

2.1 Synovialmembranets normala uppbyggnad och funktion

Synovialleder är en ledtyp som ofta tillåter en betydande mängd rörelse mellan närliggande ben. Benändarna i synovialleder är täckta av hyalint brosk, bestående till största delen av ett proteoglykan- och kollagenrikt extracellulärt matrix. Matrix produceras av chondrocyter i brosket. Ledbrosket är avaskulärt och saknar nerver. Synovialleder omges av en ledkapsel, och hålrummet mellan benändarna fylls ut av en liten mängd ledvätska. Ledkapselns yttre lager består av fibrös vävnad, som begränsar ledens rörlighet och stabiliserar leden tillsammans med senor och ligament. Ledkapselns inre lager utgörs av ett synovialmembran. (Craig *et al.* 2016)

Synovialmembranet utlinjerar insidan av ledhålan, utom det vikt bärande ledbrosket, och återfinns även på insidan av senskidor och bursor. Synovialmembranet bildar villi, som är svåra att urskilja makroskopiskt i den friska leden. Histologiskt består membranet av två lager, intiman och subintiman. Subintiman byggs upp av lucker bindväv samt fettvävnad och övergår i ledkapselns fibrösa yttre del. Subintiman innehåller även rikligt med blod- och lymfkärl samt nerver. Intiman består i sin tur av 1-3 lager av synoviocyter. Dessa celler har ett mesenkymalt ursprung och därmed saknas ett basalmembran mellan intiman och subintiman. Synoviocyterna har en varierande morfologi och delas in i typ A och typ B synoviocyter. Typ A synoviocyterna är makrofagliknande celler med ursprung från benmärgen, medan typ B synoviocyterna i sin tur liknar fibroblaster. (Craig *et al.* 2016)

Synovialmembranet fungerar som ett semipermeabelt membran som upprätthåller kompositionen av ledvätskan (Scanzello & Goldring 2012; Craig *et al.* 2016). Det avaskulära ledbrosket är beroende av synovialmembranet samt av det subchondrala benet för näringstillförsel och avlägsnande av restprodukter (Scanzello & Goldring 2012). Mindre molekyler kan fritt passera genom synovialmembranet och kan därför vid behov avlägsnas från ledvätskan via lymfkärl och kapillärer (Craig *et al.* 2016). De två olika typerna av synoviocyter har olika uppgifter. De makrofagliknande typ A synoviocyterna kan fagocytera de

större partiklar som inte fritt kan diffundera. Typ B synoviocyterna som är fibroblastliknande producerar i sin tur viktiga matrix- och ledvätskekomponenter (Craig *et al.* 2016). Exempel på ledvätskekomponenter som produceras av celler i intiman är hyaluronsyra och glykoproteinet lubricin. Dessa molekyler minskar friktion mellan ledytorna, och därutöver minskar lubricin patologisk deponering av proteiner på ledytan (Scanzello & Goldring 2012).

2.2 Synovialmembranet och osteoartrit

Osteoartrit är en degenerativ ledsjukdom som kännetecknas av bland annat nedbrytning av ledbrosk och bildandet av osteofyter (Han *et al.* 2020). Tidigare har sjukdomen betraktats som en icke-inflammatorisk degenerativ ledsjukdom, men nu anses en lågradig inflammation spela en roll i patogenesen (Griffin & Scanzello 2019). Även om patogenesen inte är fullt klarlagd anses synovit vara en viktig del av sjukdomen (Han *et al.* 2020).

2.2.1 Synovialmembranets histologi vid osteoartrit

En humanstudie undersökte synovialmembranets histologiska utseende vid olika stadier av osteoartrit och beskrev förändringarna som hyperplastiska, inflammatoriska, fibrotiska eller detritus-rika synoviopatii (Oehler *et al.* 2002). Det hyperplastiska synovialmembranet kännetecknas av hyperplasi av villi och synoviocyter. Hyperplasi ses som den enda strukturella förändringen vid tidiga stadier av osteoartrit, men senare i sjukdomsförloppet ses hyperplasi i kombination med andra förändringar i synovialmembranet, till exempel fibros. Därutöver kan en mild till måttlig infiltration av lymfocyter ses; så väl plasmaceller som T- och B-celler. Dessutom kan en ökad mängd typ A synoviocyter med fagocyterande förmåga ses i intiman (Oehler *et al.* 2002). Författarna i studien beskrev också en detritus-rik synoviopati som kännetecknas av ben- och broskdebril samt en infiltration av neutrofiler och multinukleära jätteceller. Synoviten vid osteoartrit är även förknippad med en ökad angiogenes i synovialmembranet (Walsh *et al.* 2007).

2.2.2 Synovialmembranets komplexa roll i osteoartritpatogenesen

I följande avsnitt beskrivs synovialmembranets komplexa roll i osteoartritprocessen utifrån de celltyper och mediatorer som påvisats i studier gjorda på hästleder. Denna data stöds av studier gjorda både i musmodeller samt humanstudier. Däremot finns det en stor variation i hur noggrant provtagningsstället på synovialmembranet anges i de häststudier som presenteras nedan. Tre av studierna anger inget specifikt provtagningsställe (Kamm *et al.* 2010; Lee *et al.* 2013; Agreste *et al.* 2021), medan Menarim *et al.* (2020) anger att proverna från synovialmembranet tagits i närheten

av brosklesioner. Endast en av studierna definierar provtagningsstället med hjälp av provernas relation till olika benutskott på första falangen (McCoy *et al.* 2020).

De synoviala makrofagernas betydelse för osteoartrit har demonstrerats i flera studier. En studie gjord på hästar visade på ett synbart ökat uttryck av proinflammatoriska M1-makrofager samt ett signifikant ökat uttryck av samtliga mogna makrofager i synovialmembranet vid osteoartrit (Menarim *et al.* 2020). Författarna i studien menar dock att dessa makrofager sannolikt inte är av strikt anti- eller proinflammatorisk typ. Istället indikerar resultaten att makrofagerna i synovialmembranet är i ett stadie av hybridaktivering, det vill säga att makrofagerna verkar både anti- och proinflammatoriskt. Därutöver har en tidigare studie gjord på möss visat på att makrofager i synovialmembranet sannolikt bidrar till utvecklingen av tidiga broskskador vid osteoartrit genom en produktion av matrix metalloproteinaser (Blom *et al.* 2007). I en liknande studie såg man att frånvaro av makrofager i synovialmembranet signifikant minskade osteofytbildningen. Författarna kunde även visa på att makrofagerna påverkade mängden fibros och inflammatoriska celler i synovialmembranet (Blom *et al.* 2004).

Studier har även visat på ett ökat uttryck av proinflammatoriska cytokiner samt katabola enzymer i synovialmembranet vid osteoartrit. I en studie som tittade på genuttrycket i synovialmembranet vid osteoartrit hos häst fann författarna ett synbart ökat genuttryck för interleukin-1 β (IL-1 β) och ett signifikant ökat genuttryck för tumör nekros faktor- α (TNF- α) (Kamm *et al.* 2010). Dessutom har en humanstudie visat på en ökad mängd celler som producerar både TNF- α och IL-1 β i synovialmembranet under tidig osteoartrit (Benito *et al.* 2005). Dessa två proinflammatoriska cytokiner bidrar bland annat till nedbrytningen av ledbrosk vid osteoartrit (Wojdasiewicz *et al.* 2014). Exempelvis kan TNF- α och IL-1 β inducera chondrocyternas syntes av matrixnedbrytande enzymer samt hämma deras produktion av matrixkomponenter. TNF- α och IL-1 β har dessutom ofta en synergistisk effekt vid osteoartrit (Wojdasiewicz *et al.* 2014).

De ovannämnda proinflammatoriska cytokinerna TNF- α och IL- β kan stimulera chondrocyternas produktion av bland annat de matrixnedbrytande enzymerna matrix metalloproteinas-13 (MMP-13) och aggreganaset ADAMTS-4 (Wojdasiewicz *et al.* 2014). En studie gjord på hästleder visade på ett synbart ökat genuttryck av ADAMTS-4 samt ett signifikant ökat genuttryck av MMP-13 i synovialmembranet vid osteoartrit (Kamm *et al.* 2010). Dessutom beskrev författarna ett signifikant ökat genuttryck av ADAMTS-5. MMP-13 klyver bland annat kollagen typ II vilket leder till brosklesioner (Hu & Ecker 2021). Aggreganaserna ADAMTS-4 och ADAMTS-5 bryter ner broskmatrix-komponenten aggregan vid osteoartrit (Malfait *et al.* 2002) och en studie gjord på knock-out möss har visat att dessa enzymer påverkar progressionen av osteoartrit (Majumdar *et al.* 2007).

Synovialmembranet har dock inte enbart en katabol inverkan på vävnader i leden vid osteoartrit. Synovialmembranet kan påverka ledbrösket både negativt och positivt, då synoviocyterna genom en nedreglering av katabola enzymer kan ha en skyddande effekt på skadat ledbrösk (Lee *et al.* 2013). Dessutom kan synovialmembranet under tidig osteoartrit främja läkning och upprätthållande av homeostas (McCoy *et al.* 2020). En av mediatorerna som tros ha en anti-inflammatorisk och broskskyddande effekt vid osteoartrit är interleukin-10 (IL-10) (Wojdasiewicz *et al.* 2014). Analyser gjorda på förekomsten av denna cytokin i hästleder har dock visat motsägelsefulla resultat. En studie visade på ett minskat uttryck av IL-10 i synovialmembranet (Agrete *et al.* 2021), medan en annan visade på ett ökat uttryck av IL-10 (Menarim *et al.* 2020). Däremot visade båda ovannämnda studier på en minskad mängd IL-10 i ledvätskan. Den sänkta IL-10 koncentrationen i ledvätskan kan tyda på att de mekanismer som ska motverka vävnadsskador i leden är överväldigade vid osteoartrit (Menarim *et al.* 2020).

2.2.3 Synovialmembranets koppling till symptomen

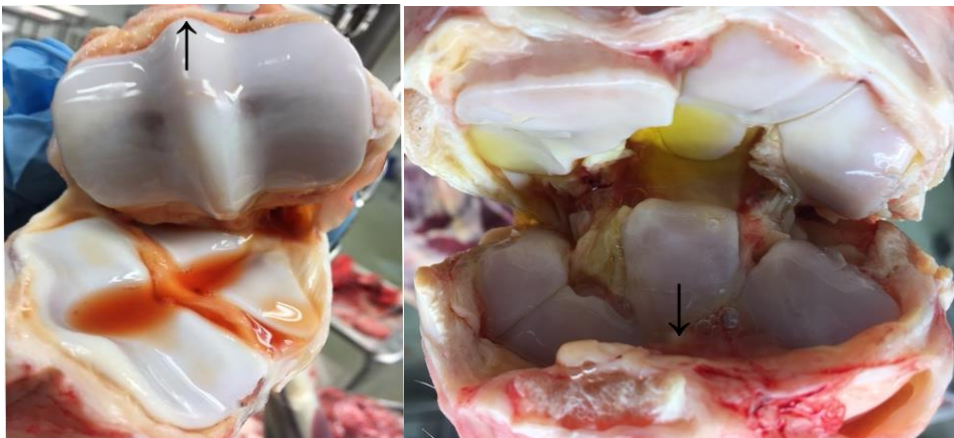
Humanstudier gjorda på knäleden har påvisat kopplingen mellan synovit och de symptom som uppstår vid osteoartrit. En studie som använde kontrast magnetresonanstomografi (CE-MRI) för att bedöma graden synovit visade att en ökning i graden av synovit var associerad med en försämring av knäledens funktion (Yang *et al.* 2021). Sambandet styrks av en tidigare studie, som lyfte fram att en måttligt till kraftig synovit ledde till upp till 40 % försämring i knäledens funktion (Sowers *et al.* 2011). Dessutom har flera studier kunnat påvisa ett samband mellan synovit och ledsmärta. Med hjälp av CE-MRI har en stark koppling mellan smärta och synovit påvisats och detta samband kunde ses till och med innan radiologiska tecken på osteoartrit (Baker *et al.* 2010). Yang *et al.* (2021) visade i sin tur att graden av smärta ökar tillsammans med graden av synovit. I samma studie lyfte författarna fram ett samband mellan smärta och synovit medialt i området runt menisken. Det vill säga smärtan var kopplad till ett visst område i leden.

I en studie som tittade på hästleder från slakterier sågs en koppling mellan innerveringen av synovialmembranets ytliga lager och graden av makroskopiska förändringar relaterade till osteoartrit (Pujol *et al.* 2018). Innerveringen minskade med ökad broskdegeneration. I en annan studie som undersökte människoleder med osteoartrit sågs att antalet nervfiber i synovialmembranets ytliga lager var negativt korrelerat till synovitgraden, det vill säga att antalet nervfibrer minskade med ökad synovitgrad (Eitner *et al.* 2013). Studien använde dock friska råttor och får som kontroller för människor med osteoartrit, vilket kan försvåra tolkningen av resultaten. I motsats till de två ovannämnda studierna visade en tidigare humanstudie en ökad mängd nervfibrer i synovialmembranet hos patienter med smärtsam osteoartrit (Saxler *et al.* 2007). Trots de motsägelsefulla resultaten menar både

Saxler *et al.* (2007) och Pujol *et al.* (2018) att förändringarna i innaveringen av synovialmembranet indikerar synovialmembranets roll i smärtan vid osteoartrit.

3. Material och metoder

I denna studie analyserades histologiska snitt av synovialmembran från hästleder. Proverna togs från 10 hästar som obducerades på SLU under våren 2022. Inklusionskriterierna för hästarna var att de skulle vara minst ett år gamla samt att avlivningen hade skett mindre än 12 timmar innan provtagningen. Däremot beaktades inte hästarnas avlivningsorsak eller underliggande sjukdomstillstånd. Proverna togs från en kotled och en intercarpalled på ett framben. Vilket framben som provtogs var slumpmässigt. Ledbrosket bedömdes makroskopiskt innan provtagning och en notering gjordes om slimpfårer eller andra lesioner sågs i ledbrosket eller om ledvätskan var okulärt förändrad. Baserat på den makroskopiska bedömningen klassades lederna som en led med förändringar eller en led utan förändringar. Därefter togs tre prover från varje led. Ett prov togs centralt från dorsalsidan av ledkapseln och de två andra proverna togs 1-2 centimeter lateralt respektive mediallyt från första provtagningsstället. Det vill säga det dorsala provet från kotleden togs i höjd med styrlisten på distala metacarpalbenet medan motsvarande prov i intercarpalleden togs mitt över intercarpalbenet C3 (figur 1). Proverna sattes fast med nålar på ett korkunderlag för att undvika en sammandragning av materialet och fixerades i 10 % buffrad formalinlösning i cirka 48 timmar. Ledkapselproverna snittades efter inbäddning i paraffin till en tjocklek av 4 μm och färgades med hematoxylin och eosin (HE).



Figur 1. Provtagningsställe för det dorsala provet i kotleden (vänster) respektive carpalleden (höger). Proximalt på benet är uppåt i bilden. Fotografier tagna av Matleena Rahkonen.

Tabell 1. Histopatologisk bedömning av synovialmembranet (McIlwraith et al. 2010)

Bedömningspunkt	Poäng	Beskrivning
Cellinfiltration	0	Inga mononukleära celler i snittet
	1	Enstaka små områden av mononukleära celler i snittet
	2	Lindrig förekomst av mononukleära celler i 25 % av snittet
	3	Måttlig förekomst av mononukleära celler i upp till 50 % av snittet
	4	Kraftig förekomst av mononukleära celler i mer än 50 % av snittet
Vaskularitet	0	Normal
	1	Mycket lindrig ökning av antalet kärl i fokala områden i snittet
	2	Lindrig ökning av antalet och dilatationen av kärl i fokala områden i snittet
	3	Måttlig ökning av antalet och dilatationen av kärl i upp till 50 % av snittet
	4	Kraftig ökning av antalet och dilatationen av kärl i mer än 50 % av snittet
Intimal hyperplasi	0	Ingen hyperplasi
	1	Villi med 2-4 rader av celler i intiman i snittet
	2	Villi med 4-5 rader av celler i intiman i 25-50 % av snittet
	3	Villi med 4-5 rader av celler i intiman i mer än 50 % av snittet
	4	Villi med 5 eller fler rader av celler i intiman i mer än 50 % av snittet
Subintimalt ödem	0	Inget ödem
	1	Mycket lindrigt ödem i snittet
	2	Lindrigt ödem i 25 % av snittet
	3	Måttligt ödem i 25-50 % av snittet
	4	Kraftigt ödem i mer än 50 % av snittet
Subintimal fibros	0	Normal
	1	Mycket lindrigt ökad fibros i snittet
	2	Lindrigt ökad fibros i 25 % av snittet
	3	Måttligt ökad fibros i 25-50 % av snittet
	4	Kraftigt ökad fibros i mer än 50 % av snittet

Den mikroskopiska bedömningen av synovialmembranet utfördes enligt OARSIs (Osteoarthritis Research Society International) histologiska graderingsystem för

synoviopatier (McIlwraith *et al.* 2010). Detta graderingssystem valdes för att det är utformat för bedömning av preparat från häst, samt för att resultaten skulle vara jämförbara med en tidigare studie (Kendall *et al.* 2022). Preparaten graderades med avseende på infiltration av inflammatoriska celler i synovialmembranet och intimal hyperplasi. Därutöver graderades även subintimalt ödem, fibros samt vaskularitet. Bedömningen utfördes blindat så att bedömaren inte var medveten om vare sig vilken individ eller vilken lokalisation provet tagits ifrån. Graderingarna utfördes enligt tabell 1. Initialt hade totalt fyra preparat, tre snitt från kotor samt ett snitt från carpus, för lite material för att kunna bedömas. Dessa prover bäddades och snittades om. Därefter graderades duplikatsnitten från varje område tillsammans för att få en ökad mängd material att bedöma. Snitten gavs sedan en gemensam poäng för varje bedömningspunkt.

3.1 Statistik

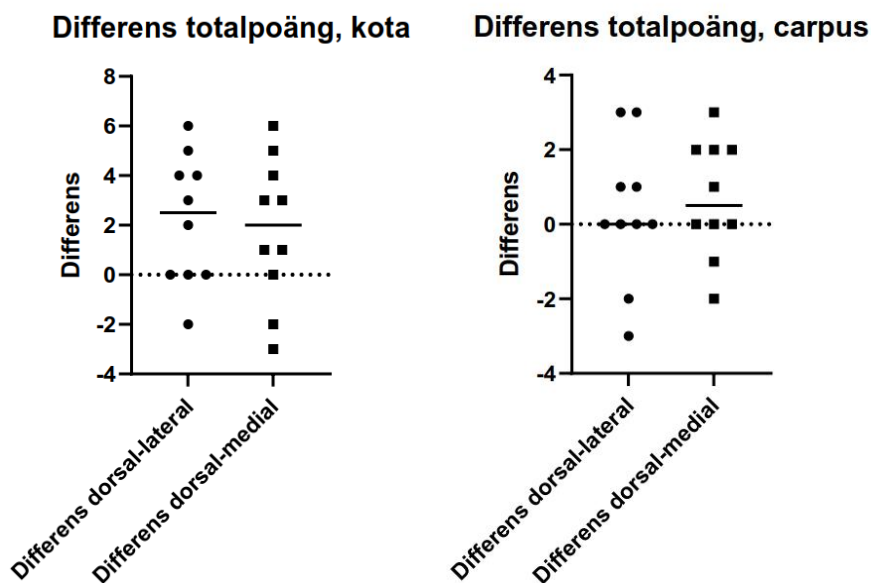
I de statistiska analyserna användes resultaten från de dorsala proverna som en referenspunkt mot vilka de laterala och mediala resultaten jämfördes. Detta uppnåddes genom att beräkna differenserna mellan den dorsala och den laterala respektive mediala totalpoängen inom samma led. Dessutom beräknades differenserna mellan dorsala och laterala samt dorsala och mediala delpoängen för varje bedömningspunkt inom samma led. Därutöver beräknades även de absoluta differenserna för samtliga punkter. För att bedöma om de reella och absoluta differenserna var signifikanta användes en mixed modell. Analysen utfördes med statistikprogrammet JMP Pro 16. Samtliga differenser antogs vara normalfördelade och därför bedömdes användning av en parametrisk metod lämplig. I modellen angavs häst som "random effect" och de laterala och mediala differenserna analyserades tillsammans, det vill säga skillnaden mellan dorsal och "all annan" provtagning jämfördes. Därutöver jämfördes de laterala och mediala reella differenserna med varandra med ett t-test i programmet GraphPad Prism 9. Detta gjordes för att se om det fanns signifikanta skillnader mellan sidorna. En signifikansnivå på 0,05 användes för samtliga analyser.

4. Resultat

I denna studie analyserades histologiska snitt från 10 hästar. Hästarna var mellan 1 och 24 år gamla (medelåldern 11 år). Raser som ingick i studien var islandshäst (3), varmbloodstravare (2), kallbloodstravare (1), New Forest (1), irländsk import (1) samt korsningshäst (1). Två leder från varje häst provtogs. Lederna delades in i leder med eller utan förändringar på basen av makroskopiska förändringar i ledbrösket och ledväskans utseende. Sammanlagt sågs makroskopiska förändringar i fem kotleder och i tre carpalleder. Information om makroskopiska förändringar i en av carpallederna noterades ej och saknas därför. Fördelningen mellan leder med eller utan förändringar samt rådata från den histologiska graderingen presenteras i bilaga 1.

4.1 Skillnad mellan de laterala och mediala reella differenserna

T-testerna där de laterala och mediala reella differenserna jämfördes med varandra påvisade inga signifikanta skillnader mellan sidorna (figur 2).

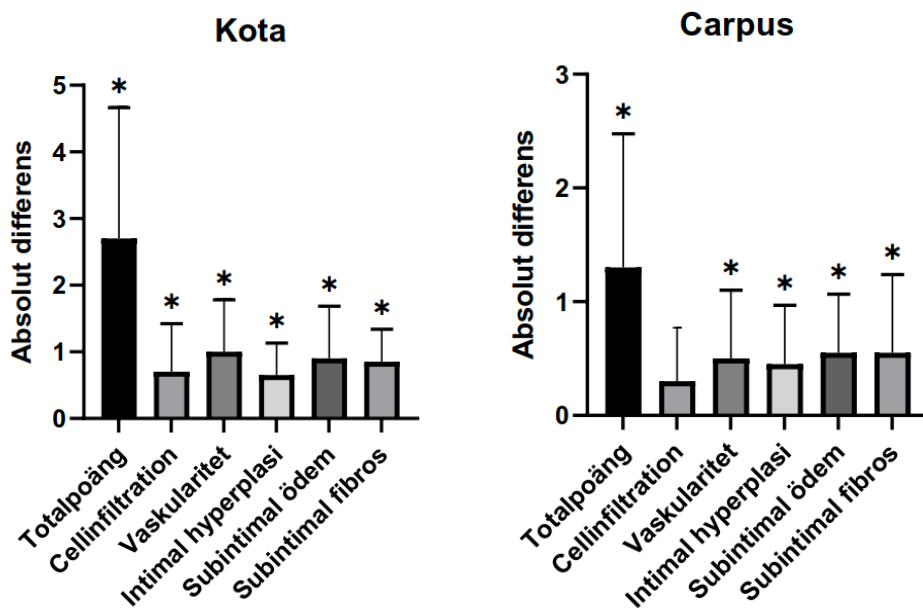


Figur 2. De laterala och mediala differenserna i totalpoängerna i kota samt carpus.

4.2 Skillnader i de reella och absoluta differenserna

4.2.1 Kotled

Då inga signifikanta skillnader kunde påvisas mellan de laterala och mediala differenserna, jämfördes de mediala och laterala proven tillsammans mot de dorsala. Analyserna av de reella differenserna i kotleden visade på en signifikant skillnad i totalpoängen och i bedömningen av fibros. Medelvärdet för de reella differenserna i totalpoängen i kotleden var 2 (95 % CI 0,44–3,56; $p=0,0178$). Det vill säga i snitt var totalpoängen för synovitgraden i kotleden 2 enheter lägre om provet togs lateralt eller mediallyt istället för dorsalt. Även graden fibros var lägre vid provtagning lateralt eller mediallyt, med ett medelvärde på 0,55 (95 % CI 0,12–0,98; $p=0,0174$) för reella differenserna i fibros. Dessutom visade analyserna av de absoluta differenserna i kotleden att bedömningarna för samtliga bedömningspunkter skilde sig mellan de dorsala respektive laterala och mediala provena. Exempelvis skilde uppskattningen av totalpoängen för synovitgraden sig i genomsnitt med 2,7 enheter (95 % CI 1,66–3,74; $p=0,0002$) mellan de dorsala respektive mediala och laterala provena. Resultaten från kotleden presenteras i tabell 2 samt figur 3 nedan.



Figur 3. Medelvärden för de absoluta differenserna i kotleden samt carpalleden. Error bar anger standardavvikelsen. *Statistiskt signifikanta differenser.

Tabell 2. Resultat kotled, *Statistiskt signifikanta differenser

Bedömningspunkt	Medelvärde differens	Konfidensintervall 95 %	p-värde
Reella differensen totalpoäng	2	0,44–3,56	0,0178*
Reella differensen cellinfiltration	0,4	– 0,25–1,05	0,1965
Reella differensen vaskularitet	0,4	– 0,39–1,19	0,2800
Reella differensen hyperplasi	0,05	– 0,52–0,62	0,8473
Reella differensen ödem	0,6	– 0,07–1,27	0,0735
Reella differensen fibros	0,55	0,12–0,98	0,0174*
Absoluta differensen totalpoäng	2,7	1,66–3,74	0,0002*
Absoluta differensen cellinfiltration	0,7	0,22–1,18	0,0095*
Absoluta differensen vaskularitet	1	0,55–1,45	0,0007*
Absoluta differensen hyperplasi	0,65	0,36–0,94	0,0007*
Absoluta differensen ödem	0,9	0,46–1,34	0,0012*
Absoluta differensen fibros	0,85	0,61–1,09	<0,0001*

4.2.2 Carpus

Inga signifikanta skillnader kunde påvisas för de reella differenserna i carpus. Däremot visade analyserna på signifikanta skillnader i de absoluta differenserna på samtliga bedömningspunkter utom cellinfiltration. Exempelvis skilde uppskattningen av totalpoängen för synovitgraden sig i carpus i genomsnitt med 1,3 enheter (95 % CI 0,56–2,03; $p=0,0032$) mellan de dorsala respektive laterala samt mediala proverna. Resultaten från carpus presenteras i tabell 3 samt figur 3.

Tabell 3. Resultat carpus, *Statistiskt signifikanta differenser

Bedömningspunkt	Medelvärde differens	Konfidensintervall 95 %	p-värde
Reella differensen totalpoäng	0,5	- 0,67-1,67	0,3582
Reella differensen cellinfiltration	0,2	- 0,15-0,55	0,2229
Reella differensen vaskularitet	- 0,2	- 0,74-0,34	0,4226
Reella differensen hyperplasi	0,05	- 0,41-0,51	0,8114
Reella differensen ödem	0,15	- 0,33-0,63	0,4961
Reella differensen fibros	0,35	- 0,13-0,83	0,1323
Absoluta differensen totalpoäng	1,3	0,56-2,04	0,0032*
Absoluta differensen cellinfiltration	0,3	- 0,002-0,60	0,0510
Absoluta differensen vaskularitet	0,5	0,09-0,91	0,0229*
Absoluta differensen hyperplasi	0,45	0,14-0,76	0,0100*
Absoluta differensen ödem	0,55	0,29-0,81	0,0011*
Absoluta differensen fibros	0,55	0,19-0,91	0,0067*

5. Diskussion

Syftet med detta examensarbete var att utreda om provtagningsstället påverkar den histologiska bedömningen av synovitgraden i hästleder. Dessutom klarlades i vilken riktning bedömningen påverkades, det vill säga om poängsättningen blev högre eller lägre, om provet togs på andra ställen än dorsalt i ledkapseln.

Tidigare humanstudier har visat på en variation i synovitgraden i knäleden beroende på var i leden bedömningen sker (Roemer *et al.* 2010; Mussawy *et al.* 2022). Resultaten i detta arbete överensstämmer med dessa studier och påvisar en intraartikulär variation i den histologiska synovitgraden både i kotled och i carpalled hos häst. När tre olika provtagningsställen jämfördes sågs de största variationerna i den sammanräknade totalpoängen i både kota och carpus. Exempelvis visar resultaten att totalpoängen för synovitgraden var i genomsnitt 2 enheter lägre vid provtagning på andra ställen än dorsalt i kotleden. Dessutom kunde en variation mellan de enskilda bedömningspunkterna, exempelvis mängden fibros, ses när de mediala och laterala proverna jämfördes med de dorsala.

Orsaken till denna variation i synovitgraden är oklar. Lokala skador i omgivande vävnader eller eventuella skillnader i cell- eller matrixkompositionen kan påverka uppkomsten av synovit, men dessutom kan biomekaniska krafter i leden spela en roll (Scanzello & Goldring 2012). Ledens rörelsemönster påverkar sannolikt de biomekaniska krafter som ledkapseln utsätts för i olika delar av leden. Detta lär även ha en inverkan på synovialmembranets struktur. Exempelvis har hästens kota och carpus en begränsad lateromedial rörlighet. Därmed är ledkapseln troligen mera fibrös medialt och lateralt för att stabilisera leden tillsammans med olika ligament. Dessutom visar resultaten i detta arbete att totalpoängen för synovitgraden är som högst vid bedömning dorsalt i kotleden, men ett liknande samband kunde inte visas för carpalleden. Även denna skillnad kan kanske förklaras av ledernas rörelsemönster, då kotan utsätts för både flexion och extension medan carpus främst utsätts för flexion. Detta betyder att de dorsala delarna av ledkapseln i kotan utsätts för både uttänjning och kompression under ledens normala rörelser, medan de dorsala delarna av ledkapseln i carpus främst utsätts för en uttänjning.

Ursprungligen var en av frågeställningarna i detta arbete om provtagningsstället kan påverka om en led klassas som frisk eller sjuk. Därför bedömdes samtliga leder som ingick i studien på basen av makroskopiska förändringar i ledbrusket. För att korrekt kunna klassa en led som frisk eller sjuk krävs dock mer information.

Lederna bedömdes exempelvis inte på basen av makroskopiska förändringar i synovialmembranet. Dessutom var information gällande hästarnas ledhälsa innan avlivning bristande. Hästarna som ingick i studien bedömdes inte i rörelse innan avlivning, vilket leder till att information om hältor saknades. Däremot avlivades ingen av hästarna på grund av hältproblematik. Sammantaget ledde den bristande informationen till att lederna inte kunde delas in i friska och sjuka grupper med tillräckligt stor säkerhet och därmed kan den ovannämnda frågeställningen inte besvaras i denna studie.

Kendall *et al.* (2022) visade på att det fanns en signifikant skillnad i totalpoängen för den histologiska synovitgraden mellan friska och sjuka hästleder. De friska lederna i studien hade en totalpoäng under fem, medan de leder som bedömdes ha osteoartrit hade en totalpoäng över fem. Å andra sidan visar resultaten i detta examensarbete att totalpoängen för synovitgraden kan variera i genomsnitt 2,7 enheter i kotan eller 1,3 enheter i carpus beroende på var i leden provet tagits. Detta kan antyda att det finns en risk för felklassning av leder som friska eller sjuka, om den histologiska bedömningen av synovialmembranet används som enda parameter för klassificeringen. För att vidare utreda provtagningsställets betydelse för bedömningen av ledhälsan krävs fler studier.

En av utmaningarna i detta arbete var att synoviocyterna i intiman var svåra att bedöma. I många av preparaten sågs ett lager av tunna, spolformade celler som utlinjerade villi, istället för de kubiska eller cylindriska synoviocyterna som beskrevs av Oehler *et al.* (2002). Dessa tunna celler bedömdes dock vara synoviocyter baserat på deras lokalisering. Eftersom dessa celler endast bildade ett enkelt lager bedömdes det inte föreligga någon hyperplasi av intiman, baserat på det graderingssystem som använts i detta arbete (McIlwraith *et al.* 2010). Dessutom fanns det ställvis områden där synovialmembranet saknade utlinjerande celler mot ledhålan, vilket skulle kunna tillskrivas en postmortal avlossning av intiman. Den ovan beskrivna morfologin sågs både i preparat med höga och i preparat med låga totalpoäng för synovitgraden.

I en studie av Agreste *et al.* (2021) har dock ett likartat utseende beskrivits. I denna studie togs biopsierna via artroskopi på levande hästar. Agreste *et al.* (2021) menar att synovialmembranet från hästarna med osteoartrit uppvisade en långtgående degeneration som ledde till en morfologisk förändring hos synoviocyterna. Författarna beskriver att vissa preparat innehöll endast få synoviocyter och att dessa celler inte låg organiserade i lager. Synoviocyterna hade ett tillplattat utseende som påminde om mogna fibrocyter och ställvis försvann cellerna helt och hållet. Eftersom denna typ av morfologiska förändringar inte fanns med i graderingen som användes i detta examensarbete är det inte något som tagits hänsyn till. Det skulle dock kunna betyda att de förändringar som sågs i intiman egentligen representerade en mer avancerad degeneration av synovialmembranet. Oberoende om utseendet i intiman orsakats av en postmortal förändring eller en långtgående sjukdomsprocess

finns det en risk för att utseendet av synoviocyterna ledde till en felskattning av den egentliga synovitgraden. Därmed skulle det vara fördelaktigt med vidare studier om hur reaktionen i intiman förändras över tid och att graderingen av intimal hyperplasi vid synovit revideras vid behov.

Det finns även en risk att resultaten i detta arbete skulle kunna ha påverkats av att de histologiska bedömningar som gjordes förändrades under arbetets gång. För att minimera risken för bias i bedömningen, graderades ett antal snitt av en annan bedömare (ST) och dessa resultat jämfördes med tidigare resultat. En avvikelse på en enhet mellan bedömare tolererades per bedömningspunkt. Dessutom graderades en del preparat två gånger för att se att bedömningarna inte förändrats under arbetets gång. Samtliga snitt var kodade och identiteten var okänd för bedömaren, för att förhindra att bedömningen påverkades av vetskapen att preparaten kom från samma häst. Resultaten kan även ha påverkats av att de olika preparaten hade varierande mängd material som gick att bedöma. De fyra preparat som innehöll lite material bäddades om och snittades om. Duplikatsnitten från varje preparat graderades tillsammans, enligt avsnittet Material och metoder.

Sammanfattningsvis visar detta examensarbete på en variation i synovitgraden mellan olika provtagningsställen inom kotleden och carpalleden hos häst. Denna variation kan eventuellt leda till att studier som undersöker olika förändringar i synovialmembranet i samband med osteoartrit riskerar att få missvisande resultat om provtagningen inte standardiseras mellan individer. Dessutom kan variationen i synovitgrad i kombination med att det finns brister i hur väl studier anger provtagningsstället eventuellt leda till att forskningsresultat blir mindre reproducerbara och jämförbara mellan studier. Fler studier behövs för att utreda betydelsen av den intraartikulära variationen i synoviten, men klart är att provtagningsställe alltid bör standardiseras och anges.

Referenser

- Agreste, F.R., Moreira, J.J., Fülber, J., Bogossian, P.M., Chaible, L.M., Silva, L.C.L.C., Michelacci, Y.M. & Baccarin, R.Y.A. (2021). Arthroscopic evaluation of the synovial membrane and its relationship with histological changes and biomarkers in equine joint disease. *Research in Veterinary Science*, 140, 212–220. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.09.003>
- Baker, K., Grainger, A., Niu, J., Clancy, M., Guermazi, A., Crema, M., Hughes, L., Buckwalter, J., Wooley, A., Nevitt, M. & Felson, D.T. (2010). Relation of synovitis to knee pain using contrast-enhanced MRIs. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 69 (10), 1779–1783. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.121426>
- Benito, M.J., Veale, D.J., FitzGerald, O., van den Berg, W.B. & Bresnihan, B. (2005). Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 64 (9), 1263–1267. <https://doi.org/10.1136/ard.2004.025270>
- Blom, A.B., van Lent, P.L., Libregts, S., Holthuysen, A.E., van der Kraan, P.M., van Rooijen, N. & van den Berg, W.B. (2007). Crucial role of macrophages in matrix metalloproteinase-mediated cartilage destruction during experimental osteoarthritis: involvement of matrix metalloproteinase 3. *Arthritis and Rheumatism*, 56 (1), 147–157. <https://doi.org/10.1002/art.22337>
- Blom, A.B., van Lent, P.L.E.M., Holthuysen, A.E.M., van der Kraan, P.M., Roth, J., van Rooijen, N. & van den Berg, W.B. (2004). Synovial lining macrophages mediate osteophyte formation during experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 12 (8), 627–635. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2004.03.003>
- Caron, J.P. (2011). Chapter 61 - Osteoarthritis. I: Ross, M.W. & Dyson, S.J. (red.) *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. 2nd ed., Saint Louis: W.B. Saunders. 655–668. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-6069-7.00061-4>
- Craig, L.E., Dittmer, K.E. & Thompson, K.G. (2016). Chapter 2 - Bones and Joints. I: Maxie, M.G. (red.) *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 1*. 6th ed., W.B. Saunders. 16-163.e1. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-5317-7.00002-3>
- Eitner, A., Pester, J., Nietzsche, S., Hofmann, G.O. & Schaible, H.-G. (2013). The innervation of synovium of human osteoarthritic joints in comparison with normal rat and sheep synovium. *Osteoarthritis and Cartilage*, 21 (9), 1383–1391. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2013.06.018>

- Griffin, T.M. & Scanzello, C.R. (2019). Innate inflammation and synovial macrophages in osteoarthritis pathophysiology. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 37 Suppl 120 (5), 57–63
- Han, D., Fang, Y., Tan, X., Jiang, H., Gong, X., Wang, X., Hong, W., Tu, J. & Wei, W. (2020). The emerging role of fibroblast-like synoviocytes-mediated synovitis in osteoarthritis: An update. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 24 (17), 9518–9532. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15669>
- Hu, Q. & Ecker, M. (2021). Overview of MMP-13 as a promising target for the treatment of osteoarthritis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (4), 1742. <https://doi.org/10.3390/ijms22041742>
- Kamm, J.L., Nixon, A.J. & Witte, T.H. (2010). Cytokine and catabolic enzyme expression in synovium, synovial fluid and articular cartilage of naturally osteoarthritic equine carpi. *Equine Veterinary Journal*, 42 (8), 693–699. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.00140.x>
- Kendall, A., Ekman, S. & Skiöldebrand, E. (2022). Nerve growth factor receptors in equine synovial membranes vary with osteoarthritic disease severity. *Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society*,. <https://doi.org/10.1002/jor.25382>
- Lee, C.M., Kisiday, J.D., McIlwraith, C.W., Grodzinsky, A.J. & Frisbie, D.D. (2013). Synoviocytes protect cartilage from the effects of injury in vitro. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 14, 54. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-14-54>
- Ley, C., Ekman, S., Ronéus, B. & Eloranta, M.-L. (2009). Interleukin-6 and high mobility group box protein-1 in synovial membranes and osteochondral fragments in equine osteoarthritis. *Research in Veterinary Science*, 86 (3), 490–497. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.10.008>
- Lindblad, S. & Hedfors, E. (1985). Intraarticular variation in synovitis. Local macroscopic and microscopic signs of inflammatory activity are significantly correlated. *Arthritis and Rheumatism*, 28 (9), 977–986. <https://doi.org/10.1002/art.1780280904>
- Majumdar, M.K., Askew, R., Schelling, S., Stedman, N., Blanchet, T., Hopkins, B., Morris, E.A. & Glasson, S.S. (2007). Double-knockout of ADAMTS-4 and ADAMTS-5 in mice results in physiologically normal animals and prevents the progression of osteoarthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 56 (11), 3670–3674. <https://doi.org/10.1002/art.23027>
- Malfait, A.-M., Liu, R.-Q., Ijiri, K., Komiya, S. & Tortorella, M.D. (2002). Inhibition of ADAM-TS4 and ADAM-TS5 prevents aggrecan degradation in osteoarthritic cartilage. *The Journal of Biological Chemistry*, 277 (25), 22201–22208. <https://doi.org/10.1074/jbc.M200431200>
- McCoy, A.M., Kemper, A.M., Boyce, M.K., Brown, M.P. & Trumble, T.N. (2020). Differential gene expression analysis reveals pathways important in early post-traumatic osteoarthritis in an equine model. *BMC Genomics*, 21 (1), 843. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-07228-z>

- McIlwraith, C.W. (2011). Chapter 84 - Principles and Practices of Joint Disease Treatment. I: Ross, M.W. & Dyson, S.J. (red.) *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. 2nd ed., Saint Louis: W.B. Saunders. 840–852.
<https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-6069-7.00084-5>
- McIlwraith, C.W., Frisbie, D.D., Kawcak, C.E., Fuller, C.J., Hurtig, M. & Cruz, A. (2010). The OARSI histopathology initiative – recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the horse. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18, S93–S105.
<https://doi.org/10.1016/j.joca.2010.05.031>
- Menarim, B.C., Gillis, K.H., Oliver, A., Ngo, Y., Werre, S.R., Barrett, S.H., Rodgerson, D.H. & Dahlgren, L.A. (2020). Macrophage activation in the synovium of healthy and osteoarthritic equine joints. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 568756.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2020.568756>
- Mussawy, H., Zustin, J., Luebke, A.M., Strahl, A., Krenn, V., Rütter, W. & Rolvien, T. (2022). The histopathological synovitis score is influenced by biopsy location in patients with knee osteoarthritis. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*, 142 (11), 2991–2997. <https://doi.org/10.1007/s00402-021-03889-x>
- Oehler, S., Neureiter, D., Meyer-Scholten, C. & Aigner, T. (2002). Subtyping of osteoarthritic synoviopathy. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 20 (5), 633–640
- Pujol, R., Girard, C.A., Richard, H., Hassanpour, I., Binette, M.P., Beauchamp, G., McDougall, J.J. & Laverty, S. (2018). Synovial nerve fiber density decreases with naturally-occurring osteoarthritis in horses. *Osteoarthritis and Cartilage*, 26 (10), 1379–1388. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2018.06.006>
- Roemer, F.W., Kassim Javaid, M., Guermazi, A., Thomas, M., Kiran, A., Keen, R., King, L. & Arden, N.K. (2010). Anatomical distribution of synovitis in knee osteoarthritis and its association with joint effusion assessed on non-enhanced and contrast-enhanced MRI. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18 (10), 1269–1274.
<https://doi.org/10.1016/j.joca.2010.07.008>
- Saxler, G., Löer, F., Skumavc, M., Pfortner, J. & Hanesch, U. (2007). Localization of SP- and CGRP-immunopositive nerve fibers in the hip joint of patients with painful osteoarthritis and of patients with painless failed total hip arthroplasties. *European Journal of Pain (London, England)*, 11 (1), 67–74.
<https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2005.12.011>
- Scanzello, C.R. & Goldring, S.R. (2012). The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis. *Bone*, 51 (2), 249–257. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2012.02.012>
- Sowers, M., Karvonen-Gutierrez, C.A., Jacobson, J.A., Jiang, Y. & Yosef, M. (2011). Associations of anatomical measures from MRI with radiographically defined knee osteoarthritis score, pain, and physical functioning. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume*, 93 (3), 241–251. <https://doi.org/10.2106/JBJS.I.00667>
- Walsh, D.A., Bonnet, C.S., Turner, E.L., Wilson, D., Situ, M. & McWilliams, D.F. (2007). Angiogenesis in the synovium and at the osteochondral junction in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 15 (7), 743–751.
<https://doi.org/10.1016/j.joca.2007.01.020>

- Wojdasiewicz, P., Poniatowski, Ł.A. & Szukiewicz, D. (2014). The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediators of Inflammation*, 2014, 561459. <https://doi.org/10.1155/2014/561459>
- Yang, X., Thudium, C.S., Bay-Jensen, A.-C., Karsdal, M.A., van Santen, J., Arden, N.K., Perry, T.A. & Kluzek, S. (2021). Association between markers of synovial inflammation, matrix turnover and symptoms in knee osteoarthritis: A cross-sectional study. *Cells*, 10 (7), 1826. <https://doi.org/10.3390/cells10071826>

Populärvetenskaplig sammanfattning

Osteoartrit, även kallad artros, är en vanlig orsak till hälta hos häst. Denna ledsjukdom påverkar hela leden och leder bland annat till nedbrytning av ledbrosket. De flesta leder omges av en ledkapsel och har en vätskefylld ledhåla. Det innersta lagret av ledkapseln består av ledhinnan (synovialmembranet). Synovialmembranet bidrar till näringsförsörjningen av ledbrosket och bildar smörjande ämnen till ledvätskan för att minska friktion vid rörelse.

Uppkomstmekanismen för osteoartrit är inte fullständigt klarlagd, men en inflammation i synovialmembranet (synovit) tros spela roll för sjukdomens utveckling och den associerade smärtan. Inflammatoriska celler i synovialmembranet har kopplats till nedbrytningen av ledbrosket samt bildningen av benpålagringar vid osteoartrit. Synovialmembranet innehåller även inflammatoriska signalmolekyler och nedbrytande enzymer vid osteoartrit. Å andra sidan kan synovialmembranet också ha en skyddande roll och under tidigt sjukdomsförlopp främja läkning av skadat ledbrosk.

Studier gjorda på människor har visat att synovitgraden varierar inom leden. Trots detta är det vanligt att man i studier inte beskriver var i leden provet tagits. Om provtagningen inte standardiseras riskerar man få missvisande resultat. Dessutom finns det en risk att resultaten inte blir jämförbara mellan olika arbeten. I examensarbetet undersöktes om provtagningsstället påverkar bedömningen av synovitgraden även hos häst.

För undersökningen samlades material från 10 hästar som obducerats på SLU. Tre prover togs från både kot- och carpalleden på varje häst, ett mitt fram på ledkapseln och två prover cirka två centimeter till höger respektive vänster om denna. Dessa prover undersöktes med mikroskop och synovitgraden graderades på basen av fem bedömningspunkter. Dessa bedömningspunkter inkluderade exempelvis mängden ärrvävnad och mängden inflammatoriska celler i vävnaden. Därefter jämfördes de tre proverna från samma led med varandra, för att se om någon skillnad kunde ses i totalpoängen för synovit eller i delpoängerna för varje bedömningspunkt.

Resultaten i examensarbetet visar att provtagningsstället påverkade bedömningen av synovit hos häst. Till exempel blev synovitgraden i kotleden lägre om provet togs på annat ställe än mitt över ledens framsida. I carpalleden sågs en

skillnad i totalpoängen för synovitgraden mellan provet som tagits på framsidan och de två andra proverna från samma led.

Sammanfattningsvis har provtagningsstället i leden betydelse för den mikroskopiska bedömningen av hästens ledkapsel. Fler studier behövs för att utreda om även celltyper eller signalsubstanser i vävnaden skiljer sig mellan olika lokalisationer i ledkapseln. Examensarbetet visar på vikten av att i forskningsprotokollet tydligt ange var i leden vävnadsproverna tagits.

Tack

Tack till alla som har hjälpt till med mitt examensarbete och visat mig vikten av en riktigt bra fikapaus. Speciellt stort tack till mina handledare för all tid och stöd!

- Anna Kendall, handledare
- Sofia Tengstrand, biträdande handledare
- Karin Vargmar, examinator
- Peder Eriksson, obduktionstekniker
- Vidar Skullerud, biomedicinsk analytiker på histologilaboratoriet
- Albin Norman, biomedicinsk analytiker på histologilaboratoriet

Bilaga 1

Klassificering av lederna och gradering av de histologiska snitten

Häst	Makro. förändringar (+/-)	Led	Prov	Total	Infiltra- tion	Vasku- laritet	Hyper- plasi	Ödem	Fibros
1	-	Kota	Dors	8	2	3	1	0	2
1	-	Kota	Lat	6	0	2	1	1	2
1	-	Kota	Med	2	0	0	1	0	1
1	-	Carpus	Dors	7	1	2	1	1	2
1	-	Carpus	Lat	7	1	2	1	0	3
1	-	Carpus	Med	5	1	1	1	1	1
2	-	Kota	Dors	10	1	3	0	3	3
2	-	Kota	Lat	10	1	3	1	3	2
2	-	Kota	Med	7	1	3	0	1	2
2	-	Carpus	Dors	9	2	2	0	3	2
2	-	Carpus	Lat	8	1	3	0	2	2
2	-	Carpus	Med	9	1	3	1	2	2
3	+	Kota	Dors	3	0	0	0	1	2
3	+	Kota	Lat	3	1	1	0	0	1
3	+	Kota	Med	5	1	1	1	0	2
3	+	Carpus	Dors	7	1	2	1	1	2
3	+	Carpus	Lat	7	1	2	1	1	2
3	+	Carpus	Med	7	1	2	1	1	2
4	-	Kota	Dors	12	2	3	1	3	3
4	-	Kota	Lat	8	1	3	0	2	2
4	-	Kota	Med	7	1	3	0	1	2
4	-	Carpus	Dors	11	2	3	1	2	3
4	-	Carpus	Lat	8	1	3	0	1	3
4	-	Carpus	Med	8	1	3	0	2	2
5	-	Kota	Dors	5	1	1	0	0	3
5	-	Kota	Lat	7	2	3	0	0	2
5	-	Kota	Med	5	1	2	0	0	2
5	*	Carpus	Dors	7	1	2	0	0	4
5	*	Carpus	Lat	7	1	2	0	1	3
5	*	Carpus	Med	6	1	2	1	0	2
6	-	Kota	Dors	5	1	1	0	1	2
6	-	Kota	Lat	2	0	0	1	0	1
6	-	Kota	Med	8	1	2	1	1	3

6	-	Carpus	Dors	7	1	3	0	1	2
6	-	Carpus	Lat	6	1	2	0	1	2
6	-	Carpus	Med	5	1	2	0	0	2
7	+	Kota	Dors	9	2	3	0	2	2
7	+	Kota	Lat	4	1	1	1	0	1
7	+	Kota	Med	8	2	3	1	0	2
7	+	Carpus	Dors	8	2	2	0	1	3
7	+	Carpus	Lat	10	3	3	0	1	3
7	+	Carpus	Med	8	2	3	0	2	1
8	+	Kota	Dors	6	1	2	1	0	2
8	+	Kota	Lat	6	1	1	0	1	3
8	+	Kota	Med	3	1	1	0	0	1
8	+	Carpus	Dors	7	1	1	1	2	2
8	+	Carpus	Lat	7	1	3	0	1	2
8	+	Carpus	Med	8	1	2	1	1	3
9	+	Kota	Dors	9	1	2	1	2	3
9	+	Kota	Lat	3	1	1	0	0	1
9	+	Kota	Med	5	1	1	0	1	2
9	-	Carpus	Dors	8	1	2	1	1	3
9	-	Carpus	Lat	5	0	2	0	1	2
9	-	Carpus	Med	6	1	2	0	1	2
10	+	Kota	Dors	6	2	2	1	0	1
10	+	Kota	Lat	2	0	0	0	0	2
10	+	Kota	Med	5	1	1	1	1	1
10	-	Carpus	Dors	5	1	2	0	0	2
10	-	Carpus	Lat	8	1	2	1	1	3
10	-	Carpus	Med	7	1	2	1	1	2

*Information saknas

Makro. förändringar: Makroskopiska förändringar i ledbrösket

Dors: dorsalt, Lat: lateralt, Med: mediant provtagningsställe i ledkapseln

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. **Som student äger du upphovsrätten** till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Även om du inte publicerar fulltexten kommer den arkiveras digitalt. Om fler än en person har skrivit arbetet gäller krysset för samtliga författare. Läs om SLU:s publiceringsavtal här:

- <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

JA, jag ger härmed min tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag ger inte min tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.