

# Genombrott i artrosforskningen

Hittills har det inte funnits något sjukdomspåverkande läkemedel mot osteoartrit, varken på veterinär- eller humansidan. Därför är Eva Skiöldebrand och hennes medforskare\* forskningsframgångar banbrytande. De har dels lyckats ta fram biomarkörer för tidig diagnostik av sjukdomen, dels ett läkemedel som ser ut att läka inflammationen i ledernas broskceller.

– Jag har alltid haft stark fokuserad målbild att vi ska kunna diagnostisera och bota osteoartrit i ett tidigt skede för att därmed undvika att hästen utvecklar kroniska leddskador samt kronisk smärta, säger Eva Skiöldebrand.

**Text: Mats Janson**

Låggradig ledinflammation (osteoartrit/artros) är den vanligaste orsaken till att hästar blir halta. Sjukdomen är likadan hos flera av våra djurslag, inklusive människa. Hästen utvecklar sjukdomen spontant och den vanligaste orsaken till att sjukdomen utvecklas är den dynamiska kompressionen i lederna som genererar en inflammation, vilken uppstår i samband med hög belastning, exempelvis när unga hästar tränas för hårt och springer i för höga hastigheter.

– Vad forskarsamfundet letar efter nu, med bifall från bland annat U.S. Food and Drug Administration, FDA, alltså motsvarigheten till Läkemedelsverket i Sverige, är sätt att identifiera sjukdomen mycket tidigare än vad vi kan göra idag med diagnostiska metoder som röntgen, ultraljud och MRT. Vi kan med biomarkörerna följa hästar tidigt i ung ålder och identifiera när sjukdomen startar.

Det säger Eva Skiöldebrand, professor i allmän patologi med ledsjukdomen artros hos hästar och människa som sitt huvudsakliga forskningsområde.

– Om man följer travhästar som sätts i träning vid ett och ett halvt års ålder så är det flera som inom några månader utvecklar en begynnande inflammation i lederna som resulterar i en molekyllär nedbrytning av brosket och det underliggande benet som man varken ser eller märker kliniskt. Hästen framstår alltså som frisk fast sjukdomsprocessen har startat, säger hon. Sjukdomen ger sig så småningom till

känna genom subtila symtom på smärta som att hästen betar sig annorlunda jämfört med vad den brukar göra för att sedan visa sig tydligare i form av muskelsmärta och håltor.

Enligt Eva Skiöldebrand har man på människa kopplat artros till andra kroniskt låggradigt inflammatoriska sjukdomar. Har man artros löper man även risk att drabbas av andra kroniska sjukdomar som demens och diabetes, sjukdomar som när de väl upptäckts redan har gått för långt.

– Att människor faktiskt dör av artros har gjort att sjukdomen numera är omklassad av FDA till en "severe disease" och därför, menar de, måste den upptäckas tidigare.

## Artros i dag

Inom den kliniska veterinära verksamheten inom häst har fokus varit och är fortfarande att lokalisera smärtan, vilket är väldigt svårt.

– Att smärtan finns förutsätter vi när vi utreder en häst som har halta eller ridbarhetsproblem. Den måste helt enkelt smärtbehandlas eftersom den, till skillnad från en sjuk hund som man kan bära upp för trapporna, måste prestera. Men att göra det är lite som att gripa efter halmstrån eftersom man enbart behandlar inflammationen och smärtan och inte botar sjukdomen, säger Eva Skiöldebrand.

Även om hästveterinärer har väldigt mycket kunskap om sjukdomen sitter man i en utsatt roll.

– Klinisk erfarenhet är mycket värd och behandlingen ger ofta god klinisk effekt på hältan hos många hästar. Men problematiken är komplex och precis som med människor är inte den ena hästen den andra lik, säger hon och illustrerar problematiken med en rak horisontell linje med en början och ett slut.

– Alla hästar som kommer in för artros befinner sig på helt olika punkter på den här linjen. De kan vara halta och kan ha varit det tidigare och under olika lång tid. De kan var tre, sju eller tolv år gamla, några är i början, några i mitten och några på slutet av skalan, vad gäller ledförändringar. Vi vet att ett läkemedel som fungerar i början sannolikt inte fungerar i mitten. Och det som fungerar i slutet fungerar inte i början. På sikt hoppas vi att vi kan anpassa läkemedel individuellt beroende på var hästen befinner sig i sjukdomsförloppet.

## Genombrott med biomarkörer

Eva Skiöldebrand beskriver sin forskning med biomarkörer som en lång resa. Forskningen startade som ett doktorandprojekt med Stina Ekman och Dick Heinegård som handledare.

– Stina och jag hade träffats några år tidigare och hade en gemensam idé att starta forskning kring tidig diagnostik av artros. Dick Heinegård var världsledande inom broskforskning så vi tillbringade mycket tid i Lund på hans laboratorium.



FOTO: PATRIK CLAESSEN

Då startade vi med att identifiera hela proteinmolekyler som finns i broskvävnaden. När jag sedan flyttade till Göteborg fick vi tillgång till nya avancerade och sensitiva metoder för att identifiera klyvningsprodukterna från proteinerna som generas av inflammationen. Det var ett stort steg framåt vi tog då.

Målet idag, som Eva Skiöldebrand och hennes forskningskollegor är nära att nå, är att använda biomarkörerna för att identifiera sjukdomen tidigare och för att därefter kunna ta fram läkemedel som botar sjukdomen, så kallade "disease modifying drugs", som idag varken finns på human- eller veterinärsidan när det gäller artros. Ett sådant läkemedel skulle läka av cellerna vilket sin tur skulle få cellerna att sluta producera inflammato-

riska komponenter som bryter ned brosk och benvävnad. De reparerade cellerna i leden börjar då bilda ny broskvävnad – en slags hjälp till självhjälp.

– Travhästar är ofta ett och ett halvt år gamla när de körs in och börjar tränas och vi kan se att biomarkörer (biglycan) som identifierar aktivitet i det underliggande benet ökar väldigt tidigt. Biomarkören från brosket (COMP) stiger efteråt. Vi har även identifierat några andra biomarkörer som vi tror identifierar senare stadier i leddskadan. På sikt vill vi bygga ihop alla de olika biomarkörerna till en komplex analysmetod som förutom diagnos kan ge oss kunskap om rehabilitering och prognos. Då kan vi se var på skalan leddskadan hos en häst befinner sig, hur förloppet och prognosen ser ut och så vidare.



## Eva Skiöldebrand

**Bakgrund:** Efter att ha arbetat på Djursjukhuset i Helsingborg började hon på Bayer Animal Health i Göteborg, där hon bland annat arbetade med kliniska läkemedelsprövningar för nya substanser mot ledsjukdomen osteoartrit (artros) hos häst. Intresset för denna sjukdom gjorde att hon inledde forskarstudier vid SLU parallellt med arbetet och disputerade 2004 med en avhandling om den extracellulära bindvävssammansättningen i brosket hos häst och hur den påverkas vid artros och träning. Hon antogs 2015 som docent i patologi med inriktning på bindvävens extracellulära matrix, och blev därefter adjungerad lektor vid SLU. 2018 blev hon professor vid SLU Uppsala.

**Teamet:** Forskarna bakom upptäckterna är, förutom Eva Skiöldebrand, Stina Ekman (professor emerita, Institutionen för BVF, SLU) Elisabeth Hansson (professor vid Institutionen för neurovetenskap och fysiologi, Göteborgs universitet och Anders Lindahl, professor vid Institutionen för Biomedicin vid Sahlgrenska Universitetssjukhuset. I teamet ingår även kliniker Kristina Abrahamsson Aurell från Kungsbacka Hästklinik, Magnus Karlsteen, docent vid Chalmers teknisk högskola, samt en rad andra forskare från SLU, Sahlgrenska och Chalmers. Tillsammans är de tolv personer som har olika roller i projektet och alla bidrar med sin del i att lösa det "spännande men mycket komplexa pusslet"

Att identifiera de första stadierna var Eva Skiöldebrands första mål vilket uppnåddes efter provtagning på väldigt många hästar och en stor mängd insamlad data.

## Hur forskningen kring läkemedlet startade

Samtidigt som Eva Skiöldebrand forskade om biomarkörer på Sahlgrenska Universitetssjukhuset började hon studera hur systemiska sjukdomar kopplas samman och tänkte att det måste finnas andra som forskar på samma sak. Av en slump träffade hon Elisabeth Hansson, professor i neurokemi, på en middag. Redan innan förrätten hade de bestämt sig för att inleda ett forskningssamarbete.

– Elisabeth har en lång forskarkarriär bakom sig där hon har studerat och

behandlat inflammatoriska celler (astrocyter) i hjärnan. Vår gemensamma idé var att stödcellerna i olika delar av kroppen beter sig lika vid en inflammation. Vi insåg när vi odlade astrocyter från människa, hepatocyter från råttor, hjärtfibroblaster från människa och broskceller från häst att alla dessa celler svarade på samma sätt vid inflammation. Vi kunde se att en inflammation i broskcellerna var identisk med den i astrocyterna, alltså hjärnans stödceller. Då förstod vi att vi kunde bota broskcellerna på samma sätt som Elisabeth hade botat astrocyterna, säger hon.

De förstod också att de inte kunde ta friska celler och inflamma dem. För att förstå hur de skulle gå till väga för att ta fram ett sjukdomspåverkande läkemedel skulle de behöva ta celler från ett sjukt djur och få dem återetablerade, det vill säga läkta.

– Från slakterier kunde vi få tag på sjuka broskceller från slaktade hästar med artros. De cellerna har ett helt annat cellulärt svar än de friska cellerna. Från Elisabeth Hanssons förlaga med astrocyter från råttor, gick vi över till hästens broskceller. Och efter många upprepade odlingsförsök blev slutligen hela mönstret synligt. Sedan många år tillbaka hade jag även samarbetat med Kristin Abrahamsson Aurell på Kungsbacka Hästklinik. Hon har försett oss med ledvätskor och blodprover från hästar med artros. När vi startade forskningen kring läkemedlet kunde hon bidra med sina kunskaper och erfarenheter kring substanser som gjorde att vi tillsammans kunde verifiera de substanser som ligger till grund för vår nya läkemedelskombination som vi nu har testat med i den kliniska läkemedelsprövningen.

#### Kliniska studier

I skrivande stund är den kliniska prövningen avslutad på Kungsbacka Hästklinik. Dels använde de sig av biomarkörerna för att diagnostisera och följa hästen under rehabiliteringen, dels använde de sitt nya kombinationsläkemedel som de tror är sjukdomspåverkande, för att broskcellerna skulle läka av.

Eftersom biomarkören är en klyvningsprodukt från ett protein i ledens brosk eller ben som uppstår vid en inflammation så ska biomarkören sjunka om behandlingen fungerar, det vill säga om man har en avläkning i brosket eller benet.

De gjorde prövningen enligt konstens alla regler, det vill säga dubbelblind och randomiserad klinisk prövning där hälften av hästarna fick ett kortisonpreparat och

hälften vårt läkemedel. Kristin Abrahamsson Aurell utvärderade hästarna före och efter behandling och Cecilia Grahn behandlade dem. Den ena visste inte vad den andra gjorde och djurägaren visste inte heller vad hästen fick.

– Resultatet kommer att sammanställas i mitten av januari. Det är väldigt spännande. Bara att vi kan använda oss av biomarkörerna för att mäta behandlingseffekten är ett genombrott, säger hon.

Ett om möjligt större genombrott var det när de i ledvätskan kunde se en dramatisk effekt av att biomarkörerna sjönk. Det finns nämligen inga bevis för att de läkemedel som finns idag är sjukdomspåverkande mer än att de hämmar kliniska symtom i form av inflammation och smärta. Med andra ord ser det nya läkemedlet ut att vara det första som hindrar nedbrytningen av brosket eller benet.

#### Samarbeten är a och o

– Vi har kunnat koppla ihop två ganska långt ifrån varandra startade forskningsprojekt till någonting som är fantastiskt, säger Eva Skiöldebrand och fortsätter:

– Hade jag bara arbetat med broskceller från hästar och Elisabeth bara med hjärnceller hos råttor, då hade ingen av oss kommit vidare. Tillsammans uppstod en enorm kunskap. I stället för att titta på det som är unikt hos ett organ i ett särskilt djurslag, som forskare i regel gör inom sina specialområden, tittade vi på likheterna mellan flera organ, säger hon.

Förutom Elisabeth Hansson var fler viktiga forskare inblandade, bland annat professor Anders Lindahl på Sahlgrenska Universitetssjukhuset som har bidragit och detsamma gäller kollegorna på Kungsbacka Hästklinik och gruppen på SLU.

– Alla har sina viktiga delar i det här arbetet. Man kan inte bara vara veterinär eller cellmolekylär biolog för att komma så här långt. Man måste ha olika viljor och anledningar att söka svar. Jag inte är hjärnan bakom allt, snarare är jag den som försöker driva alla mot samma mål: att bota hästens sjukdom och stoppa den kroniska smärtan.

#### Färdigt för användning

Med hjälp av en patentbyrå har de patenterat de två biomarkörerna och läkemedelskombinationen. Nu håller de på att utveckla ett biomarkörstest tillsammans med ett företag i Storbritannien. Om allt går som det ska kommer det att finnas en produkt på marknaden om två-tre år. Man kommer kunna droppa blod, ledvätska eller saliv

på en sticka som därefter förs in i en läsare (stor som en pocketbok) för snabb analys. Läsaren kan finnas på kliniken och tas med ut i stallarna. Eller så kan djurägaren komma in till kliniken med ett prov och få ett snabbt svar. Utvecklingsarbetet pågår just nu.

– Tack vare det här kan man få en snabb diagnos men man kan också följa hästarna under behandlingen. Biomarkören kan även användas i preventivt syfte, man kan till exempel screena sin unga häst några gånger per år, och skulle markörerna bli förhöjda kan det vara en indikation att åka till en veterinär för kontroll av eventuell hälta. Den förebyggande marknaden är egentligen den mest intressanta, säger hon och tillägger:

– Kan vi förebygga att hästar inte utvecklar artros och kronisk smärta i den grad de gör idag har vi taget ett steg i rätt riktning mot mer hållbara hästar.



#### Artrors

Artrors som är hästens vanligaste ledsjukdom är en lågradigt kroniskt inflammatorisk sjukdom med ett systemiskt inslag. Inflammationen ger upphov till produktion av smärtbiomarkörer som resulterar i hälta och muskelsmärta hos hästen. När hästen får kliniska symtom upptäcks sjukdomen genom metoder som röntgen, ultraljud, MRT. Skadorna är irreversibla. Läkemedel som enbart hämmar inflammationen läker inte av sjukdomen utan minskar bara kliniska symtom. Artrors karakteriseras av en lågradig inflammation som involverar brosket och det underliggande benet. När trav- och galopphästar tränas vid unga år ger det en ökad fysiologisk benskleros, det vill säga nytt ben bildas som ett svar på träningen. När bensklerosen överstiger en fysiologisk nivå uppstår mikrofrakturer som kan resultera i akuta så kallade "chipfrakturer". Eva Skiöldebrand med fler har identifierat en biomarkör (biglycan), som läcker ut i ledvätska och blod hos hästar som har en ökad benskleros. Biomarkören är kraftigt förhöjd hos hästar med chipfrakturer. Deras mål är att biomarkören kan användas i förbyggande syfte, genom att följa hästar över tid för att tidigt upptäcka sjuklig benskleros innan den resulterar i "chipfraktur". Deras första biomarkör kommer från brosket (COMP) och med hjälp av det kan de både monitorera ledbrusket och det underliggande benet.

## ”Bara att vi kan använda oss av biomarkörerna för att mäta behandlingseffekten är ett genombrott.”

#### Läkemedlet

När det kommer till själva läkemedlet är den första kliniska läkemedelsprövningen gjord. Nästa kliniska prövning är en multicenterstudie på flera kliniker som innefattar ett hundratal hästar. Därefter följer en registreringsprocess som kan ta många år.

Läkemedlet innefattar tre olika läkemedelssubstanser. Eva Skiöldebrand förklarar det som tre olika nycklar som var och en låser upp basala mekanismer i cellen så att den återfår en normal energimetabolism med en normal signalering till andra celler. Och när den blir normal slutar den att producera de inflammatoriska ämnena som bryter ned leden.

– Patenten gäller för alla djurslag inklusive människa och den nya tekniken förväntas i framtiden kunna användas inom flera olika medicinska områden. Egentligen är det ganska enkelt då vi korrigerar basala cellulära mekanismer och när det är enkelt så är det ofta genialiskt, skrattar hon. Dessutom fungerar läkemedlet väldigt bra då vi inte kan se att de ger några cellulära bieffekter eller kliniska biverkningar hos hästen.

#### Samarbete med Chalmers

Eftersom Eva Skiöldebrand och hennes kollegor vet att biomarkörerna även finns i hästens saliv håller de på att utveckla ett brett tillsammans med Moa Lord och Magnus Karlsteen på Chalmers. Hon avslutar intervjun med att beskriva deras nästa "goodie bag":

– Det senaste forskningsresultaten visar att vi även kan mäta biomarkörerna i saliven hos häst. Cellerne i kroppen avspeglar sjukdomen och det gäller även munnens celler och saliven. Vi håller på att 3D-printa ett brett som kan samla upp saliven samtidigt som man rider hästen. På så sätt kan man självtesta sin häst i stället för att ta blodprov, och få ett snabbt provsvar. •



Från vänster: Kristin Abrahamsson Aurell, klinikchef Kungsbacka Hästklinik, Elisabeth Hansson professor i Neurokemi från Göteborgs Universitet, Cecilia Grahn, hästkliniker på Kungsbacka Hästklinik, Eva Skiöldebrand, professor vid SLU arbetar tillsammans med den kliniska prövningen.



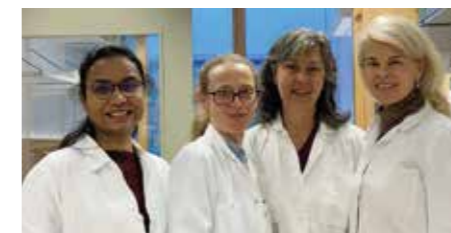
Från vänster: Forskare Claudia Lützeltschwab analyserar blod och salivprover tillsammans med Zandra Hugoh och Alexandra Leijon.



Från vänster: Moa Lord från Chalmers, Susanne Nyström från Sahlgrenska Universitetssjukhuset arbetar med biomarkörerna i broskceller och saliven från häst.



Utvecklande av biomarkörerna, forskargruppen på Sahlgrenska. Från vänster: Lillemor Mattson Hulthen, Kristina Björkman, Eva Skiöldebrand, Ulla Ruetschi.



Från vänster: Post doc Sartitha Adepu, doktorand Anna Kendall, Stina Ekman och Eva Skiöldebrand jobbar tillsammans med biomarkörerna och bensklerosen på SLU.



Veterinärstudent Zandra Hugoh tar ett salivprov med en bomullstuss i munnen för att sedan mäta biglycanfragmentet.