



Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

## **Hur ålder och osteoartrit påverkar aggrekanomsättningen i artikulära brosket hos häst**

*Elin Dahllöv*



---

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012: 66

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2012

---





Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

## **Hur ålder och osteoartrit påverkar aggreganomsättningen i artikulära brosket hos häst**

How age and osteoarthritis affect aggregan turnover in articular cartilage in horses

*Elin Dahllöv*

**Handledare:**

Eva Skiöldebrand, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Examinator:**

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Omfattning:** 15 hp

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** EX0700

**Program:** Veterinärprogrammet

**Nivå:** Grund, G2E

**Utgivningsort:** SLU Uppsala

**Utgivningsår:** 2012

**Omslagsbild:** Elin Dahllöv

**Serienamn, delnr:** Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012:66  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

**On-line publicering:** <http://epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** Aggregan, artikulärt brosk, proteoglykaner, osteoartrit, åldrande, katabolism

**Key words:** Aggregan, articular cartilage, proteoglycan, osteoarthritis, ageing, catabolism



## **INNEHÅLLSFÖRTECKNING**

<b>SAMMANFATTNING .....</b>	<b>1</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>2</b>
<b>INLEDNING.....</b>	<b>3</b>
<b>MATERIAL OCH METODER .....</b>	<b>3</b>
<b>LITTERATURÖVERSIKT .....</b>	<b>4</b>
<b>Ledens anatomi och fysiologi.....</b>	<b>4</b>
Ledkapsel.....	4
Synovialvätska.....	5
Subkondralt ben.....	5
Artikulärt brosk.....	5
Proteoglykaner.....	6
Kollagen .....	7
<b>Osteoartrit (OA).....</b>	<b>7</b>
<b>Artikulärt brosk – regeneration.....</b>	<b>8</b>
<b>Åldersrelaterad nedbrytning av aggrecan .....</b>	<b>9</b>
<b>Aggrecan nedbrytning till följd av OA: .....</b>	<b>9</b>
<b>Potentiella biomarkörer .....</b>	<b>10</b>
<b>DISKUSSION .....</b>	<b>12</b>
<b>REFERENSLISTA .....</b>	<b>13</b>



## **SAMMANFATTNING**

Hälta orsakat av osteoartrit (OA) är ett vanligt problem hos våra hästar. Vid OA ses broskdegeneration, benskleros, synovit och osteofyter. Nedbrytning av brosk ger ett försämrat brosk som är mer känsligt för belastning.

Synovialleden är uppbyggd av många unika strukturer med specifika funktioner. Ledens huvudfunktioner är att möjliggöra rörlighet och att fördela det tryck som uppstår vid belastning. Ledkapseln omsluter hela leden och består av 2 lager, ett inre synovialmembran (ledhinna) och en yttre fibrös kapsel. Synovialvätskan smörjer leden och minskar risk för friktion. Ledbrosket består av celler (kondrocyter) och extracellulärt matrix som bidrar till broskets specifika vävnadstyp vars huvudkomponenter är kollagen typ II, proteoglykaner, glykoproteiner och vatten. Kondrocyterna producerar det extracellulära matrixet och normalt sker en balans mellan nysyntes och nedbrytning av molekyler. Kollagen består främst av kollagen typ II och bildar ett nätverk som ger broskets sin draghållfasthet. Aggrekan är den vanligaste förekommande proteoglykanen (PG) och består av en central proteinkedja och flera sidokedjor med glykosaminoglykaner bestående av kondroitinsulfat och keratansulfat. Sidokedjorna på aggrekanmolekylen drar till sig vatten vilket leder till ett svällnadstryck i brosket som bidrar till broskets förmåga att motstå belastning. Det subkondrala benet finns under det artikulära brosket och bidrar med stabilitet.

Det är viktigt att skilja mellan åldersrelaterade förändringar i det artikulära brosket med förändringar till följd av OA. I friska leder sker ständigt förnyelse av brosket under hela djurets livstid. Det krävs en viss mängd belastning för att stimulera till nybildning av brosk. Skador på brosket uppkommer när leden utsätts för högt skadligt tryck. Vid stigande ålder förblir koncentrationen av aggrekan och glykosaminoglykaner (GAGs) relativt konstant. Aggrekanaser är de enzymer som huvudsakligen bryter ner aggrekanmolekylen men även matrix metalloproteinaser (MMPs) roll i aggrekandebrytningen har diskuterats. Normalt sätt sker hela tiden en balans mellan nedbrytning och nysyntes av aggrekanmolekylerna men vid ökad ålder syntetiseras fler molekyler med heterogen storlek. Vid OA produceras pro-inflammatoriska cytokiner som aktiverar nedbrytning av aggrekan.

Aggrekanaser och MMPs är aktiva under både åldersrelaterad nedbrytning av aggrekan och nedbrytning på grund av OA. Den stora skillnaden är att åldersrelaterad aggrekanregeneration stimuleras främst av att kondrocyterna aktiveras genom signaler från omkringliggande vävnader vilket leder till att aggrekansyntesen ökar. Medan aggrekandegeneration till följd av OA beror på en ökad aktivering av pro-inflammatoriska cytokiner vilket bidrar till att mer aggrekan bryts ner än de som kondrocyterna hinner syntetisera. På så sätt uppstår en obalans i metabolismen av aggrekan. Nedbrytningen av aggrekan resulterar i fragmentering av molekylen som sedan kan detekteras i ledvätska och serum med hjälp av Enzymkopplad immunadsorberande analys (ELISA) hos häst.

## **SUMMARY**

Lameness caused by osteoarthritis (OA) is a common problem in horses. Cartilage degeneration, bone sclerosis, synovitis and osteophytes are seen in OA. Degradation of cartilage gives an impaired cartilage which is more susceptible to stress.

Synovial joints are composed of many different structures with specific functions. Main function of the joint is to facilitate mobility and to distribute the pressure that is created during motion. The joint capsule encloses the joint and is composed of two layers, an inner synovial membrane and an outer fibrous capsule. The synovial fluid lubricates the joint and reduces the risk of friction. The articular cartilage is composed of cells (chondrocytes) and extracellular matrix; main components are collagen type II, proteoglycans, glycoproteins and water. The chondrocytes produce the extracellular matrix. Normally occurs a balance between newly synthesised and degradation of the molecules. Collagen is composed mainly of collagen type II and forms a network that gives the cartilage its tensile strength. Aggrecan is the most abundant proteoglycan (PG) and consists of a central protein chain of several glycosaminoglycans. Chondroitin sulfate and keratan sulfate are the most abundant glycosaminoglycans. The side chains of the aggrecan molecule binds water leading to a high swelling pressure in the cartilage which contributes to the cartilage ability to withstand loads. The subchondral bone contributes with stability and is located under the articular cartilage.

It is important to distinguish between age-related changes in articular cartilages with changes caused by OA. It is a constant renewal of the cartilage in healthy joints. It takes a certain amount of load to stimulate formation of new cartilage. Damage of cartilage occurs when the joint is subjected to highly damaging load. At increasing age remains aggrecan and glycosaminoglycans (GAGAs) concentration relatively constant. Aggrecanases are enzymes that essentially break down the aggrecan molecule. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in aggrecan degradation has been discussed. It is normally always a balance between degradation and newly synthesized aggrecan molecules. But with increasing age are more aggrecan molecules with heterogeneous size synthesized. During OA is pro-inflammatory cytokines produced, which activate the degradation of aggrecan.

Aggrecanases and MMPs are active in both age-related degradation of aggrecan and degradation due to OA. The big difference is that age-related aggrecan regeneration is stimulated primarily by chondrocytes that is activated by signals from surrounding tissues that result in increased aggrecan synthesis. While aggrecan degeneration as a result of OA is due to increased activation of pro-inflammatory cytokines which lead to degradation of aggrecan. The chondrocytes do not have the ability to synthesize and replace the degraded aggrecan. That creates an imbalance in the metabolism of aggrecan. Aggrecan degradation results in fragmentation of the molecule which may then be detected in synovial fluid and serum by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).



## **INLEDNING**

Hälta orsakat av osteoartrit (OA) är ett stort problem och som leder till att hästar inte kan användas på normalt sätt (Dean et al., 2003). För hästbranschen är det en sjukdom med stor ekonomisk betydelse och som påverkar djurens välbefinnande (Glegg & Mobasher, 2003). Sjukdomen drabbar framförallt hästar som utsätts för intensiv träning. OA kan uppkomma när balansen mellan syntes och nedbrytning av artikulärt brosk hamnar i obalans (Dean et al., 2003). Ambitionen är att i framtiden kunna hitta biomarkörer som kan hjälpa till att upptäcka sjukdomen i ett tidigt skede (Lettry et al., 2010).

Alla strukturer i hästens led är involverade vid OA (Heinegård & Saxne, 2011). Både ben, ledkapsel, ledvätska, ligament och brosk påverkas. Sjukdomen karakteriseras av akut eller kronisk inflammation (Ley et al., 2008) med hälta, galla och ledstelhet som kliniska symptom. Radiologiska förändringar i form av benskleros, smal ledspalt och osteofyter är typiska kännetecken av kronisk OA (Heinegård & Saxne, 2011).

Vid belastning ska brosket hjälpa till att utjämna och fördela det tryck som uppstår när hästen rör sig (Ley et al., 2008). Artikulära brosket består av kondrocyter och extracellulärt matrix vars huvudkomponenter är kollagen, proteoglykaner, glykoproteiner samt vatten. Aggrekan är den vanligaste förekommande proteoglykanen (Baxter, 2011) som binder vatten och bidrar till att leden kan motstå tryck (Ley et al., 2008).

Det är väldigt viktigt att veta skillnaden mellan skador på brosket till följd av OA och åldersrelaterade förändringar (Platt et al., 1998).

## **MATERIAL OCH METODER**

Sökningar via Pubmed, Google scholar och Web of knowledge gav mina referenser. Jag har kombinerat sökorden horse OR equine AND osteoarthritis AND joint AND articular cartilage AND age AND proteoglycan AND aggrecan AND catabolism. Dessa ord kombinerades på olika sätt vilket gav användbara artiklar. Det var ganska svårt att till en början veta vilka ord jag skulle kombinera för att erhålla ett bra resultat.

Har även använt mig utav referenser från andra artiklar och har då sökt på dessa referenser på Pubmed. För att beskriva en del av ledens anatomi och fysiologi har jag använt kapitel 7 i boken Adams and Stashak's Lameness in horse.

## LITTERATURÖVERSIKT

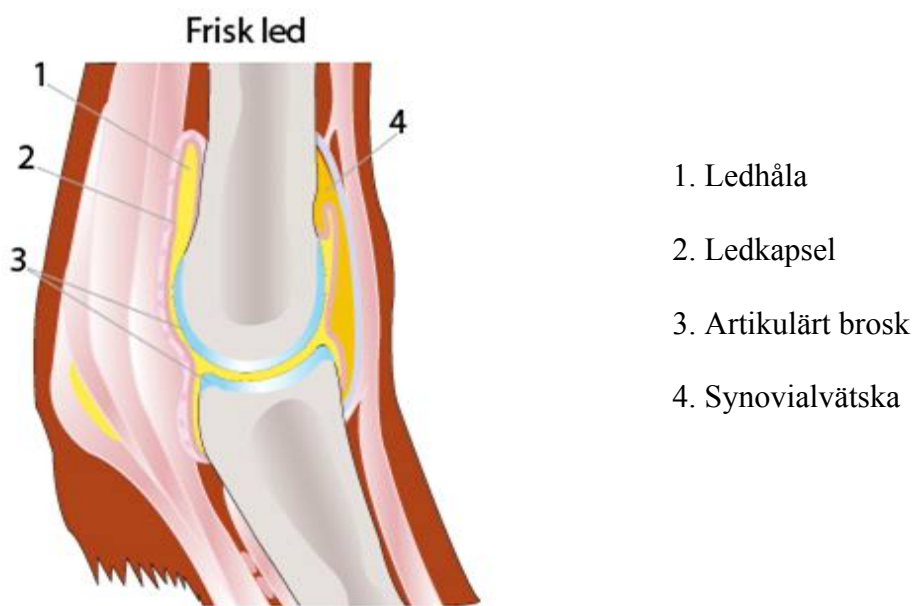
### Ledens anatomi och fysiologi

Leder blir klassificerade efter deras olika förmåga till rörlighet. Det finns helt rörliga, mindre rörliga och orörliga leder. Synovialleder är ett annat namn för helt rörliga leder. De flesta av lederna i extremiteterna är synovialleder. Huvudfunktionerna för dessa leder är att fördela tryck över leden och möjliggöra rörlighet. När det kommer till hästars hälta är det främst dessa leder som drabbas.

Leden är i behov av både ben och mjuk vävnad för att ge stötdämpning.

Artikulärt brosk täcker ytorna på subkondral benet. Synovialvätskan finns i ledhålan inuti leden (Baxter, 2011).

Ledens uppgift är att fördela det tryck som uppstår när hästen rör sig. Det artikulära broskets sammansättning är komplex och består av molekyler som ger broskets draghållfasthet och bidrar till att leden kan motstå tryck vid belastning (Auer & Stick, 2012).



*Bild 1. Den friska ledens uppbyggnad (Li Gessbo)*

### Ledkapsel

En kapsel omsluter hela leden. Kapseln består av två delar: ett synovialt membran (ledhinna) som vetter in mot ledhålan och en yttre fibrös kapsel belägen mest externt som övergår i periosteum. Den externa delen av kapseln ger leden en mekanisk stabilitet (Baxter, 2011). Det inre lagret består av två lager: intima och subintimal vävnad. Typ A och B synoviocyter är de huvudsakliga celltyperna i ledhinnan. Typ B synoviocyter är majoriteten av cellerna och de finns i de undre lagren. De producerar främst hyaluronsyra och kollagen. Typ A synoviocyterna finns i de yttre lagren av ledhinnan. De är vävnadsmakrofager och fungerar som "renhållningsceller" (Ley et al., 2008).

Ligament runt om och inne i leden tillsammans med ledkapselns yttersta lager ger en stödjande effekt.

Nerver och blodkärl finns utspridda i ledkapseln och ger näring till omkringliggande vävnad. Näring migrerar till kondrocyterna via synovialvätskan. Transport av nedbrytningsprodukter bort från brosket sker i motsatt riktning (Ley et al., 2008).

### Synovialvätska

Är ett ultrafiltrat av plasma. Att reducera friktion mellan artikulära ytor och smörja leden är dess huvudfunktion. Är delaktig i att förse brosket med näring och består av socker, elektrolyter, enzymer och hyaluronsyra. Det är en trögflytande och gulblek vätska (König & Liebich, 2004).

### Subkondralt ben

Benet är placerat under brosket (König & Liebich, 2004). Ger ett strukturellt stöd för artikulärt brosk (Baxter, 2011). Fungerar som en stötdämpare och bidrar till att de djupare lagren av brosk förses med näringsämnen. Subkondrala benplattan inkluderas av lager av lamellar ben och delar av det förkalkade brosket (König & Liebich, 2004).

### Artikulärt brosk

Består av celler som är av en typ (kondrocyter) och dess extracellulära matrix (Heinegård & Saxne, 2011).

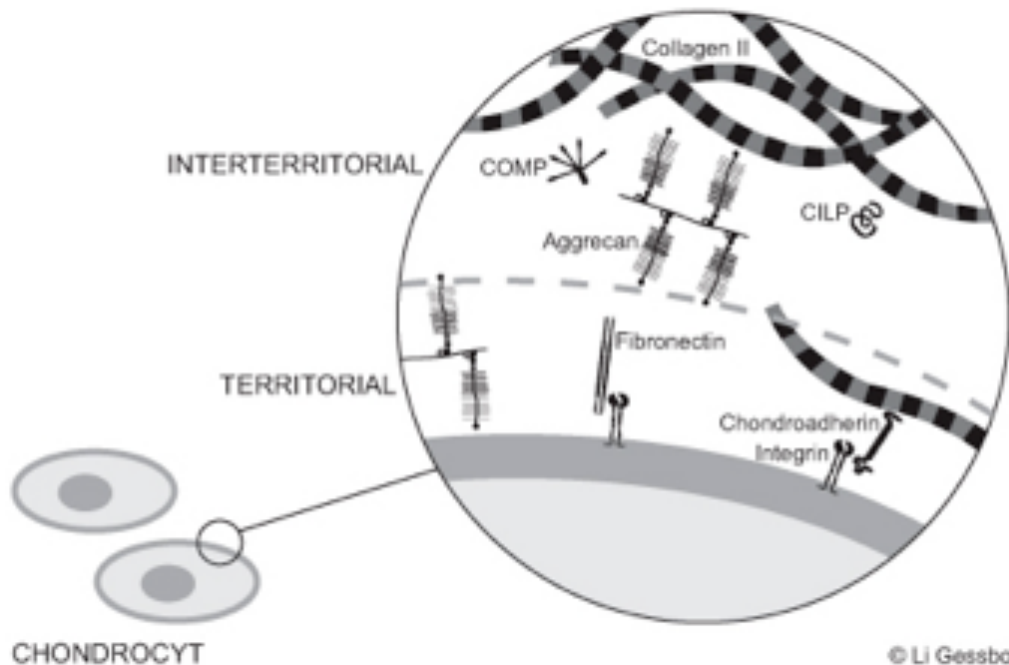


Bild 2. Matrix komponenter i artikulärt brosk (Li Gessbo)

Ytan på det artikulära brosket är slät. Hästens brosk är vanligtvis av den hyalina typen. Men i gränserna mellan brosket, periosteum och synovial membran finns fibröst brosk. Det hyalina brosket är vitt och glansigt makroskopiskt.

Fyra lager bygger upp det mogna artikulära brosket hos den vuxna hästen. Varje skikt innehåller kondrocyter med olika utseende.

Ytskiktet består av ett extracellulärt matrix med framförallt hög koncentration av kollagena fibrer samt ovala eller platta kondrocyter.

Mellanskiktet består av slumpmässigt placerade enskilda eller flera större kondrocyter och extracellulärt matrix.

Djupskikt består av kondrocyter som ligger i vertikala kolumner och som producerar en större mängd aggrecan än de kondrocyter som ligger i ytskiktet.

Den djupa zonen består av degenererade kondrocyter som mineraliseras och förkalkas.

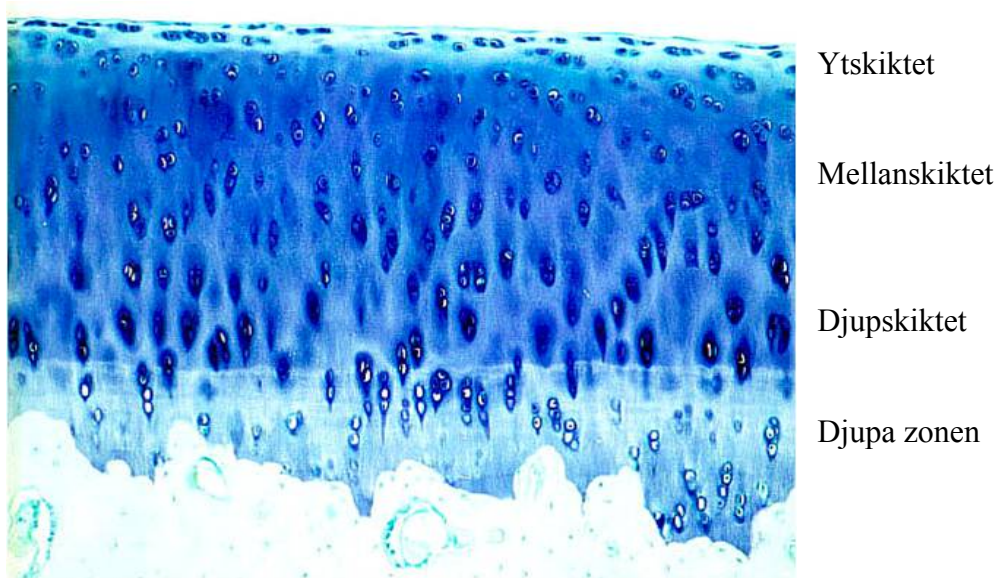


Bild 3. Artikulära broskets lager/zoner (Eva Skiöldebrand)

Det extracellulära matrixets sammansättning i ledbrosket är vatten, proteoglykaner, glykoproteiner samt kollagen (Baxter, 2011).

Det finns ingen blodtillförsel eller några lymfkärl i det artikulära brosket. Näring till det mogna brosket sker genom diffusion av synovialvätska då brosket belastas (Baxter, 2011).

Synovialvätskan försörjer artikulära brosket med näring. 12 % av det artikulära broskets volym upptas av kondrocyter. Extracellulärt matrix utgör återstående del (Auer & Stick, 2012).

Kondrocyterna syntetiserar alla broskmatrixkomponenterna. Varje kondrocyt har flimmerhår som möjliggör interaktion med omkringliggande matrix. På så sätt får kondrocyterna information om förändringar i det extracellulära matrixet (Baxter, 2011).

### Proteoglykaner

Proteoglykanmolekylen består av en proteinkedja och flera sidokedjor med glykosaminoglykaner (Baxter, 2011) som binder till proteinkedjan radiellt (Auer & Stick, 2012).

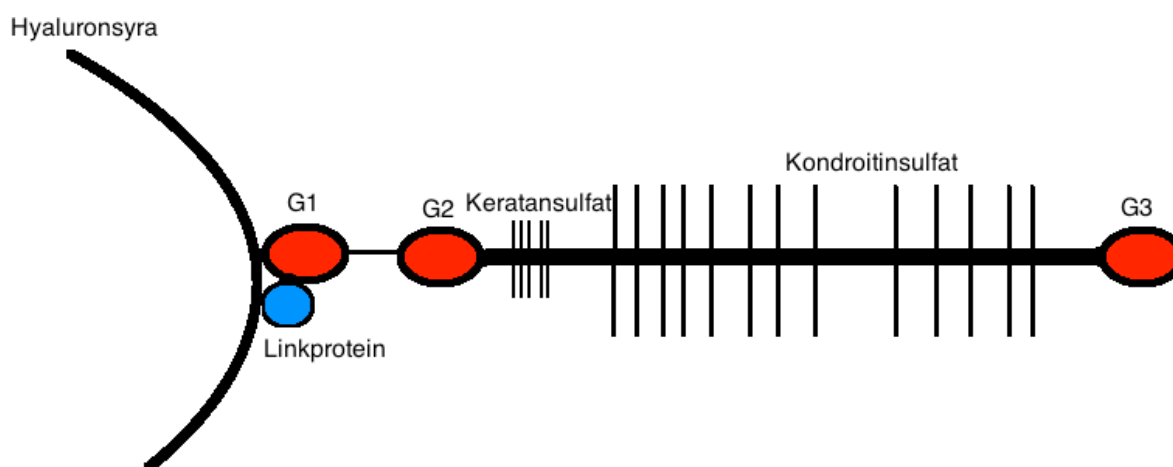


Bild 4. Aggrekanmolekylens uppbyggnad (Elin Dahllöv & Oskar Dahllöv)

Kondroitinsulfat och keratansulfat är de två största glykosaminoglykanerna i artikulärt brosk (Baxter, 2011). Cirka ett hundratal sammansatta och långa glykosaminoglykaner är bundna till proteinkedjan (Ley et al., 2008).

Aggrekan är den vanligaste förekommande proteoglykanen och utgör cirka 85 % av det artikulära brosket (Auer & Stick, 2012).

Aggrekan har 3 globulära domäner (G1, G2 och G3). G1 och G2 är placerade i regionen vid bindning till hyaluronsyra. Området där hyaluronsyra binder till molekylen är N-terminal regionen på aggrekan. G3 är placerad i C-terminal regionen i andra änden av molekylen (Durigova et al., 2010). Mellan G2 och G3 finns delen där majoriteten av glykosaminoglykanerna binder in (Baxter, 2011). Glykosaminoglykanerna har negativ laddning och repellerar varandra och drar till sig vatten vilket leder till att ett positivt tryck skapas (Auer & Stick, 2012). Kondroitinsulfat är den huvudsakliga komponenten på aggrekanmolekylen som binder till sig vatten (Heinegård & Saxne, 2011). Ett högt tryck skapas när aggrekanmolekylen drar till sig vatten och då vill vävnaden svälla vilket bidrar till att leden kan motstå tryck (Ley et al., 2008) och ett så kallat svällnadstryck skapas (Auer & Stick, 2012).

Aggrekanaggregat bildas när ett stort antal aggrekanmolekyler via sin proteinbindande domän binder till hyaluronsyra (Baxter, 2011). Link protein stabiliserar denna bindning (Dean et al., 2003).

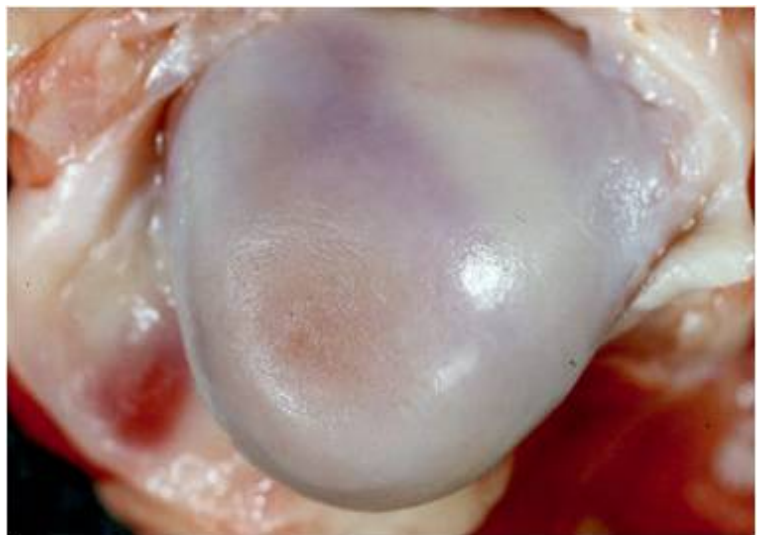
Fibromodulin, biglycan och decorin är icke-aggregerande proteoglykaner i det artikulära brosket (Baxter, 2011).

### **Kollagen**

Kollagen är huvudproteinet i kroppens extracellulära matrix. I brosk finns huvudsakligen kollagen typ II, i övriga kroppen finns kollagen typ I (Heinegård, 2009). 90-95% av kollagenet i brosk utgörs av kollagen typ II. De formar ett nätverk av fibriller och fibrer. För att ge stabilitet och hjälpa till att forma kollagen typ II nätverket finns en liten mängd kollagen typ VI, IX, XI, XII samt XIV.

### **Osteoartrit (OA)**

OA är en sjukdom som ger degeneration och förlust av artikulärt brosk i rörliga leder (Auer & Stick, 2012). Kliniska symptom ses inte i de tidiga stadierna av sjukdomen (Lettry et al., 2010). OA kan drabba alla ledens strukturer. En balans mellan anabolism och katabolism krävs för att en normal metabolism av ledvävnaden ska fungera. Under de tidiga stadierna av osteoartrit ses en ökning av kataboliska processer vilket leder till nedbrytning av vävnad. Onormal belastning och felaktig vävnads metabolism är två faktorer som tros bidra till uppkomsten av OA (Auer & Stick, 2012). En ökning av vattenvolymen i broskmatrix leder



*Bild 5. Nedbrytning av artikulärt brosk till följd av osteoartrit (Eva Skiöldebrand)*

till att vävnaden sväller initialt. Artikulärt brosk blir mjukt till följd av proteoglykanförlust och felaktig bindning av vatten (Zachary & McGavin, 2012).

OA hos människor uppkommer främst på grund av ålder och är ofta en primär skada. OA som ses hos djur är till stor del en sekundär skada till följd av andra faktorer (osteokondros, träning, trauma) (Zachary & McGavin, 2012).

Vid OA ökar halten av inflammationsmediatorer som tumörnekrosfaktor-alfa (TNF-alfa) och interleukin-1 (IL-1) i den drabbade leden. Detta leder till frigörande av prostaglandiner och brosknedbrytning som ger svullnad och smärta (Kamm et al., 2010). Anaboliska och kataboliska enzymer (prostaglandiner, cytokiner, matrix metalloproteinaser) produceras av kondrocyter i det artikulära brosket (Auer & Stick, 2012). Kondrocyter och synoviocyter utsöndrar dessa cytokiner vilket bidrar till ytterligare nedbrytningsprocesser (Heinegård & Saxne, 2011). De inhiberar syntes av aggregan och kollagen typ II samt bidrar till att matrix metalloproteinaser (MMPs), kväveoxid och prostaglandin E<sub>2</sub> aktiveras (Auer & Stick, 2012). Detta leder till försämrad reparationsförmåga och ökad nedbrytning av broskets viktiga molekyler. Fragment av nedbrutna broskmolekyler kan bidra till att inflammation drivs vidare och kan leda till en immunreaktion.

Flera faktorer leder till nedbrytning av brosk, inflammation och utveckling av OA. Att upptäcka tidiga förändringar vid OA är viktigt för att tidigt kunna ställa diagnos och sätta in behandling (Heinegård & Saxne, 2011).

De fragment som bildas vid nedbrytning av brosk kan ha en biologisk aktivitet vilket leder till att de kan påverka sjukdomsprocessen ytterligare. Dessa aktiva fragment kan aktivera eller påskynda inflammationen, ge en ökad produktion av kataboliska cytokiner samt aktivera ytterligare vävnadsnedbrytning. För att ha möjligheten att kunna utforma nya läkemedel som kan bromsa broskdegeneration bygger det på att det skapas en förståelse om dessa fragmenterade broskmolekyler i leden. I nuläget finns inte denna typ av läkemedel (Heinegård, 2009).

Vävnadens kompressiva och viskösa egenskaper minskar när proteoglykaner i brosket bryts ner (Hytinen et al., 2009). Aggreganmolekylerna drar till sig vatten i vävnaden och är placerade i kollagen typ II nätverket (Koshy et al., 2002). Vävnaden förlorar dess funktion och leden blir oförmögen att fungera korrekt på grund av nedbrytning av aggregan och kollagen (Koshy et al., 2002). Nedbrytning av kollagen ger effekter på ledens tänjbara/böjbara egenskaper (Hytinen et al., 2009).

Ett sämre brosk som är mer känsligt mot upprepat tryck skapas på grund av nedbrytningen av broskmolekyler (Ley et al., 2008). Då broskets vävnad utsätts för irreversibla skador produceras kollagen typ I istället för kollagen typ II av de mer fibroblastliknande kondrocyterna. Avsaknad av elastiska egenskaper att kunna motstå tryck och belastning ses hos det fibrösa brosk som bildats vid OA (Ley et al., 2008).

### **Artikulärt brosk – regeneration**

Det finns ett visst tröskelvärde för skillnaden mellan nödvändig och skadlig belastning. Ständigt sker en konstant ombyggnation av det friska brosket. För att bibehålla ett friskt brosk krävs mekanisk och biokemisk stimulans (Dean et al., 2003). För att stimulera kondrocyterna till att producera matrixmolekyler och för att smörja den friska leden krävs en viss mängd tryck. Däremot kan kondrocyter inte producera den mängd proteoglykaner som krävs om leden utsätts för alldeles för högt skadligt tryck (Heinegård & Saxne, 2011).



Det är viktigt att skilja åldersrelaterade förändringar av det artikulära brosket i friska leder från förändringar på grund av osteoartrit (Platt et al., 1998).

### **Åldersrelaterad nedbrytning av aggrecan**

Aggrecan är en stor proteoglykan och utgör majoriteten av det totala antalet proteoglykaner i atrikulärt brosk. Hos vuxna individer är broskmetabolismen långsam och hos unga djur är metabolismen mer aktiv (Hyttinen et al., 2009). Keratansulfatkoncentrationen är lägre i omoget brosk. Eftersom unga hästar har en högre aggrecanmetabolism förväntas en större mängd keratansulfat frigöras och återfinnas i ledvätskan och senare i cirkulationen (Lettry et al., 2010) vid den normala omsättningen av molekylerna.

På aggrecanmolekylen finns det fyra klyvningsställen för aggrecanaser (ADAM-TS4 och ADAMS-TS5) (Heinegård & Saxne, 2011). Känsligast för proteolysis är området mellan G1 och G2 i den interglobulära domänen och där sker oftast den första klyvningen (Durigova et al., 2010). Klyvningen leder till att viktiga delar av aggrecanmolekylen utsöndras från det extracellulära matrixet i brosket ut till ledvätskan.

Brosket förlorar sin förmåga att bibehålla sin osmotiska miljö och förmågan att dra till sig vatten när glukosaminoglykaner bryts ner. Syntesen av aggrecan ökar initialt på grund av detta för att ersätta det som brutits ner, vilket leder till att det råder en balans (Heinegård & Saxne, 2011). Antalet aggrecanmolekyler är relativt konstant under djurens livstid. Vid stigande ålder tros broskets cellulariteten minska vilket betyder att det är ett mindre antal celler men däremot kvarstår proteoglykan- och glykosaminoglykankoncentrationen i brosket. Det tros finnas ett samband mellan fördelning av proteoglykaner i brosk och stigande ålder.

Vid stigande ålder blir proteoglykaner i extracellulärt matrix mer heterogent, det vill säga uppvisar en ökad variation i sin sammansättning/storlek. Proteoglykanmolekyler med mindre hydrodynamisk storlek ackumuleras och tros vara orsaken till heterogeniteten. Skillnader i storlek har upptäckts mellan nyligen syntetiserade proteoglykaner och endogena proteoglykaner som funnit sedan tidigare (Platt et al., 1998).

Antalet glykosaminoglykaner (keratansulfat och kondroitinsulfat) som binder till centrala proteinkedjan av proteoglykaner förblir detsamma oberoende av skillnad i proteoglykan storlek. En del av reparationsmekanismen i brosk tros bli stimulerad av förlusten av glykosaminoglykan från proteoglykanmolekyler vilket då aktiverar kondrocyterna och ger en ökad syntes av extracellulärt matrix (Platt et al., 1998).

Peptider kan fungera som tillväxtfaktorer och är en av de viktigaste orsakerna till biokemiskt stimuli och leder till uppbyggnad av leden. Link protein är en sådan tillväxtfaktor och är en viktig komponent av proteoglykanaggregatet. MMPs bryter snabbt ner link protein och studier visar att ökad koncentration av link protein leder till ökad syntes av proteoglykaner vilket i sin tur leder till fler aggrecanmolekyler som kan binda till hyaluronsyra. Vilket tyder på normal uppbyggnad av de nya molekyler som skapas (Dean et al., 2003).

Åldersrelaterade förändringar i ekvint brosk är följande: ökad heterogenitet av proteoglykaner med en total minskning av hydrodynamisk storlek och minskad cellularitet (Platt et al., 1998).

### **Aggrecan nedbrytning till följd av OA:**

I de tidiga faserna av OA sker nedbrytning av aggrecan på grund av syntes av proinflammatoriska cytokiner (Durigova et al., 2010). Vid broskets försök till självläkning ökar aggrecansyntesen. Förlusten av aggrecan (proteoglykaner) fortsätter trots detta försök till

läkning, eftersom en större mängd bryts ner jämfört med det som nybildas (Gregg et al., 2005).

Vid OA ses en ökad mängd av de pro-inflammatoriska mediatorerna IL-1beta, TNF-alfa, aggreganaser och MMPs i brosk och synovialvätska (Kamm et al., 2010).

Aggrekanaser är de vanligaste och viktigaste enzymerna som är aktiva vid klyvning av aggrekan (Durigova et al., 2010). Aggrekan är framförallt mottaglig för nedbrytning av två aggrekanaser (ADAMTS-4 och ADAMTS-5) (Kamm et al., 2010). På aggrekanmolekylen finns fyra klyvningsställen (Heinegård & Saxne, 2011). Molekylen är framförallt mottaglig för nedbrytning i G1 och G2 regionerna. Dessa bryts ner och det leder till minskad förmåga att motstå tryckbelastning (Kamm et al., 2010).

I områden med vävnadsskada till följd av OA ses fler IL-1beta receptorer. Ökning av aggrekanaser och MMPs blir följden av att IL-1beta binder till sina receptorer. TNF-alfa receptorer ökar i drabbade områden på grund av OA (Kamm et al., 2010). MMPs roll i aggrekandegeneration är fortfarande oklar. De är inte aktiva i de tidiga stadierna av nedbrytningen utan ses först efter långvarig exponering av cytokiner. Detta tros bero på antingen fördröjd syntes eller fördröjd aktivering av proMMP (Durigova et al., 2010). MMPs bildas som proenzym och måste därför aktiveras för att ha effekt på aggrekannedbrytningen (Koshy et al., 2002).

Stimulation av IL-1beta och TNF-alfa leder till hög koncentration av ADAMTS-4. Dessa cytokiner har inte samma förmåga att aktivera ADAMTS-5. Vid nedbrytning av brosk i samband med OA är ADAMST-4 mer signifikant än ADAMST-5 (Kamm et al., 2010).

Under senare år har man sett förlust av kondrocyter som en del av sjukdomsprocessen vid OA, speciellt i de senare stadierna av sjukdomen. Kväveoxid (NO) och TNF-alfa är exempel på substanser som kan orsaka kondrocyt apoptosis. Programmerad celldöd tros bli reglerad av NO. In vitro har flera substanser setts inducera celldöd men det antalet tros vara mindre in vivo.

För att kondrocyter ska överleva krävs det interaktion mellan celler och matrix som gör att cellen får överlevnadssignaler. Om dessa adhesioner mellan extracellulärt matrix förstörs leder det till att cellerna inte har någon kontakt med omkringliggande vävnad och celldöd inträffar. NO kan påverka dessa adhesioner och förstöra denna kommunikation mellan celler och vävnad.

Om kondrocyterna dör leder det till mindre produktion av aggrekan och kollagen vilket i sin tur ger ett sämre brosk. Det är fortfarande oklart hur NO är verksamt, NO tros ha både en katabolisk och anabolisk roll i broskmetabolismen. NO har dels den nedbrytande effekten på broskkomponenter men tros också ha en hämmande effekt på brosknedbrytningen (Glegg & Mobasher, 2003).

### **Potentiella biomarkörer**

I dagsläget studeras olika potentiella markörer för att upptäcka de tidiga förändringarna som leder till OA. I synovialvätskan och serum ses fragment från aggrekan och hyaluronsyra vid anaboliska och kataboliska processer i brosket (Lettry et al., 2010). Detta tyder på att när aggrekan bryts ner utsöndras fragmenten från matrix till synovialvätskan där de kan detekteras och kvantifieras (Ilic et al., 1992). Fragmenten kan senare påträffas i cirkulationen (Heinegård, 2009).



Antikroppar kan bildas mot de nya fragmenten som uppkommer efter klyvning. Nya analysmetoder skulle kunna utformas och få möjlighet att studera sjukdomsspecifika antikroppar och på så sätt kunna följa sjukdomsprocessen (Heinegård, 2009).

Tidiga förändringar i artikulärt brosk kan idag inte diagnostiseras och därför skulle det vara betydelsefullt att kunna upptäcka biokemiska förändringar som uppstår tidigt i sjukdomsprocessen med hjälp av biomarkörer. Röntgen och magnetisk resonanstomografi (MRT) används idag för att diagnostisera kroniska förändringar av OA (Lettry et al., 2010).

## DISKUSSION

Det är väldigt viktigt att kunna skilja mellan skador på brosket till följd av OA eller åldersrelaterade förändringar (Platt et al., 1998). Normalt sker det en ständig förnyelse av det artikulära brosket. Vilket betyder att broskkomponenterna hela tiden bryts ner och ersätts av nya. Detta är en del av processen som sker i den friska leden. För att nya byggstenar ska syntetiseras krävs en viss mängd tryck men när leden utsätts för ett felaktigt tryck resulterar det i skador på brosket som i slutändan leder till OA (Heinegård & Saxne, 2011).

Den största skillnaden mellan åldersrelaterade förändringar och OA-förändringar på aggrekanmetabolismen är att vid OA sker en okontrollerad nedbrytning och mer aggrekan bryts ner än vad kondrocyterna hinner nybilda. Vid normal turnover i en frisk led sker en långsam nedbrytning vilket gör att kondrocyterna kan producera och ersätta den mängd som förlorats vid nedbrytning.

OA är en kronisk sjukdom som drabbar både människor och djur. Att framförallt hästar drabbas beror till stor del på att de utsätts för hård träning (Dean et al., 2003). För hästbranschen innebär det stora ekonomiska förluster (Glegg & Mobasher, 2003).

Sjukdomen OA börjar med aktivering av pro-inflammatoriska cytokiner som bidrar till nedbrytning av kollagen och aggrekan (Kamm et al., 2010). Aggrekanaser är de enzymer som framförallt är aktiva och klyver aggrekanmolekylen. Det är fortfarande oklart vilken specifik roll MMPs har i aggrekandegenerationen och det är svårt att säkerställa deras aktivitet (Durigova et al., 2010).

Kondrocyt apoptosis stimuleras av olika substanser (kväveoxid och TNF-alfa) vilket leder till att interaktionerna mellan cellerna och omkringliggande extracellulärt matrix bryts. Celldöd inträffar eftersom kondrocyterna inte får några överlevnadssignaler. Färre kondrocyter bidrar till en minskad proteoglykan(aggrekan)produktion (Glegg & Mobasher, 2003).

Studier bedrivs för att lättare kunna diagnostisera de tidiga stadierna av OA. Framförallt används olika biomarkörer som frisätts när brosket bryts ner. Tanken är att man ska kunna mäta dessa markörer i serum och synovialvätska och på så sätt tidigt kunna behandla och förhindra framtida eventuella besvär. Många hästar tvingas idag att pensioneras i förtid eller avlivas till följd av sin osteoartrit då hältan innebär smärta och lidande för hästen. Att kunna diagnostisera de mycket tidiga stadierna av OA genom ett blodprov skulle betyda att förebyggande åtgärder och behandling tidigt skulle kunna påbörjas.

## REFERENSLISTA

- Auer, J. A. & Stick, J. A. (2012). Kapitel 78. I: D. D. Frisbie ed. *Auer & Stick Equine surgery*. 4 uppl. USA. ELServier Saunders. Kap. 78. Sid. 1096-1112.
- Baxter, G. M. (2011). Kapitel 7. I: C. W. McILwraith ed. *Adams and Stashak's Lameness in horse*. 6 uppl. Singapore. Wiley Blackwell.. Kap. 7. Sid. 871-887.
- Clegg, P. D. & Mobasher, A. (2003). Chondrocyte apoptosis, inflammatory mediators and equine osteoarthritis. *The veterinary journal*, 166, 3-4.
- Dean, M. F., Lee, Y. W., Dastjerdi, A. M. & Lees, P. (2003). The effect of link peptide on proteoglycan synthesis in equine articular cartilage. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*. 1622, 161-168.
- Durigova, M., Nagase, H., Mort, J. S. & Roughley, P. J. (2011). MMPs are less efficient than ADAMTS5 in cleaving aggrecan core protein. *Matrix Biology*, 30, 145-153.
- Firth, E. C. (2006). The response of bone, articular cartilage and tendon to exercise in the horse. *J. Anat*, 208, 513-526.
- Gregg, A. J., Fortier, L. A., Mohammed, H. O., Mayr, K. G., Miller, B. J. & Haupt, J. L. (2006). Assessment of the catabolic effects of interleukin-1beta on proteoglycan metabolism in equine cartilage cocultured with synoviocytes. *AJVR*, 67, 957-962.
- Heinegård, D. (2009). Proteoglycans and more – from molecules to biology. *Int. J. Exp. Path.*, 90, 575-586.
- Heinegård, D. & Saxne T. (2011). The role of the cartilage matrix in osteoarthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 7, 50-56.
- Hyttinen, M. M., Holopainen, J., van Weeren, P. R., Firth, E. C., Helminen, H. J. & Brama P. A. J. (2009). Changes in collagen fibril network organization and proteoglycan distribution in equine articular cartilage during maturation and growth. *J. Anat*, 215, 584-591.
- Ilic, M. Z., Handley, C. J., Robinson, H. C. & Mok, M. T. (1992). Mechanism of Catabolism of Aggrecan by Articular Cartilage. *Archives of biochemistry and biophysics*, 294, 115-122.
- 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, 693-699.
- Kidd, J. A., Fuller C. & Barr, A. R. S. (2001) Osteoarthritis in the horse. *Equine veterinary education*, 13, 160-168.
- Koshy, P. J. T., Lundy, C. J., Rowan, A. D., Porter, S., Edwards, D. R., Hogan, A., Clark, I. M. & Cawston, T. E. (2002). The Modulation of Matrix Metalloproteinase and ADAM Gene Expression in Human Chondrocytes by Interleukin-1 and Oncostatin M. *Arthritis & rheumatism*, 46, 961-967.

König, H. E. & Liebich, H-G. (2004). *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals*. Tyskland. Schattauer. Sid. 11-15.

Lettry, V., Kawasaki, H., Sugaya, K., Hosoya, K., Takagi, S & Okumura, M. (2010). Evaluation of a new enzyme-linked immunosorbent assay to detect keratan sulfate in equine serum. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 57, 207-212.

Ley, C., Skiöldebrand, E. & Ekman, S. (2008). Leden och ledbrosket – komplicerade och känsliga strukturer. *Equilibris*, 2, 4-9.

Platt, D., Bird, J. L. E. & Bayliss, M. T. (1998). Ageing of equine articular cartilage: structure and composition of aggrecan and decorin. *Equine veterinary journal*, 30, 43-52.

Zachary, J. F. & McGavin, M. D. (2012). *Pathologic basis of veterinary disease*. 4 uppl. Kina. ELServier Mosby. Sid. 967-968.