



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för Kliniska Vetenskaper

Biverkningar efter intraartikulär behandling med ett nytt hyaluronsyra-NSAIDpreparat på häst En pilotstudie

Katarina Brunstedt

Uppsala

2013

Examensarbete inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2013:44*

Examensarbete 2013:44

Biverkningar efter intraartikulär behandling med ett nytt
hyaluronsyra-NSAIDpreparat på häst
En pilotstudie

Adverse reactions after intraarticular treatment with a new
hyaluronic acid-NSAID drug in horses
A pilot study

Katarina Brunstedt

Handledare: Karin Holm Forsström, Institutionen för Kliniska Vetenskaper

Examinator: Pa Haubro Andersen, Institutionen för Kliniska Vetenskaper

*Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2013
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för Kliniska Vetenskaper
Kurskod: EX0736, Nivå A2E, 30hp*

*Nyckelord: artrit, häst, ledbehandling, biverkningar, NSAID, hyaluronsyra
Key words: arthritis, horse, treatment, adverse effects, NSAID, hyaluronic acid*

*Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>
ISSN 1652-8697*

INNEHÅLL

SAMMANFATTNING.....	1
SUMMARY.....	2
INLEDNING.....	3
BAKGRUND.....	5
Synovialledens uppbyggnad och funktion.....	5
Ledinflammation.....	6
Klinisk bild.....	7
LITTERATURÖVERSIKT.....	8
Medicinsk behandling vid aseptisk artit.....	8
NSAID.....	8
Hyaluronsyrepreparat.....	9
Kortikosteroider.....	9
PSGAG och PPS.....	10
IRAP.....	11
MATERIAL OCH METODER.....	12
RESULTAT.....	16
DISKUSSION.....	21
REFERENSER.....	24

SAMMANFATTNING

Hältor är vanligt förekommande på häst och hos de halta hästarna som behandlas av veterinär är ledinflammation den vanligaste diagnosen enligt Agrias försäkringsdata (Pernell et al, 2005). Utredning och behandling av hältor är ofta tidskrävande och dyrt. För hästen kan hältan och dess behandling innebära nedsatt välfärd. I dagsläget består behandlingen av ledinflammationer ofta av en kombination av vila och systemisk eller intraartikulär medicinering. Ibland måste även kirurgiska metoder tillämpas, som till exempel artroskopi. Det finns ett flertal preparat på marknaden för medicinsk behandling men deras behandlingsresultat och säkerheten vid användning av dem varierar. Därför finns ett intresse av att utveckla nya och bättre alternativ för ledbehandling.

I denna pilotstudie testas ett läkemedel kallat ”preparat X”. Det innehåller en kombination av NSAID och hyaluronsyra som är länkade till varandra. Genom länkningen förväntas substanserna brytas ner långsammare i leden än vad de gör var för sig. Därigenom blir förhoppningsvis halveringstiden längre och substanserna kan verka under en längre tid i den behandlade leden. Substanserna bildar tillsammans en större molekyl som har svårare att diffundera ut ur leden vilket kan bidra till att den systemiska effekten blir mindre.

Pilotstudien avser akuta biverkningar efter injektion med preparat X samt preparatets halveringstid i synovia. Lederna behandlades med preparat X i en led och en kontrollsubstans (natriumklorid, fritt NSAID eller hyaluronsyra) i motsvarande led på det andra frambenet. Under de följande 14 dagarna undersöktes hästarna avseende förändringar i klinisk bild och hälsa. Prover på ledvätska, blod och urin togs för att studera preparatets halveringstid och utsöndring.

På de sju leder som testades i försöket sågs ingen akut biverkning i form av hälsa eller feber. I tre av sju leder som behandlats med preparat X uppkom en lindrig till måttlig galla (ökad mängd ledvätska) de närmaste dagarna efter behandling, ibland i kombination med en diffus periartikulär svullnad. Fyra av sju leder som behandlats med kontrollsubstans i form av natriumklorid eller ren hyaluronsyra visade också någon form av anmärkning i den kliniska undersökningen under försökets gång. Den jämna fördelningen av reaktioner mellan behandlade leder och kontrollerleder gör det mer troligt att de uppkomna biverkningarna sågs på grund av frekvent punktion av leden snarare än själva behandlingen i sig.

Halveringstiden hos preparat X varierade mellan 7 och 19 timmar i den här studien. Vid jämförelse med fritt NSAID som injicerats som kontroll kunde en mätbar nivå av NSAID ses 48 timmar i den led som behandlats med preparat X, jämfört med 12 timmar för fritt NSAID. Resultaten stödjer teorierna om att preparat X skulle kunna ha en långsammare nedbrytning och därmed också längre halveringstid än många andra preparat. Halterna av NSAID i blod och urin var små vilket kan tala för att preparat X har en mer lokal verkan och mindre systemiskt upptag än andra preparat.

SUMMARY

Lameness is a common problem in horses and arthritis is the most common diagnosis among horses that have been treated by a veterinarian according to Agria's database for insurances (Penell et al, 2005). Examination and treatment of lameness often requires both money and a lot of time. Lameness itself and the therapy may have an impact of the horse's welfare.

Traumatic arthritis is often treated with a combination of rest and systemic or intra articular medicine. Sometimes even surgical methods are needed, like arthroscopy. There are several drugs for medical treatment in the market but their outcome and safety varies. For these reasons there exists an interest in developing new and better drugs for the treatment of arthritis.

A new drug called "preparation X" is tested in this pilot study. It contains a combination of NSAID and hyaluronic acid that are linked to each other. The link between the substances is expected to slow down the degradation of the substances and thereby hopefully extend the half life and the active time of the substances in the joint. There are also expectations that the systemic effect might become minor since a larger molecule might have a harder time getting out of the joint than a smaller one.

The pilot study concerns the adverse affects after intra articular injection with preparation X and the half life of the drug in the synovial fluid. The horses were given an intra articular injection with preparation X in the fetlock or carpus of one of the forelimbs. The same joint in the other forelimb was injected with a control substance (sodium chloride, free NSAID or hyaluronic acid). During the following 14 days the horses were examined for changes in their clinical picture and lameness. Samples of joint fluid, blood and urine were collected to study the drug's half life and its uptake in the body.

None of the six horses (seven joints) included in the study showed acute adverse effects like fever or lameness. In three of seven joints that were treated with preparation X a mild-moderate intra articular effusion was seen the first days following the injection. In some cases it was combined with a diffuse periarticular effusion. Four of seven joints treated with control substances in the form of sodium chloride, free NSAID or hyaluronic acid also showed some kind of remarks in the clinical picture during the study. Since there was no difference in the amount of reactions between the joints treated with preparation X and the joints injected with control substances, it is likely to assume that the reactions probably arose because of the frequent punction of the joints rather than the treatment itself.

The half life of preparation X varied between 7 and 19 hours in this study. NSAID could be measured in the joint fluid for 48 hours in the joint injected with preparation X compared to the joint injected with free NSAID, where NSAID could be measured for 12 hours. The results supports the theory that preparation X might have a slower degradation and thereby a longer half life that some other drugs. The levels of NSAID in blood and urine were very low which might show that preparation X has a more local effect and less systemic uptake than other drugs.

INLEDNING

Enligt den senaste beräkningen gjord av Jordbruksverket fanns det 362 700 hästar i Sverige år 2010 (Jordbruksverkets hemsida, 2010). Majoriteten av dessa hästar används av människor i motions- och sportsyfte som antingen rid- eller körhästar. Hästen räknas som ett sällskapsdjur, men måste till skillnad mot de flesta andra sällskapsdjur också prestera. Oavsett om prestationen är en lugn skogstur, tävling över hinder på varierande höjd eller ett premiellopp på en travbana så måste hästens rörelseapparat vara smärtfri.

Den vanligaste orsaken till att hästar undersöks och behandlas av veterinär är problem i rörelseapparaten (Penell et al., 2005). Den enskilt största orsaken till hälsa är ledproblem enligt en undersökning som utgått från 107 310 hästar försäkrade i Agria mellan 1997 och 2000 (vilket motsvarar ungefär en tredjedel av det totala hästbeståndet i Sverige).

Ortopediska problem innebär stora kostnader för hästägarna, dels genom direkta kostnader för undersökning och behandling av hästarna och dels genom att de löpande kostnaderna för hästen finns kvar även då hästen inte kan tränas på det sätt som ägaren önskar. Ledinflammationer som får pågå en längre tid kan ge upphov till kroniska hältor, vilket ofta leder till att hästen får avsluta sin karriär eller till och med sitt liv i förtid.

Hältor kan påverka hästens välfärd på ett negativt sätt. Att utreda och behandla orsaken till hältan kan kräva upprepade klinikbesök med risk för många injektioner. Av djurskyddsskäl såväl som ekonomiska skäl är det därför angeläget att hitta effektiva behandlingsmetoder och läkemedel.

I dagsläget finns ett flertal preparat godkända för intraartikulär och systemisk behandling av ledinflammation på häst i Sverige (Läkemedelsverket, 2010). Vid behandling intraartikulärt är kortikosteroider en vanlig substans, liksom hyaluronsyra som kan användas både som ensam substans eller i kombination med exempelvis kortikosteroider. Intraartikulära behandlingar med polysulfaterade glukosaminoglykaner (PSGAG), pentosanpolysulfat samt den medicintekniska produkten IRAP förekommer också. Systemisk NSAID ges ibland som ett komplement till injektionerna och ibland som enda behandling vid milda hältor. Tillsammans med medicinsk behandling rekommenderas ofta vila och en konvalescensperiod (Goodrich, 2006, Läkemedelsverket, 2010).

Intraartikulära behandlingar görs aseptiskt men det finns alltid en liten risk att ett främmande agens följer med kanylen in i leden och ger upphov till en septisk ledinflammation. Läkemedel som kräver flera injektioner innebär därför en större risk för hästen. Nya preparat som tas fram bör ge en så god effekt som möjligt på enstaka behandlingar. Det är tänkbart att en lång halveringstid skulle kunna öka effekten hos ett preparat genom att förlänga tiden som det är verksamt i leden. Därmed skulle kanske också ytterligare behandlingar genom ledpunktion kunna undvikas.

Många av de preparat som används idag har bristfällig dokumentation till grund för sina godkännande. Behandlingsresultaten varierar och därför pågår en ständig jakt på nya och bättre preparat. I denna pilotstudie testas ett läkemedel för intraartikulärt bruk, kallat

”preparat X”, vilket innehåller en kombination av NSAID och hyaluronsyra länkade till varandra. Det finns flera syften med att kombinera dessa två substanser i en intraartikulär behandling. NSAID har använts som per oral behandling till häst mot inflammatoriska tillstånd sedan lång tid tillbaka. Systemisk behandling med NSAID innebär dock en risk för biverkningar som retningar på magens slemhinna och magsår. Genom lokal injektion av NSAID kommer förhoppningsvis upptaget i plasma att vara lågt och därigenom ge mindre risk för biverkningar. När hyaluronsyra binds till NSAID förväntas molekylerna ha en långsammare nedbrytning vilket bör ge en längre halveringstid (och därmed en längre tid som läkemedlet kan verka i leden) vilket förhoppningsvis kan minska antalet injektioner som krävs för en effektiv behandling.

I dagsläget används ofta kortikosterioder i kombination med hyaluronsyra vid ledbehandlingar. NSAID anses ha mindre allvarliga bieffekter vid systemiskt upptag än kortison vilket skulle kunna vara ytterligare en fördel om det visar sig att substanserna har likvärdig effekt. Studier på människa (Colbert et al, 1999) visar på en god analgetisk effekt av postoperativ intraartikulär behandling med NSAID (tenoxicam). I en studie (Izdes et al, 2003) på patienter som genomgick knäartroskopier visade sig NSAID (piroxicam) intraartikulärt ha en bra analgetisk effekt. Bäst analgesi sågs hos patienter vars leder bedömdes vara inflammerade jämfört med patienter vars leder bedömdes som icke-inflammerade.

På häst finns idag inte något preparat för intraartikulär behandling med NSAID. Det finns inga tidigare studier på intraartikulära behandlingar med den kombination av hyaluronsyra och NSAID som pilotprojektet avser, varken på häst eller andra djurslag. Målet med denna studie är att studera om intraartikulär injektion av preparat X ger några akuta kliniska biverkningar. Utifrån prover från de hästar som är med i studien ska också en preliminär halveringstid räknas ut för att se om länkningen mellan hyaluronsyra och NSAID påverkar hur snabbt läkemedlet bryts ner i leden. Om behandlingarna på de hästar som ingår i studien inte visar sig ge några signifikanta biverkningar planeras fler studier av preparat X med målet att det med tiden kommer ut på marknaden.

Även lokalt injicerade läkemedel kan tas upp systemiskt och återfinnas i blod- och urinprov. Det är troligt att en längre halveringstid förlänger utsöndringen av läkemedlet i blod- och urin, vilket kan påverka hur länge läkemedlet kan detekteras i kroppen efter behandling. Studier måste därför göras avseende detta för att kunna bestämma lämpliga karenstider efter behandling.

BAKGRUND

Synovialledens uppbyggnad och funktion

Synovialleden består av ben som på sina ledytor täcks av hyalint brosk. Mellan ledytorna bildas ett hålrum som innehåller synovialvätska. Leden innefattar också en ledkapsel som sluter om skelettytorna. Utanför ledkapseln finns stödjevävnad i form av ligament. Den synoviala ledens viktigaste funktion är att möjliggöra en mjuk övergång med möjlighet till rörelse mellan två angränsande skelettdelar. Rörelse och gravitation skapar stötar som leden måste vara stark nog att kunna dämpa (van Weeren & de Grauw, 2010).

Ledbrosk

Benens epifyser är täckta av hyalint brosk som varken är vaskuliserat eller innerverat. På grund av detta leder inte alltid en skada i brosket till kliniska symptom. Genom diffusion via ledvätskan kommer näringsämnen till brosket. Det hyalina brosket består av fyra lager; ytligt, intermediärt, djupt och närmast benet ett mineraliserat brosklager (Palmer & Bertone, 1994). Varje lager hyalint brosk består av ett extracellulärt matrix som innehåller en liten andel utspridda kondrocyter (1-2% av det artikulära broskets volym) samt typ II-kollagen, proteoglykaner, glykosaminoglykaner och vatten. Vävnadens fysiska egenskaper beror på organisationen av makromolekylerna i matrixet samt deras struktur. Proteoglykanerna har sidokedjor som består av negativt laddade glukosaminoglykaner organiserade i ett tätt korslänkat fibrillärt nätverk vilket skapar ett högt osmotiskt tryck. När leden är obelastad dras vatten in från vävnaden runt omkring och expanderar kollagen-nätverket. Balansen mellan det osmotiska trycket och det kollagena nätverket ger leden motståndskraft mot kompression samt underlättar absorption av stötar (van Weeren & de Grauw, 2010).

Ledkapsel

Ledkapseln består av tre lager varav det yttersta är ett stramt fibröst membran som ger leden mekaniskt stöd, ofta förstärkt genom ytterligare stödstrukturer som kollateralligament. Ledkapselns inre lager är ett synovialmembran som består av två lager; intima (synovium) och subintima (subsynovium). Subintiman består av fett och bindväv. Genom att reglera vilka substanser som släpps igenom från blodcirkulationen påverkar subintiman synovians sammansättning. Normalt släpps inte proteiner större än 10 kDa igenom (Frisbie, 2006a). Under subintiman finns ett kapillärplexus och ett djupt nätverk av lymfkärl (Bertone, 2004). Intiman, som gränsar mot lumen, består av ett 1-5 celler brett cellager.

Synovialmembranet innehåller tre olika typer av synoviocyter typ A, B och C. A-cellerna fungerar som fagocyter, B-cellerna producerar proteiner som hyaluronsyra (HA), kollagen, matrix pro-metalloproteinaser (MMP), eicosanoider (prostaglandin och leukotrener) och interleukiner medan C-cellerna ligger som ett skiljelager mellan A och B.

Synovia och hyaluronsyra

I ledhålan finns synovia som består av ett ultrafiltrat av blodplasma och molekyler med en mindre vikt än 10KDa. Genom sin höga andel HA har synovia en hög viskositet och verkar som ett smörjmedel vid rörelse i leden. Synovia fungerar som ett transportmedium för näringsämnen och slaggprodukter i leden till och från det avaskulära artikulära brosket (van Weeren & de Grauw, 2010).

HA är en icke-sulfaterad glykosaminoglykan bestående av olika enheter av D-glukuronsyra och N-acetyl-D-glukosamin. I ledvätskan påverkar HA viskositet i olika grad beroende på sin koncentration och molekylvikt (Bertone, 2004).

Molekylvikten av HA i ledvätskan varierar naturligt. På människor och djur ligger den på mellan två och sex miljoner Da. Förutom variation mellan arter och enskilda djur så skiljer sig också koncentration åt mellan olika leder på samma individ. Mindre leder har oftast en högre koncentration och en högre viskositet än större leder (Balazs et al, 1967). Ledvätskans viskositet minskar snabbt vid ihållande hög hastighet, som vid ett tävlingsmoment. Vid effusion av ledvätskan späds hyaluronet ut vilket oftast minskar viskositeten. (van Weeren & de Grauw, 2010).

Ledinflammation

En tillfälligt större belastning än normalt på en led kan leda till ett akut trauma där strukturerna i leden skadas. Även upprepade mikrotrauman kan ha samma effekt. Traumatisk artrit inkluderar kapsulit, synovit, desmit och skada i ledbrosk (Frisbie, 2006a). Om processen blir långvarig kan degenerativ ledsjukdom eller osteoartrit (OA) uppkomma. OA kan definieras som ett ”misslyckat läkande av en skada som har uppkommit genom överdriven mekanisk stress på ledvävnaden” (van Weeren & de Grauw, 2010). OA är en kronisk degenerativ sjukdom som leder till förlust av broskkomponenter, i huvudsak typ II-kollagen och broskspecifika proteoglykaner, genom en obalans mellan nedbrytning och reparation av extracellulärt matrix (ECM) (Sutton et al, 2009). Vid OA ses degeneration och förlust av ledbrosk, subkondral benskleros och aseptisk synovit. Inflammationen anses starta genom att degenerativa produkter från ledbrosket frisätts, men studier har också visat att synovit ses tidigt vid OA och det är ännu inte klart om inflammationen uppkommer primärt eller om den är sekundär till broskskadorna (Bertone et al, 1994).

Oavsett hur inflammationen inleds så följer en ond cirkel som ger upphov till inflammatoriska och degenerativa komponenter. Synoviten skapar, genom ökad utsöndring av inflammatoriska cytokiner, en oordning i regleringen av kondrocyternas katabola och anabola processer. Vid OA ses ofta perioder med mer intensiv inflammation varvat med lugnare perioder där ledpåverkan är minimal. De kliniska symptomen kan också variera med hur aktiv den inflammatoriska processen är (van Weeren & de Grauw, 2010). Inflammatoriska cytokiner, som interleukin-1 β (IL-1 β) och transcript nuclear

factor α (TNF α), utsöndras från celler i det inflammerade synovialmembranet och påverkar kondrocyterna i ledbroskets matrix att producera IL-8, IL-6, kväveoxid och prostaglandin E₂. Prostaglandin E₂ hämmar syntesen av proteoglykaner och ger en uppreglering av enzymer som bryter ner kollagen typ II och aggreganer. En katabol process i ledbrosket stimuleras via ökad apoptos och proteasaktivering samt minskad matrixsyntes. Den aseptiska artriten leder slutligen till uppmjukning, fibrillering och ibland också förlust av ledbrosk samt blottläggning av underliggande ben, benskleros, osteofyter och subkondrala bencystor (Sutton et al, 2009).

Klinisk bild

I den inflammerade vävnaden uppstår ett ökat blodflöde och läckage från kapillärer. Volymen av ledvätska ökar vilket kan ge upphov till en effusion i leden, vanligtvis kallad galla (Bertone, 2011).

Genom effusionen skapas ett intraartikulärt tryck som gör att ledens normala förmåga att anpassa trycket utifrån sin ledvinkel och rörelse minskar. Effekten blir ett ökat intraartikulärt tryck och ökad spänning i ledkapselns vägg vid extrema ledvinklar vilket ger upphov till smärta i dessa lägen. Det ökade intraartikulära trycket kan påverka ledens perfusion. Vid ett tryck motsvarande 30 mm Hg ses en signifikant minskning av perfusionen i synoviumet och den fibrösa ledkapseln (Hardy et al, 1996). Detta tryck uppkommer på hästar med palperbara gallor i t.e.x. kotlederna. Ett tryck på över 60 mm Hg kan minska blodflödet drastiskt i leden vilket minskar syretillförseln. En låg syrenivå stimulerar angiogenes och uppkomst av granulationsvävnad och ger därigenom upphov till fibros (Strand et al, 1998).

Vid inflammation minskar produktionen av HA i synovialmembranet. Ledvätskans halt av HA minskar också genom att effusionen späder ut den. Svullna och ödematösa villi skapar ökad friktion i leden (Bertone, 2011). Detta kan försämra HA:s smörjande egenskaper vilket ger ytterligare belastning på ledens strukturer (Frisbie, 2006a).

Ledbrosket är utan innervering men övriga strukturer i leden är väl innerverade med sensoriska och motoriska nerver som hjälper till att behålla ledens stabilitet. Vid aktivering kan det perifera nervsystemet initiera en akut inflammation genom vasodilatation, effusion och en sänkt smärtröskel. De nervfibrer som reglerar smärtupplevelsen vid en artrit aktiveras av aminer och neuropeptider som också har en proinflammatorisk verkan på synovialmembranet (Basbaum et al, 1991).

Vid en hältutredning undersöks hästen med rörelsekontroll på rakt och böjt spår, bøjprov och diagnostiska anestesier eller nervblockader för att lokalisera den struktur som smärtan kommer ifrån. Hältor hos häst bedöms ofta subjektivt och resultaten kan skilja sig åt mellan olika veterinärer. Enligt Keegan et al (1998) skiljer sig bedömning av milda hältor mellan olika veterinärer vilket skapar ett behov av en kompletterande objektiv mätmetod. Ett sensorbaserat datasystem är mer objektivt och har därmed högre säkerhet i sin bedömning av hältgrad.

LITTERATURÖVERSIKT

Medicinska behandlingsalternativ vid aseptisk artrit

NSAID

NSAID är en förkortning för non-steroid antiinflammatorisk drog. I Sverige finns flera NSAID registrerade för veterinärmedicinskt bruk för peroral administration till häst.

Substanser:

- Fenylbutazon (Fenylbutazon vet)
- Flunixin Meglumine (Cronyxin vet, Finadyne vet, Flunixin-N vet)
- Ketoprofen (Comforion vet, Rifen vet, Romefen vet)
- Meloxicam (Metacam)
- Vedaprofen (Quadrisol)
- Firocoxib (Equicoxx)

NSAID hämmar cyclooxygenase (COX), ett enzym som medverkar i syntesen av prostaglandin. COX finns i två isoformer: COX-1 som producerar prostaglandiner som är viktiga för kroppens fysiologiska processer och COX-2 som medverkar vid produktion av pro-inflammatoriska prostaglandiner (Lees et al, 2004). Genom nedreglering av prostaglandinmängden verkar NSAID antiinflammatoriskt och smärtlindrande vid artrit. Det används i stor utsträckning per oralt vid behandling av aseptisk artrit hos människa samt djur som häst och hund. Halveringstiden i plasma skiljer sig mellan 1,6 h (Finadyne vet) till 29,6 h \pm 7,5 h (Equicoxx) (FASS, 2013).

På humansidan har intraartikulär behandling med NSAID (tenoxicam) testats för att uppnå en bättre analgesi efter knäartroskopier (Colbert et al, 1999). I Colberts et al studie ses god effekt mot smärta. I en annan studie (Izdes et al, 2003) på patienter som genomgick knäartroskopier visade sig NSAID (piroxicam) intraartikulärt ha en bättre analgetisk effekt på leder som bedömdes vara inflammerade än på de leder som bedömdes vara icke-inflammerade. Den anti-inflammatoriska effekten av NSAID kunde hjälpa till att minska smärtan efter artroskopi.

Ett flertal olika biverkningar har setts efter behandling med per oral, intramuskulär och intravenös behandling med NSAID. Toxiciteten skiljer sig mellan behandlingsformer, substanser och vilka doser som getts. Det är oklart hur mycket NSAID påverkar den katabola processen i leden och hur mycket av den positiva effekten på symptomen som beror på den analgetiska effekten eller att inflammationer på andra ställen i kroppen också dämpas.

Hyaluronsyrepreparat

Hyaluronsyra för intraartikulär behandling finns som natriumhyaluronat (NH). Det finns tre hyaluronsyrepreparat tillgängliga för veterinärmedicinsk användning i Sverige.

- Hylartil vet, *Orion Pharma Animal Health*
- Hyonate Vet, *Bayer Animal Health*
- HY-50 Vet, *Vet Medic*.

Den förstnämnda är framställd av tuppkam, de två sista av bakteriekulturer. Halveringstiden uppges vara 9-13 h för Hyonate Vet (FASS vet, 2013).

Verkningsmekanismen för NH är inte fullständigt klarlagd men det är visat att NH fungerar som en inflammationshämmare. I en studie (Santalego et al, 2007) ser man att mängden inflammatoriska produkter hos synoviocyter minskar signifikant i en lösning där NH tillsätts.

Intraartikulär injektion av hyaluronat har på människor med osteoartrit visat sig lindra smärta och öka ledens rörlighet. Klinisk erfarenhet och undersökningar på häst visar att det kan finnas liknande effekter hos detta djurslag. Genom sin höga viskositet minskar hyaluronsyran friktionen i leden och därigenom också risken för att brosket ska fibrilleras. HA har också analgetisk effekt genom att minska sensitiviteten i nervändar i leden (Caron, 2005). Vid intraartikulär behandling med NH kan en mild reaktion uppkomma i den behandlade leden. Det anses ändå vara en säker behandling.

Kortikosterioder

Substanser tillgängliga i Sverige:

- metylprednisolonacetat (Depo-Medrol 40 mg/mL)
- betametasonacetat (Celeston bifas 6 mg/mL)
- triamcinolonacetat (Kenacort T 10 mg/mL)

Kortikosteroiderna ovan är registrerade för humant bruk i Sverige. De används för intraartikulära injektioner till häst enligt kaskadprincipen.

Intraartikulär behandling med kortikosteroider är en av de vanligaste behandlingarna vid ledinflammation och har använts sedan mitten av 1950-talet på hästar. Kortikosteroider verkar antiinflammatoriskt och immunosupprimerande, dels indirekt genom att påverka genernas uttryck och dels direkt genom signalsystem i cytoplasman.

Det är en fördel att ge glukokortikoiderna lokalt för att minska risken för systemiska bieffekter. Glukokortikoider som injiceras i leder blandas i svårlösliga beredningar för att öka depåeffekten och minska diffusionen från injektionsplatsen vilket därmed också minskar risken för systemiska bieffekter.

PSGAG och PPS

Substanser tillgängliga i Sverige:

- Polysulfaterade glukosaminoglykaner (Adequanin vet)
- Natriumpentosansulfat (Cartrophen vet)
- Kalciumpentosansulfat (Pentosan Equine Injection)

Adequanin är godkänt i Sverige för intramuskulär injektion. Vid behandling rekommenderas injektion av 5 ml var fjärde dag, upp till max 7 gånger (FASS, 2013). Cartrophen och Pentosan kan användas intraartikulärt och intramuskulärt. Cartrophen finns enbart registrerat för hund i Sverige men kan användas till häst enligt kaskadprincipen. Pentosan Equine Injection kan tas in på licens till häst i Sverige.

Polysulfaterade glukosaminoglykaner (PSGAGs) består framförallt av kondroitinsulfat och liknar mukopolysackariderna i broskets matrix. Den exakta verkningsmekanismen är inte klarlagd men antas bero på att sulfatgrupperna hämmar brosknedbrytande enzymer vid ledinflammation. Detta gör att PSGAGs anses skydda brosket mot nedbrytning. Genom att inhibera prostaglandinsyntesen fungerar PSGAGs antiinflammatoriskt i leden och de bidrar även till ökad syntes av hyaluronsyra samt en ökad syntes av broskmatrix (Caron, 2005).

I samband med användning av PSGAGs har en ökad blödningstid setts vilket gör preparatet olämpligt att använda i samband med operation (FASS, 2013). Det finns få kliniska studier (Hamm et al, 1984; Collins, 1989) på effekten av PSGAG på halta hästar och oftast har studierna bara gjorts på ett fåtal hästar eller utan att man haft kontrollgrupper att jämföra med. En kontrollerad studie (Gaustad et al, 1995) visar att PSGAG har lika bra effekt som hyaluronsyra.

Pentosanpolysulfat (PPS) är en närbesläktad substans som också innehar antiartritiska egenskaper. PPS hämmar flera katabola enzymer i leden och främjar syntes av proteoglykaner. Den finns dels i en natriumform (NaPPS) och dels i en kalciumform (CaPPS) Intramuskulär injektion av CaPPS ger en signifikant koncentration i ledvätska jämfört med intramuskulär injektion av PSGAG (Fuller, 2002).

IRAP

Interleukin-1-receptorantagonistprotein (IRAP), registrerat som en medicinteknisk produkt och inte som ett läkemedel, används intraartikulärt till häst i Sverige. IRAP tillverkas genom att en patients blod inkuberas tillsammans med glaskulor klädda med ett tunt lager kromsulfat. Blodet centrifugeras och så kallat autologt konditionerat serum (ACS) tas tillvara vilket sedan kan användas till intraartikulär injektion (Meijer et al, 2003). Innehållet i injektionerna kan variera och eftersom varje veterinär framställer sin egen produkt finns ingen kontroll av slutproduktens innehåll eller sterilitet.

IRAP har studerats som behandling i modeller av ekvin artros och i dessa studier har en positiv effekt påvisats (Frisbie et al, 2007). Inga kliniska studier på häst har publicerats men studier på människa har visat på en bättre effekt av Orthokin (namnet på produkten när den används till människa) än koksalt och hyaluronsyra som använts i placebogrupperna (Baltzer et al, 2009).

Normgruppen för hästpraktik inom Svenska veterinärförbundet anser att IRAP kräver ytterligare dokumentation innan det kan rekommenderas till användning på häst. (Sveriges Veterinärförbunds hemsida, 2012)

Finns det behov av ytterligare preparat för intraartikulär behandling av aseptisk artrit?

Det finns idag ganska få preparat på marknaden för behandling av aseptisk artrit hos häst. Flera av dessa preparat har bristfällig dokumentation med bara ett fåtal gjorda studier avseende effekt eller studier på ett litet material. Ett par av studierna saknar också kontrollgrupper eller är inte blindade så risken för bias är stor. Hos en del av de preparat som används idag finns risk för allvarliga bieffekter. Det finns en god möjlighet för ett nytt effektivt preparat som genomgått riktigt genomförda vetenskapliga studier samt har minimala eller inga bieffekter att spridas till en stor marknad.

MATERIAL OCH METODER

Hästar

I försöket användes sex hästar av rasen varmblodig travare, som behandlades i båda frambenens kotleder. En av dessa hästar behandlades även i karpus vilket gjorde att det, på sex hästar, ingick sju leder i försöket. Hästen som behandlades i både kotled och karpus var en valack, resten var ston. Hästarna var mellan 4 och 15 år gamla. De hade alla tävlat i trav tidigare under olika långa period. Ingen känd information om tidigare skador eller varför de slutat tävlat har funnits. Varje häst fick tillbringa en tid på kliniken innan försöket började för att hinna acklimatisera sig.

För led 1-3 finns information både om klinisk bild efter behandling och analys av plasma, urin och synovia. För led 4-7 finns enbart information om klinisk bild efter behandling.

Häst	Ras	Kön och ålder	Behandlad led och mängd	Kontrollerad behandlad med	Rtg-fynd
Led 1	Varmblodig travare	Valack 4 år	HF kotled 2 ml (3,2 mg NSAID bundet till 20 mg HA)	VF kotled 2 ml NaCl	Inom normala gränser
Led 2	Varmblodig travare	Sto 11 år	VF kotled 2 ml (3,2 mg NSAID bundet till 20 mg HA)	HF kotled 2 ml NaCl	Lindrig osteofyt HF
Led 3	Varmblodig travare	Valack 4 år	HF radiocarpalled 4 ml (6,4 mg NSAID bundet till 40 mg HA)	VF radiocarpalled 4 ml NaCl blandat med 6,4 mg fritt NSAID	Inom normala gränser
Led 4	Varmblodig travare	Sto 8 år	HF kotled 2 ml (3,2 mg NSAID bundet till 20 mg HA)	VF kotled 2 ml hyaluronsyra	Inom normala gränser
Led 5	Varmblodig travare	Sto 15 år	VF kotled 2 ml (3,2 mg NSAID bundet till 20 mg HA)	HF kotled 2,5 ml Hylartil	Inom normala gränser
Led 6	Varmblodig travare	Sto 13 år	HF kotled 2 ml (3,2 mg NSAID bundet till 20 mg HA)	VF kotled 3 ml Hylartil	Inom normala gränser
Led 7	Varmblodig travare	Sto 15 år	VF kotled 4 ml (6,4 mg NSAID bundet till 40 mg HA)	HF kotled 2 x 2 ml hyaluronsyra	Inom normala gränser

Tabell 1 Översikt över hästar som ingick i försöket samt hur de behandlades.

Undersökningar inför behandling

Inför försökets start samt före varje provtagningstillfälle genomförde en erfaren veterinär en noggrann klinisk undersökning av hästen. Allmäntillstånd bedömdes och kroppstemperatur mättes. Hästens framben bedömdes avseende förekomst av galla i aktuell led, värme, diffus svullnad runt leden samt digitalpuls. Eventuella fynd graderades mellan ingen, lindrig, måttlig och kraftig. Hästens rörelser på rakt spår i skritt och trav på hårt underlag bedömdes mellan ohalt (0) och blockhalt (5). Denna kliniska undersökning med kontroll av rörelser och extremiteter genomfördes totalt sju gånger på varje häst.

Innan försöket startade genomfördes också en röntgenundersökning på varje häst med tre (karpus) eller fyra (kotled) projektioner av de utvalda lederna på varje framben. Röntgenfynd på lederna bedömdes på en skala mellan ingen, lindrig, måttlig eller kraftig. För att hästen skulle inkluderas i försöket krävdes att den var frisk enligt den kliniska undersökningen, ohalt på frambenen i skritt och trav på rakt spår, hade inga till lindriga palpatoriska fynd på extremiteterna och inga röntgenfynd i den leden som skulle behandlas. Under försökets gång mättes rörelserna med Lameness Locator® (LL) dels innan behandlingen utfördes (dag 0) och dels enligt protokoll mellan sex och nio gånger till i samband med provtagning.

LamenessLocator®

Lameness Locator® (LL) är ett trådlöst system baserat på sensorer som objektivt kan upptäcka och mäta asymmetri i rörelsen hos hästar. Systemet består av tre sensorer som fästs icke-invasivt på hästen genom specialutformade hållare eller tejp. Två accelerometrar fästs högst upp i grimman på hästens huvud respektive högst upp på hästens kors och en gyrometer fästs på hästens högra framben dorsalt på kotbenet. Sensorerna på huvud och kors mäter rörelse och acceleration i höjdlid och sensorn på frambenet mäter antalet steg, stegcykeln samt är också en markering för vilket ben som rör sig när. Genom den trådlösa kopplingen till en dator kan informationen samlas in och analyseras i realtid.

Hästen mäts i trav på rakt spår under minst 25 steg. Sensorerna registrerar eventuella skillnader i rörelserna mellan höger och vänster sidas kroppshalva. En häst som är ohalt uppvisar normalt sett ett närmast symmetriskt rörelsemönster. En häst som är halt på ett framben försöker avlasta det vid rörelse genom att antingen sjunka ner mer än normalt med huvudet när det icke-halta frambenet belastas eller genom att höja huvudet mer än normalt när det halta frambenet belastas. Skillnaden mellan huvudets max- och min-position (Head diff min/max) mäts av systemet och en skillnad på mer än ± 6 mm i amplitud räknas som hälta (Keegan et al 2009). På liknande sätt ändrar sig bäckenets position hos en häst med avvikande rörelsemönster på grund av bakbenshälta; antingen höjs korset på det halta benet eller så niger hästen mer än vanligt på det friska benet. Rörelsemönstret för korset räknas också ut med max- och min-position (Pelvis diff min/max). En skillnad på mer än ± 3 mm anses vara ett tecken på hälta för bakbenen. Ett

medelvärde och standardavvikelse för alla steg som mäts räknas också ut. Min/max-värdena jämförs med standardavvikelsen och ska vara större än standardsavvikelsen för att visa på hälta.

En kvot för A1/A2 visar hur stor assymetri som hästens rörelser visar. A1 är en rörelse i vertikal riktning som uppkommer en gång per stegcykeln och antas vara hälta. A2 är bifasisk och representerar det normala rörelsemönstret i en stegcykel. En kvot över ± 0.5 indikerar att en hälta föreligger på ett framben och en kvot på mer än $\pm 0,17$ mm indikerar att hälta föreligger på ett bakben. Ju högre värdet är desto större sannolikhet att det föreligger en "äkta" hälta. Mätningen kan påverkas om hästen kastar med huvudet för att den blir busig eller rädd samt om den som springer med hästen påverkar dess huvudposition genom grimskaflet. Systemet kan korrigera för vissa störningar men i de fallen där störningarna riskerat att påverka resultaten har mätningarna i försöket gjorts om.

Provtagning före behandling

Före behandling togs dels ett synoviaprov med aseptisk teknik, dels ett blodprov från jugularvenen med hjälp av vacutainer. Urinprov samlades in samma dag som behandlingen inleddes eller dagen innan. En utökad rörelsekontroll med LL genomfördes på morgonen innan försöket startade.

Behandling

Den led som skulle behandlas klipptes och tvättades med Hibiscrub och sprit. En intraartikulär injektion med preparat X gjordes sterilt i kotleden, eller vid ett tillfälle karpus, på ena frambenet. Koncentration läkemedel i preparat X var 10 mg hyaluronsyra/ml samt 1,6 mg NSAID/ml.

I motsvarande led på det andra frambenet injicerades på samma sätt en kontrollsubstans, natriumklorid (NaCl) i de två första lederna, fritt NSAID i den tredje och hyaluronsyra i de fyra sista. Efter behandling lades ett enkelt bandage kring varje kotled (plåsterspray på karpus). Hästarna stod inne på box de första 24 timmarna efter behandling. De följande dagarna gick de ensamma i en grushage på 20 x 20 meter.

Provtagning efter behandling

En steril provtagning av synovia från behandlad led och kontroll led utfördes på varje häst under de första tre försöken efter 30 min, 2 h, 6 h, 12 h, 24 h, 48 h, 72 h, 8 dagar och 16 dagar från behandlingen. Efter provtagning i en led lades ett enkelt bandage runt varje kotled som fick sitta på i åtta timmar. Vid varje provtagningstillfälle togs också ett blodprov till serumrör med hjälp av vacutainer från jugularvenen. En utökad rörelsekontroll med LL gjordes vid 1-2 tillfällen under första dygnet och sen efter 24 h, 48 h, 72 h, 8 dagar samt 16 dagar. Urinprov samlades in dag 8 och 16.

Efter de tre första försöken justerades protokollet något och i de följande fyra försöken undersöktes och provtogs hästarna efter 12 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 7 dagar, 10 dagar och

14 dagar från behandlingstillfället (dag 0). Mätningar med LL utfördes vid alla dessa tillfällen. Urinprov samlades in dag 7 och 14.

Resultatet från de kliniska undersökningarna antecknades i protokoll. Blod- och synoviaproven centrifugerades och den utvunna plasman från blodprovet samt supernatanten från synoviaprovet frystes in direkt efter provtagningen. Urinproven ställdes i kylskåp så fort de samlats in och frystes samma dag som proven tagits. Proverna analyserades inom fyra månader efter provtagningstillfället och de tinades inte upp inom denna period.

I synoviaproverna analyserades mängden NSAID för att kunna mäta metaboliseringen av preparat X. Genom att se hur lång tid preparat X finns i mätbara nivåer i leden kan också halveringstid räknas ut. Genom att mäta mängden NSAID bundet till hyaluronsyra i den behandlade leden och NSAID som injicerats fritt i kontrolleden kan nedbrytningstiderna jämföras. I blod- och urinproverna analyserades om detekterbara nivåer av NSAID kunde hittas för att på så sätt kunna mäta utsöndring.

RESULTAT

Klinisk bild

På de sex hästar (sju leder) som ingick i försöket sågs ingen akut biverkning i form av akut inflammatorisk reaktion i eller kring den behandlade leden, feber eller hälta, enligt veterinärens bedömning. Hos två av sex hästar (sju leder) sågs ingen reaktion varken i den behandlade leden eller kotleden.

Hos tre av sex hästar (sju leder) som behandlats med preparat X noterades anmärkningar på den kliniska bilden under försökets två veckor.

- Häst 2 (led 2) som behandlades i kotled VF hade en lindrig galla i samma led innan försöket startade. Vid mätningen efter 6 h samt 12 h noterades att gallan blivit måttlig. Efter 24 h bedömdes den åter som lindrig och efter 16 dygn bedömdes gallan vara borta.
- På den tredje hästen (led 4) uppkom en lindrig-måttlig galla i den behandlade kotleden på HF 12 timmar efter behandling med preparat X. Gallan kvarstod under hela försökets gång tillsammans med en intermittent diffus svullnad över kotleden.
- På den fjärde hästen (led 5) sågs efter 12 timmar lindriga gallor i både kotled VF (behandlad med preparat X) samt kotled HF (behandlad med Hylartil som kontroll). Gallan på VF var konstant under försökets gång medan gallan på HF var intermittent.

Fyra av sex hästar (sju leder) som behandlats med kontrollsubstans i form av natriumklorid (NaCl), fritt NSAID eller hyaluronsyra visade någon form av anmärkning i den kliniska undersökningen under försökets gång.

- På den första hästen (led 3) som behandlats med fritt NSAID som kontroll i karpus VF noterades efter 24 h lindrig värme över hela benet och lindrigt förstärkt digitalpuls. Efter 72 h sågs en lindrig diffus periartikulär svullnad över karpus som bedömdes vara borta vid nästa undersökning efter 8 dygn.
- På den tredje hästen (led 4) uppkom efter 10 dygn en mkt lindrig diffus periartikulär svullnad över kotleden VF som behandlats med hyaluronsyra.
- På den fjärde hästen (led 5) sågs en lindrig galla efter 12 h, 24 h, 7 dygn och 10 dygn i HF kotled som behandlats med Hylartil. Efter 14 dygn bedömdes gallan som lindrig-måttlig.
- På den femte hästen (led 6) sågs en lindrig galla efter 12 h, 72 h och 10 dygn i kotled VF som behandlats med Hylartil. Däremellan bedömdes leden vara utan galla.

Lameness Locator®

Hos två av sex hästar (sju leder) som behandlats med preparat X sågs en ändring av LL-värdena för asymmetri.

- På den andra hästen (led 2) som behandlats med preparat X i kotled VF sågs enligt LL en hälta på detta ben på 0-provet. Vid mätningen efter 6 h och efter 48 h sågs också en vänstersidig hälta men vid 24 h och efter 48 h sågs inga asymmetrier som indikerade en hälta.
- På den första hästen (led 3) som behandlats med preparat X i radiokarpaleden HF sågs vid flera mätningar en asymmetri som tydde på en vänstersidig framhälta. Vid ett mättillfälle, efter 72 h, bytte denna asymmetri sida och indikerade istället en högersidig hälta.

Hos fyra av sex hästar (sju leder) som behandlats med kontrollsubstans i form av NaCl, fritt NSAID eller hyaluronsyra sågs en ändring av LL-värdena från ett 0-värde som visade på symmetri till ett värde som indikerade att hälta förelåg.

- På den första hästen (led 1) som behandlats med NaCl i kotled VF uppmättes efter 2 h en vänstersidig framhälta enligt LL. Assymetrin kvarstod i mätningarna efter 6 h, 24 h och 48 h för att därefter återgå till normala värden igen.
- På den första hästen (led 3) som behandlats med NaCl och fritt NSAID som kontroll i radiokarpaled VF sågs efter 24 h och 48 h en asymmetri som indikerade en vänstersidig framhälta. Efter 72 h sågs en liknande asymmetri men nu på höger sidas framben. Efter 8 dygn och 16 dygn visade mätningarna med LL på en vänstersidig frambenshälta igen.
- På den fjärde hästen (led 5) som behandlats med Hylartil i kotled HF som kontroll sågs en intermittent lindrig högersidig framhälta efter 48 h, 7 dygn och 14 dygn.
- På den femte hästen (led 6) som behandlats med Hylartil i kotled VF sågs en asymmetri vid mätningarna efter 72 h, 7 dygn, 10 dygn och 14 dygn som indikerade att en vänstersidig frambenshälta förelåg.

Synoviaprover

Halveringstiden för NSAID i synovia varierade på de tre första hästarna mellan 7 och 19 timmar. Efter behandling med 2 ml av preparat X (3,2 mg NSAID bundet till 20 mg hyaluronsyra) i led 1 och 2 kunde NSAID påvisas upp till 48 h. I led 1 sågs efter 30 min den högsta nivån på 3570 ng/mL. I led 2 sågs efter 2 h den högsta nivån på 11400 ng/mL.

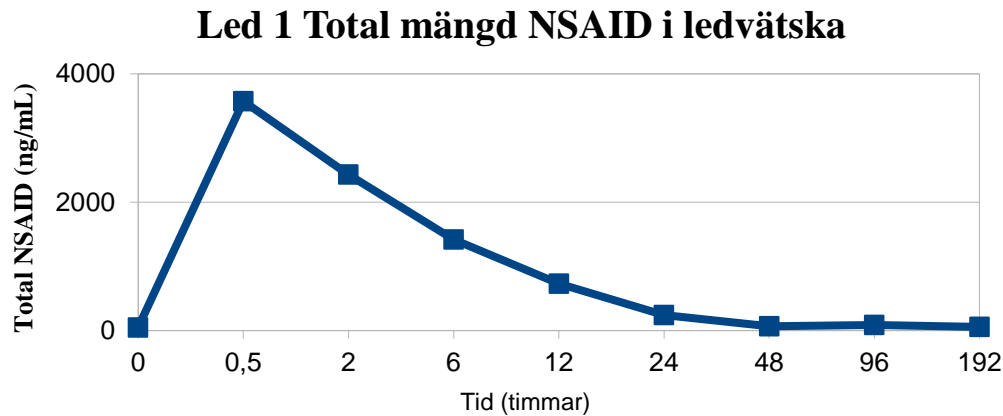


Diagram 1 Total mängd NSAID i ledvätska i kotled HF efter behandling med preparat X.

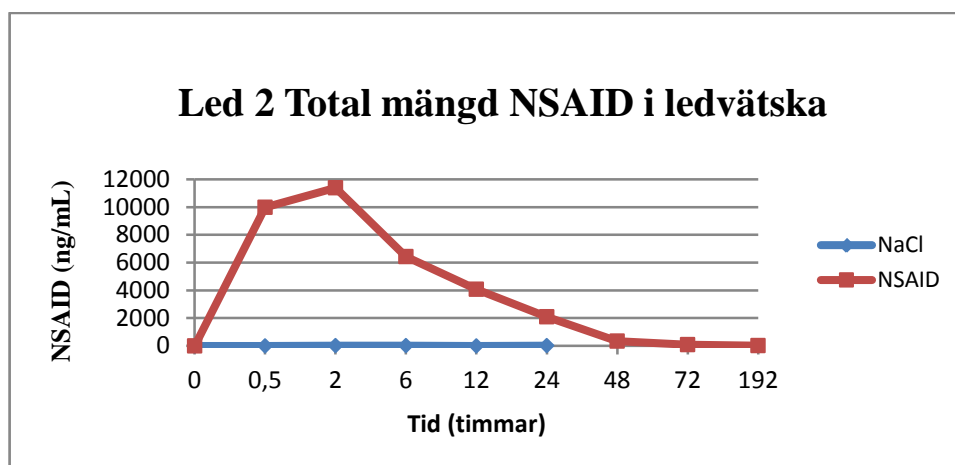


Diagram 2 Total mängd av NSAID i kotled VF (behandlad med NSAID bundet till hyaluronsyra) och kotled HF (behandlad med NaCl)

Den tredje leden som behandlades med preparat X (6,4 mg NSAID bundet till 40 mg hyaluronsyra) var en radiokarpalled. Kontrollleden, radiokarpalleden på det andra frambenet, behandlades med 6,4 mg fritt NSAID. Vid mätning av totalmängden NSAID i ledvätskan ses att NSAID verkar finnas kvar under en längre tid i HF (upp till 48 h) jämfört med i VF (12 h). I VF ses en högre topp av läkemedel (30000 ng/mL) än vad som kan ses i HF (14000 ng/mL).

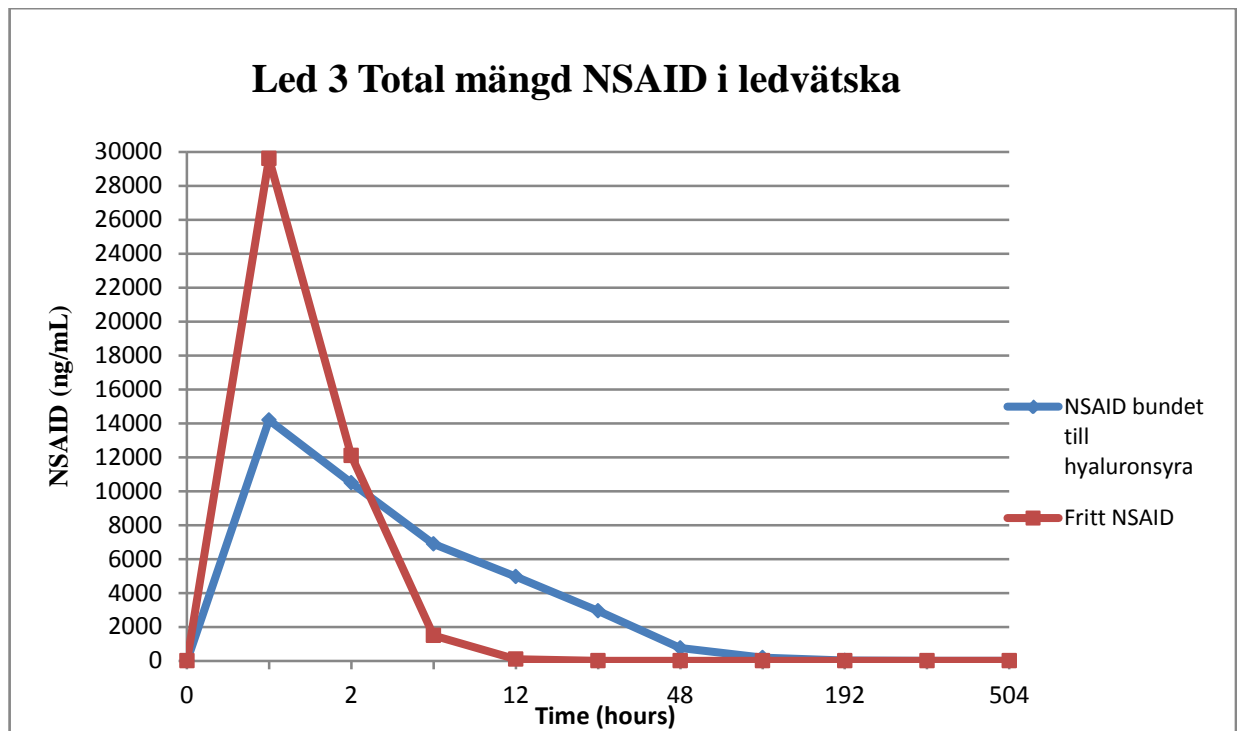


Diagram 3 Total mängd av NSAID i HF radiokarpalled (behandlad med NSAID bundet till hyaluronsyra) och VF radiokarpalled (fritt NSAID som kontroll). Efter 30 min har proverna från VF ett värde på 30000 ng/mL och HF 14000 ng/mL. Vid 2 h är värdena ungefär på samma nivå. Efter 12 h är värdena från VF nere runt 0 medan värdena från HF tar fram till 48 h innan de blir runt 0.

Blodprover

Inga detekterbara nivåer av NSAID i blodet kunde påvisas på den första och andra hästen (led 1 och 2). Hos hästen med led 3 sågs detekterbara nivåer i plasma efter 30 min, 2 h och 6 h.

Provtagning	ng/mL plasma led 1	ng/mL plasma led 2	ng/mL plasma led 3
0-prov	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125
30 min	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125	1.69
2 h	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125	1.56
6 h	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125	0.218
12 h	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125
24 h	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125
48 h	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125
72 h	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125
8 d	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125
16 d	BLOQ<0.125	BLOQ<0.125	0.143*

Tabell 2 Resultat av blodprov på hästar med led 1, 2 och 3. BLOQ<0.125 betyder att halten varit obefintlig eller så låg att den inte går att påvisa.

* störningar har uppkommit vid mätning, kan tolkas som BLOQ<0.125

Urinprover

I urinprov från hästen med led 1 kunde ingen NSAID påvisas. På den andra hästen (led 2) och den första hästen (led 3) sågs utsöndring av mätbara nivåer av NSAID efter 24 h, 48 h och 16 dygn. Hästen med led 2 hade det högsta uppmätta värdet efter 48 h medan hästen med led 3 hade det redan efter 24 h.

Provtagning	ng/mL urin led 1	ng/mL urin led 2	ng/mL urin led 3
0-prov	BLOQ<0.125	0.362*	0.469*
30 min			
2 h			
6 h			
12 h			
24 h	BLOQ<0.125	2.61	4.82
48 h	BLOQ<0.125	5.62	1.32
72 h			
8 d			
16 d	BLOQ<0.125	0.234	0.269

Tabell 3 Resultat av urinprov. BLOQ<0.125 betyder att halten varit obefintlig eller så låg att den inte går att påvisa.

*störningar har uppkommit vid mätning, kan tolkas som BLOQ<0.125

DISKUSSION

Syftet med pilotprojektet var att studera eventuella akuta biverkningar efter behandling med preparat X för att kunna gå vidare med studier på ett större antal hästar. Målet med preparat X är att det med tiden ska bli godkänt som läkemedel till häst. Syftet med pilotprojektet har också varit att mäta halveringstiden av preparat X i ledvätska samt utsöndring i plasma och urin.

Inga akuta biverkningar som akut hälta, feber eller inflammatoriska reaktioner mot preparatet har setts i studien. Tre av sju leder som behandlats med preparat X och fyra av sju leder som behandlats med kontrollsubstans (NaCl, fritt NSAID och hyaluronsyra) fick anmärkningar på den kliniska bilden under försökets gång. De förändringar som sågs var övergående gallor i kotleden, en ökning av redan befintliga gallor samt lindrig periartikulär svullnad. Det finns inget i pilotstudien som talar mot utvidgade försök med preparat X.

Då inget samband kan ses mellan den kliniska bilden och vilken preparat som injicerats är det högst troligt att reaktionerna uppkommit till följd av själva ledpunktionerna. De leder som ingår i försöket har efter behandling blivit stuckna mellan nio och tio gånger under två veckor för provtagning av ledvätska. Ledpunktionerna har genomförts aseptiskt men de kan ha gett upphov till blödning och lokal irritation vid punktionsstället. För att säkerställa vad som är en sann reaktion på preparatet och inte på de frekventa provtagningarna av leden bör kanske de två delarna av projektet (biverkningar och halveringstid) testas var för sig.

De anmärkningar på den kliniska bilden som noterats kan också ha uppkommit av andra orsaker. Det är tänkbart att hästarna har skadat sig själva under sin hagvistelse på dagtid eller nattetid i sin box. Försökshästarna hade olika temperament och en del av dem var mer oroliga än andra. Provtagningar och undersökning av den kliniska bilden genomfördes på morgonen av samtliga hästar (förutom 12 h-provet som var på kvällstid). De flesta hästar hämtades direkt ur boxen men vid några tillfällen hann de gå ut en stund i hagen före undersökning vilket kan ha påverkat graden av ledfyllnad och periartikulär svullnad.

För två av sju leder som behandlats med preparat X och för fyra av sju leder som behandlats med kontrollsubstans ändrades mätvärdena på LL från att hålla sig inom gränsvärdena för assymmetri vid 0-provet till att visa på en assymmetri på det aktuella benet under försöket. Det går inte att se några samband mellan anmärkningar på den kliniska bilden och LL-mätningar över gränsvärdena.

Vid mätningar med LL finns det flera felkällor som påverkar resultatet. Det är en fördel om det är samma person som springer med hästen vid alla mätningar. Dels är det lättare att springa i samma hastighet och dels kan den som leder hästen påverka den omedvetet genom tryck i grimma och grimskäft. I denna studie var det olika personer som sprang med hästarna vid de olika mättillfällena. Om hästen stått stilla före mätningen eller om den är uppvärmd kan påverka hur den travar och vilket mätvärde som fås. Hästens

mentala status för dagen kan också påverka mätresultatet genom att den reagerar olika mycket för störningar.

Korrelationen mellan den kliniska bilden i form av galla, värme, diffus svullnad och förstärkt digitalpuls samt indikationer på hälta med mätning av LL är inte tydlig. Det behövs ett större material av hästar för att kunna upptäcka om det finns ett mönster.

Vid ett par tillfällen registrerade LL en asymmetri på hästarna i försöket där veterinärerna bedömde hästen som ohalt. Mätningen med LL är känsligare och kan upptäcka mindre asymmetrier än det mänskliga ögat kan registrera. I en studie (McCracken et al 2012) undersöktes hur tidigt en mild hälta kunde upptäckas av ett sensorbaserat datasystem jämfört med tre erfarna hästveterinärer. I studien sågs att datasystemet kunde välja rätt ben på mer låggradiga hältor än de tre veterinärerna ($P < 0.0001$). Datasystemet valde också rätt ben före veterinärerna i 58.33% av de 60 gångerna som försöket genomfördes.

Halveringstiden av NSAID i ledvätska på de tre första hästarna i studien var mellan 7 och 19 timmar. På hästen med led 3 som behandlats med preparat X i HF och fritt NSAID i VF ses en tydlig skillnad mellan hur lång tid NSAID kan påvisas i lederna. I HF kan NSAID detekteras upp till 96 h och i VF bara till 12 h. Det tyder på att tiden för nedbrytning är längre för preparat X än fritt NSAID. Den högsta nivån av NSAID i leden skiljer sig också mellan preparat X och fritt NSAID. För att undersöka om den längre nedbrytningstiden och skillnaden i högsta nivå har någon klinisk effekt på patienter med ledinflammation måste ytterligare studier genomföras.

Vid mätning av halveringstid genom provtagning av synovia finns ett par felkällor som bör finnas i åtanke vid tolkning av resultatet. Varje gång synovia tas ur leden kommer en liten del av läkemedlet som injicerats i leden att följa med ut tillsammans med synovia. Därmed kommer mängden läkemedel inuti i leden att minska efter varje provtagning. Vid ledpunktion för att ta ut synoviaprov finns risk att läkemedlet som injicerats inuti leden kommer i kontakt med vävnader och blodbanan utanför leden vilket kan ge utslag på plasma- och urinprover.

NSAID kunde påvisas i plasma efter 30 min, 2 h och 6 h på hästen som fått en högre dos av läkemedel och behandlats med fritt NSAID i kontrollleden (led nr 3). I de andra två blodproven (från häst med led 1 och led 2) kunde inte preparatet påvisas alls i blodet. Det stödjer teorin om att NSAID vid behandling med preparat X skulle stanna kvar längre i leden vilket kan ge läkemedlet en bättre effekt och därigenom möjlighet att verka genom färre antal behandlingar. Utsöndringen i plasma påverkas självklart av vilken dos som hästarna behandlas med. När lämplig dos för att uppnå terapeutisk effekt hos patienter har fastställts bör ny mätning av plasmaprover genomföras för att säkerställa hur lång tid preparatet kan påvisas.

I urinprovet för hästen med led 1 kunde ingen NSAID påvisas. I urinprov för de provtagna hästarna med led 2 och 3 sågs en låg men fortfarande påvisbar halt 24 h, 48 h och 16 dagar efter behandling. En långsammare nedbrytning av preparatet i leden ger en längre verksam tid vilket också troligtvis påverkar hur lång tid efter behandling som preparatet

kan detekteras i blod- och urinprov. Ur dopingsynpunkt är det viktigt med fler studier som kan visa exakt hur lång tid det tar innan preparatet går ur kroppen. Karenstider för tävling måste kunna bestämmas på ett säkert sätt så att hästarna inte riskerar att tävla med preparatet i kroppen. En lång halveringstid riskerar att ge en lång karenstid vilket kan göra preparatet mindre intressant för de som har tävlingshästar.

REFERENSER

- Balazs, E., Watson, D., Duff I. (1967) Hyaluronic acid in synovial fluid. 1. Molecular parameters of hyaluronic acid in normal and arthritic human synovial fluid. *Athritis Rheom*, volym 10, s 357-376
- Baltzer, A.W., Moser, C., Jansen, C.A., et al (2009) Autologous conditioned serum (Orthokine) is an effective treatment for knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, volum 17, s 152-160
- Basbaum, A.I., Levine, J.D. (1991) The contribution of the nervous system to inflammation and the inflammatory disease. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, volym 69, s 647-651
- Bertone, A.L. (2004) Joint physiology: responses to exercise and training. *Equine sports medicine and surgery*, Elsevier Ltd, kap 9, s 152-160.
- Bertone, A., L. (2011) Noninfectious arthritis. *Lameness in the horse*, Elsevier Saunders, kap 66, s 687-690.
- Caron, J.P. (2005) Intra-articular injections for joint disease in the horse. *Vet Clin North Am Equine Pract*, nr 21, s 559-573
- Colbert, S., T., Curran, E., O'Hanlon, D., M., Moran, R., McCaroll, M. (1999) Intra-articular tenoxicam improves postoperative analgesia in knee arthroscopy. *Can J Anest*, 46:7, s 653-657
- Collins, E.A. (1989) Use of polysulfated glycosaminoglycans in equine lameness. *Veterinary Record*, nr 124, s 89-90
- FASS VET (2013) s 96-97
- Frean, S.P., Abraham, L.A., Lees P. (1999) In vitro stimulation of equine articular cartilage proteoglycan synthesis by hyaluronan and carprofen. *Resarch in Veterinary Science*, volum 67, nr 2, s 183-190
- Frisbie, D. D.(2006a) Synovial joint biology and pathobiology. In: *Equine Surgery*. 3rd ed. Auer, J.A. Stick, J.A. Saunders, Elsevier Inc Missouri, USA, pp 1055-73
- Frisbie D.D., Kawcak, C.E., Werpy, N., et al. (2007) Clinical, biochemical and histologic effects of intra-articular administration of autologous conditioned serum in horses with experimentally induced osteoarthritis. *Am Journal of Veterinary Research*, volym 68, s 290-296
- Fuller, C.J., Ghosh, P., Barr, A.R.S. (2002) Plasma and synovial fluid concentrations of calcium pentosan polysulphate achieved in the horse following intramuscular injection. *Equine Vet Journal*, volym 34, s 61-64
- Gaustad, G., Larsen, S. (1995) Comparison of polysulphated glycosaminoglycan and sodium hyaluronate with placebo in treatment of traumatic arthritis in horses. *Equine Veterinary Journal*, nr 27, s 256-262
- Goldring, M.B. & Otero, M. (2011) Inflammation in osteoarthritis. *Current opinion in Rheumatology*. 23, 471-478.
- Goodrich, L., R. (2006) Medical treatment of osteoarthritis in the horse – A review. *The Veterinary Journal*, volym 171, upplaga 1, s 51-69
- Hamm, D., Goldman, L., Jones, E.W. (1984) Polysulfatd glycosaminoglycan: a nes intra-articular treatment for equine lameness. *Vet Med Small Animal Clin*, nr 79, s 811-816
- Hardy, J., Bertone, A. L., Muir, W. W. (1996) Joint pressure influences synovial tissue bloodflow as determined by colored microspheres, *Journal of Applied Physiology*, volym 80, s 1225-1232
- Izdes, S., Orhun, S., Turanli, S., Erkilic, E., Kanbak, O. (2003) The effects of preoperative inflammation on the analgesic efficacy of intraarticular piroxicam for outpatient knee arthroscopy. *Anasthesia & Analgesia*, vol 97, nr 4, s 1016-1019.

- Jordbruksverket (2008) <http://statistik.sjv.se/Dialog/Saveshow.asp> (2012-12-10)
- Karin, M. (1998) New twists in gene regulation by glucocorticoid receptor: is DNA binding dispensable? *Cell*, volym 93, s 487-490
- Keegan, K.G., Sifuentes S., Halliday, J., Messbarger, Q. (2009) Lameness Locator training manual. Equinosis LLC.
- Keegan, K. G., Wilson, D. A., Wilson D. J., Smith B., Gaughan E.M., Pleasant R.S., Lillich J.D., Kramer J., Howard R. D., Bacon-Miller C., Davis E.G., May K.A., Cheramie H.S., Valentino W.L., van Harreveld P.D. (1998) Evaluation of mild lameness in horses trotting on a treadmill by clinicians and interns or residents and correlation of their assessments with kinematic gait analysis. *American Journal of Veterinary Research*, 59 (11), s 1370-1377
- Lees, P., Landoni, M. F., Giraudel, J., Toutain, P.L. (2004) *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, volym 27, nr 6, s 479-490
- Läkemedelsverket (2010). Medicinsk ledbehandling vid aseptisk/traumatisk ledinflammation på hast – ny rekommendation, *Information från Läkemedelsverket*, supplement 1:2010
- McCracken, M. J., Kramer J., Keegan K.G., Lopes M., Wilson D. A., Reed S. K., LaCarrubba A., Rasch M. (2012) Comparison of an inertial sensor system of lameness quantification with subjective lameness evaluation. *Equine Veterinary Journal*, volym 44:6, s 652-656
- Meijer, H., Reinecke, J., Becker, C., et al. (2003) The production of anti-inflammatory cytokines in whole blood by physio-chemical induction. *Inflamm Res*, volym 52, s 404-407
- Palmer, J.L, Bertrone, A.L (1994) Review article: Joint structure, biochemistry and biochemical disequilibrium in synovitis and equine joint disease. *Equine Veterinary Journal*, volym 26, s 263-277
- Penell, J. C., Egnvall A., Bonett B.N. Olson P., Pringle J. (2005) Specific causes of morbidity among Swedish horses insured for veterinary care between 1997 and 2000. *Veterinary Record*, 157, s 470-477
- Rang, H.P., Dale M.M., Ritter J.M. et al (2007). Rang and Dale´s Pharmacology. Sixth Edition, Churchill Livingstone, Elsevier, s 427-435
- Ross, M. W. (2001) Lameness in horses: basic facts before starting. *Diagnosis and management of lameness in the horse*, Elsevier Saunders, kap 2, s 3-8
- Santalego K. S, Johnson A. L, Ruppert A. S., et al. (2007) Effects of hyaluronan treatment of lipopolysaccharide-challenged fibroblast-like synovial cells. *Arthritis Res Ther*, upplaga 9, R1
- Sutton, S., Clutterbuck, A., Harris P., Gent, T., Freeman, S., Foster, N., Barrett-Jolley, R., Mobasher, A. (2009) The contribution of the synovium, synovial derived inflammatory cytokines and neuropeptides to the pathogenesis of osteoarthritis. *The Veterinary Journal*, volym 179, s 10-24
- SLU/SVA. Hippocampus (2004-12-09) 271 000 hästar i Sverige. http://hippocampus.slu.se/aktuellt/arkiv.cfm?PageAction=lasmer&arkiv=1&Aktuellt_id=147 (2012-12-10)
- Strand, E., Martin, G.S., Crawford M.P., et al (1998). Intra-articular pressure, elastance and range of motion in healthy and injured racehorse metacarpophalangeal joint, *Equine Vet Journal*, volym 30, s 520-527
- Sveriges Veterinärförbunds hemsida (10/12-12) <http://www.svf.se/sv/Sallskapet/Hastsektionen/Normer-av-medicinsk-karakter/Ledpunktion-och-ledbehandling-vid-ortopediska-sjukdomar/>
- van Weeren, P.R., de Grauw, J.C. (2010) Pain in osteoarthritis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, volym 26, s 619-642