

Inflammationsmarkörer vid tidig leddskada på häst

Projektnamn: Biomarkörer för inflammation och bindvävens hälsotillstånd i leden hos hästar under intensiv träning
Projektledare: Stina Ekman, Inst. för BVF, SLU
Medsökande: Maija-Leena Eloranta, Kjell Hulthenby
Projektnummer: H0547061
År: 2006, 2007, 2008
Kontaktperson: Stina Ekman, 018-67 11 91, stina.ekman@bvf.slu.se

Syfte med studien

Ledinflammationer som förlöper med samtidiga brosk- och bensador (så kallad osteoartrit) är vanliga hos häst. Det är dock ofta oklart om ledinflammationen uppstår före eller efter skadorna i brosk och ben, eller om inflammationen påverkar uppkomsten av övriga skador. Inflammationer och broskets ämnesomsättning regleras till del av cytokiner (små proteiner som verkar som signalsubstanser mellan cellerna) och syftet med projektet var att öka kunskapen om inflammationens betydelse för uppkomsten av brosk-/bensador vid ledinflammation hos häst genom att studera förekomst och effekt av inflammatoriska cytokiner.

Resultat

Vid små frakturer (chip-fragment) i hästens framknä (karpaleden) var aktiviteten av cytokinet interleukin-6 (IL-6) i ledvätskan avsevärt ökad. Däremot sågs inga markanta ökningarna av IL-6 eller cytokinet tumör nekros faktor vid andra sjukliga förändringar i leden.

Vidare konstaterades att broskceller i chip-fragmenten producerade IL-6, men i vissa fall förekom produktion även i ledhinnan. I fragment, samt ledhinnor från leder med chip-fragment påvisades ett utträde från cellerna av det DNA-bindande proteinet high mobility group box protein-1 (HMGB-1), känd för att utanför cellen stimulera till inflammation.

Vid stimulering av broskceller från friska karpalleder med IL-6 och HMGB-1 fanns en tendens till ökad broskbildning, men med individvariation. Däremot visade det inflammatoriska och osteoartrit-associerade cytokinet interleukin-1 (IL-1) en kraftigt hämmande effekt på gener involverade i broskets uppbyggnad och stimulerande effekt på gener för brosknedbrytande ämnen. Vid jämförelse av cytokinernas effekt på celler från pre- och icke predisponerade broskskadeområden sågs ett likartat svar. I broskodlingarna från de två yngre individerna som undersöktes sågs en skillnad på det basala genuttrycket av strukturproteiner mellan pre- och icke predisponerade broskskadeområden.

Metoder

I studierna av cytokinaktivitet i ledvätska analyserades prover från 51 hästar som genomgick artroskopisk ledundersökning. Cytokinaktiviteten analyseras med hjälp av bestämning av den effekt ledvätskan utövade på olika typer av celler som odlats upp på lab.

Förekomsten av cytokiner i ledvävnad baserades på material insamlat från 21 kot- och karpalleder, som även de undersöktes med artroskopi. Proverna färgades in för de aktuella cytokinerna med hjälp av antikroppar riktade mot det specifika cytokinet.

För att kunna studera effekten av de cytokiner vi påvisat i de sjuka lederna utvecklade vi en metod för att studera deras effekt på friskt brosk. Normala broskceller från två områden med olika benägenhet att utveckla broskskador från 4 hästar odlades upp på lab, och fick växa i en tre dimensionell struktur för att efterlikna normal broskvävnad. Efter 14 dagars tillväxt delades cellerna in i olika behandlingsgrupper och stimulerades under 48 h med IL-6, IL-1 och HMGB-1. Cytokinernas effekter utvärderades med hjälp av mätningar av uttrycket för gener associerade med broskbildning, strukturella proteiner, nedbrytande ämnen och dess hämmare. Undersökningarna kompletterades med färgningar för broskkomponenter, och i vissa fall med detektion av proteiner i cellernas omgivande cellodlingsvätska.

Slutsats

Förekomst av aktivt IL-6 i ledvätska och HMGB-1 utanför celler i leder med chip-fragment tyder på ett ökat inflammatoriskt svar i drabbade leder, där chip-fragmentet själv är en aktiv del av den inflammatoriska reaktionen. Mätningar av IL-6 aktivitet kan vara ett komplement till andra diagnostiska metoder för att påvisa chip-fragment i karpaleden.

Metoden för broskodling visade sig användbar för att studera inflammationsmediatorernas inverkan på brosk, och skulle kunna utvecklas vidare, t ex för att undersöka effekt av behandling under inflammatorisk inverkan.

I celler från friskt brosk visade IL-6 och HMGB-1 tendens att stimulera broskbildning, medan IL-1 inducerade nedbrytning av brosket, dvs i lab-miljö gav olika inflammatoriska mediatorer lika eller skild effekt på brosket. Detta kan tyda på att i en inflammerad eller skadad led är balansen mellan olika cytokiner viktig för uppkomsten av broskskador.



Vetenskapliga referenser

Interleukin-6 and tumour necrosis factor in synovial fluid from horses with carpal joint pathology. Ley, C., Ekman, S., Elmen, A., Nilsson, G., Eloranta, M-L. J. Vet. Med A, 54:346, 2007.

Interleukin-6 and high mobility group box protein-1 in synovial membranes and osteochondral fragments in equine osteoarthritis. C. Ley, S. Ekman, B. Ronéus, M.-L. Eloranta. Res Vet Science 2009 Jun; 86(3):490-7.

Det här projektet har fått anslag från Stiftelsen Hästforskning. Det här är en populärvetenskaplig sammanfattning av den slutrapport som forskarna skrivit efter forskningsprojektets slut. Mer information kan fås direkt från forskarna själva eller från Stiftelsen Hästforskning, www.hastforskning.se.