

HEVOSEN NIVELRUSTOVAURIOIDEN DIAGNOSOINTI
PAINOTTAEN KLIINISKEMIALLISTA
DIAGNOSTIIKKA

Outi Veijola
Lisensiaatintutkielma 2019
Helsingin yliopisto
Eläinlääketieteellinen tiedekunta
Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto
Hevossairauksien oppiaine

Tiedekunta - Fakultet – Faculty Eläinlääketieteellinen		Osasto - Avdelning – Department Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto	
Tekijä - Författare – Author Outi Veijola			
Työn nimi - Arbetets titel – Title Hevosen nivelrustovaurioiden diagnosointi painottaen kliniskemiallista diagnostiikkaa			
Oppiaine - Läroämne – Subject Hevossairauksien oppiaine			
Työn laji - Arbetets art - Level lisensiaatin tutkielma	Aika - Datum - Month and year 23.11.2019	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 47	
Tiivistelmä - Referat – Abstract <p>Hevosen nivelruston arviointikeinoista, ja erityisesti biokemiallisten merkkimolekyylien yhteydestä nivelruston tilaan, ei ole ajantasaista suomenkielistä katsausta. Tämän kirjallisuuskatsauksen tarkoituksena on kartoittaa hevosen nivelrustovaurion diagnosoinnissa käytettyjä ja siihen soveltuvia menetelmiä. Työssä pohditaan eri menetelmien kykyä arvioida nivelrustoa painottaen kliniskemiallisia tutkimuksia, jotka voivat olla nivelruston tilan arvioinnissa kuvantamismenetelmiä informatiivisempia.</p> <p>Nivelrusto vaurioituu helposti, ja nivelrustovauriot ovat hevosilla yleinen elämänlaatuun ja käyttöarvoon vaikuttava ongelma. Nivelrustovaurion varhainen toteaminen parantaa huomattavasti hoitomahdollisuuksia, mutta yleisesti käytössä olevilla menetelmillä varsinkin alkavien muutosten diagnosointi on vaikeaa. Tarvetta olisi etenkin ei-kajoaville menetelmille.</p> <p>Nivelpinnat ovat kuvantamiskohteena vaikeita. Etenkin nivelruston arvioiminen kuvantamalla on rajallista, ja arvio perustuu usein nivelen kokonaisuutoksista tehtyihin päätelmiin. Nivelnsairauden diagnosoinnin ohella joillain kuvantamismenetelmillä voidaan arvioida myös nivelrustoa. Kuvantamismenetelmien rinnalle on pyritty kehittämään biokemiallisia menetelmiä, jotka perustuvat nivelen muuttuneeseen aineenvaihduntaan ja mittaavat molekyyli- ja entsyymiaktiivisuuksien muutoksia nivelnesteessä, veressä ja virtsassa. Viime vuosina on löydetty lukuisia lupaavia merkkimolekyyliä, jotka ovat yhteydessä nivelnsairauksiin tai suoraan nivelrustovaurioon.</p> <p>Yleisesti käytössä olevilla menetelmillä nivelrustovaurio voi jäädä huomaamatta. Omat rajoitteensa on myös magneettikuvantamisella ja tietokonetomatografialla, vaikka ne ovat röntgenkuvantamista tarkempia. Kehitteillä olevista uusista kuvantamismenetelmistä erityisesti akustinen emissiotekniikka voi tulevaisuudessa parantaa varhaisempaa diagnosointia. Lupaavia uusia biologisia merkkimolekyyliä ovat erityisesti nivelruston hajoamisen yhteydessä syntyvät uudisrakenteet ja niveltulehdukseen liittyvät säätely-RNAt. Merkkimolekyylien pitoisuuksiin ja aktiivisuuteen liittyy kuitenkin useita muuttujia, joista ei vielä tiedetä tarpeeksi, jotta merkkimolekyyliä voisi hyödyntää potilastyössä hevospraktiikassa. Yhdistämällä eri menetelmiä voisi mahdollisesti päästä tarkempaan diagnoosiin. Eläinlääkäri on hyvä tiedostaa käytännön työssään, että nivelrustovauriota ei voida välttämättä sulkea pois ainakaan kliinisten oireiden tai röntgenkuvantamisen ja ultraäänien perusteella.</p>			
Avainsanat - Nyckelord – Keywords nivelrusto, nivelrustovaurio, diagnosointi, hevonen, nivel, merkkimolekyyli			
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktor och ledare - Director and Supervisor(s) Työn johtaja: Marja Raekallo. Työn ohjaajat: Nina Lehmonen ja Marja Raekallio			

SISÄLLYS

LYHENTEET

1 JOHDANTO	1
2 SYNOVIAALINIVELEN RAKENNE JA TOIMINTA	2
2.1 Nivelen osat	2
2.2 Nivelruston koostumus ja rakenne	4
2.3 Nivelruston toiminta ja tarkoitus	6
3 RAAJAN NIVELRUSTOVAURIO	8
3.1 Nivelruston vaurioituminen	8
3.2 Solu- ja molekyyli-tason muutokset	10
4 NIVELRUSTOVAURION DIAGNOSOIMINEN	11
4.1 Kuvantaminen	11
4.1.1 Röntgenkuvantaminen	11
4.1.2 Magneettikuvantaminen	12
4.1.3 Tietokonekerroskuvaus	13
4.1.4 Ultraäänikuvantaminen	14
4.1.5 Infrapunaspektroskopia	15
4.1.6 Optinen koherenssikerroskuvaus	15
4.1.7 Akustinen emissiotekniikka	15
4.1.8 Radiofarmaseuttiset kuvantamismenetelmät	16
4.2 Artroskopia	16
4.3 Kliiniskemialliset tutkimukset veri- ja nivelnestenäytteistä	16
5 BIOLOGISET MERKKIMOLEKYYLIT	18
5.1 Nivelrustovaurioon liittyvät entsyymit	18
5.2 Soluvälittäjäaineet eli sytokiinit ja kemokiinit	19
5.2.1 Ruston retiinihappoherkkä proteiini	19
5.2.2 Insuliinin kaltainen kasvutekijä 1	20
5.2.3 Osteokalsiini	20
5.2.4 Kitinaasi-3 kaltainen proteiini	21
5.2.5 HMGB-1	21
5.2.6 Interleukiinit	21
5.2.7 Leukotrieni	22
5.2.8 Prostaglandiinit	22
5.2.9 Myeloperoksidaasi	23
5.2.10 Stroomasoluperäinen tekijä 1	23
5.2.11 Substanssi P	24
5.2.12 Muutoskasvutekijät beetta	24
5.2.13 Kasvainkuoliotekijä alfa	25
5.3 Nivelruston ei-kollageeniset hajoamistuotteet	25
5.3.1 Ruston moniosainen väliaine-proteiini COMP	25
5.3.2 Glykosaminoglykaanit	26
5.3.2.1 Hyaluronihappo	27
5.3.2.2 Kerataanisufaatti	27

5.3.2.3 Kondroitiinisulfaatti ja sen fragmentti CS846	27
5.3.3 Suuret proteoglykaanit ja niiden uudisrakenteet	28
5.3.4 Pienet leusiinirunsaat proteoglykaanit ja niiden uudisrakenteet	29
5.4. Nivelruston kollageeniset merkkimlekyylit	29
5.4.1 Tyypin II kollageenin hajoamistuote Coll2-1 ja sen nitraattimuoto	29
5.4.2 Tyypin II kollageenin uudisrakenne C2C	30
5.4.3 Tyypin II prokollageenin karboksyylipään propeptidi	31
5.4.4 Tyypin I ja II kollageenin ristisidokselliset karboksyylipään päätepeptidit..	31
5.4.5 Tyypin X kollageeni	32
5.5 Mikro- ja rengasrakenteiset RNA:t	32
6 POHDINTA	34
7 JOHTOPÄÄTÖKSIÄ	40
8 KIITOKSET	42
9 LÄHDELUETTELO	43

LYHENTEET

ADAMTS, disintegriini ja metalloproteaasi trombospondiinosalla

(A Disintegrin And Metalloproteinase with ThromboSpondin motifs)

AE, akustinen emissiotekniikka

ARGS, alaniini-arginiini-glysiini-seriini -aminohapot sisältävä peptidi

BAP, luun alkalinen fosfataasi, (Bone Alkaline Phosphatase)

C2C, kakkostyyppin kollageenin karboksylipäästä irronnut $\frac{3}{4}$ -pituinen peptidi.

CD-RAP, ruston retiinihappoherkkä proteiini,

(Cartilage Derived Retinoic Acid-sensitive Protein)

CHI3L, kitinaasi-3-kaltainen glykoproteiini

circ-RNA, rengasrakenteinen säätelijä-RNA

Coll2-1, kakkostyyppin kollageenin 1-polypeptidiketju

Coll2-1NO2, nitraattitähteen sisältävä kakkostyyppin kollageenin 1-polypeptidiketju

COMP, ruston moniosainen väliaineproteiini, (Cartilage Oligomeric Matrix Protein)

CPII, tyyppin II prokollageenin karboksyylipään peptidi

CTX-I, tyyppin I prokollageenin karboksyylipään peptidi

CTX-II, tyyppin II prokollageenin karboksyylipään peptidi

CS, kondroitiinisulfaatti, (Chondroitin Sulphate)

CS846, kondroitiinisulfaatista muodostunut uudisrakenne

GAG, glykosaminoglykaani, (Glycosaminoglycan)

Gal1, galektiini-1

Gal3, galektiini-3

HA, hyaluronihappo, (Hyaluronic Acid)

HMGB, High Mobility Group Box Protein

IGF-1, insuliinin kaltainen kasvutekijä 1 (Insulin-like Growth Factor 1)

IL, interleukiini

IRS, infrapunaileikekuvausspektroskopia (Infrared Scanning Spectroscopy)

KS, kerataanisulfaatti (Ceratan sulphate, CS)

LTB₄, leukotrieeni B₄

miRNA, mikro-RNA

MK, magneettikuvantaminen

MMP, matriksin metalloproteaasi

MPO, myeloperoksidiaasi

NIRS, lähi-infrapunaskpektroskopia, (Near Infra-Red Spectroscopy)

NO, typpimonoksidi

OA, nivelrikko (osteoartroosi)

OC, osteokondroosi (osteocondrosis)

OCD, osteokondroosi dissekaani (osteocondrosis dissecans)

OCT, optinen koherenssitomografia (Optical Coherence Tomography)

PET, positroniemission kerroskuvaus eli positroniemissiotomografia,
(Positron Emission Tomography)

PG, proteoglykaani

PgE₂, prostaglandiini E₂

RTG, röntgenkuvantaminen

SDF-1, Stroomasoluperäinen tekijä 1, (Stromal cell Derived Factor 1)

SP, substanssi P

TGF-β, muutoskasvutekijä beetta, (Transforming Growth Factor β)

TIMP, kudospöeräinen MMP-estäjä, (Tissue Inhibitor of MMP)

TNFα, kasvainkuoliotekijä alfa (Tumor Necrosis Factor α)

TT, tietokonekerroskuvaus eli tietokonetomografia (Computed Tomography)

UÄ, ultraäänikuvantaminen

1 JOHDANTO

Kirjallisuuskatsauksessani kartoitan hevosen raajojen nivelrustovaurion diagnosointikeinoja vaurion aiheuttajasta riippumatta. Nivel ja sen toiminta esitellään lyhyesti. Muita nivelen rakenteita kuin nivelrustoa ei käsitellä tarkemmin, mutta on pidettävä mielessä, että nivel toimii kokonaisuutena, jossa sen kaikki rakenteet vaikuttavat toisiinsa.

Nivelrusto ja sen oikeanlainen toiminta ovat ratkaisevia nivelen tasapainon (homeostasian) ylläpitämisessä. Nivelrustovauriot ovat hevosilla yleisiä ja vaikuttavat merkittävästi hevosen elämänlaatuun ja käyttöön. Eräässä laajassa nuorten hevosten tutkimuksessa yli 60 prosentilla todettiin nivelrustomuutoksia (Verwilghen ym. 2011). Nivelrustovaurio on mukana nivelen tavallisissa sairauksissa kuten nivelrikossa (OA) ja osteokondroosissa (OC). OA on tulehduksellinen sairaus, jonka tunnusmerkki on nivelrustovaurio (Dymock ym. 2014, McIlwraith 2016a). OC on hevosten nivelten yleisin kehityshäiriö (De Grauw ym. 2011), jossa alkuvaiheen muutokset näkyvät juuri nivelrustossa (Dymock ym. 2014, Carlson ja Weisbrode 2017). Traumaperäistäkin irtopalamuutosta seuraa useimmiten OA (Trumble ym. 2009, McIlwraith 2016a ja 2016b, Carlson ja Weisbrode 2017).

Nivelsairauden asteen ja ennusteen arvioimisessa nivelruston tilan tunteminen olisi olennaista (Fontaine ym. 2013). Nivelruston vauriot ovat eteneviä, ja olisi tärkeä havaita ne mahdollisimman aikaisin. Tämä edellyttää luotettavaa ja tarkkaa diagnoosimenetelmää sekä sitä, että nivelrustovauriota osataan epäillä. Nivelrusto on kuitenkin vaikeimpia kuvattavia kohteita (Pease ym. 2012), eikä viime vuosiin saakka käytössä olleilla diagnosointimenetelmillä pystytä havaitsemaan OA:ta varhaisessa vaiheessa. Mahdollisuudet myös tilanteen seuraamiselle ovat olleet heikkoja (Dymock ym. 2014). Perinteisillä menetelmillä, kuten röntgen- (RTG) ja ultraäänikuvantaminen (UÄ) tai nivelen tähystysleikkaus (artroskopia), joka on lisäksi invasiivinen menetelmä, voidaan havaita vasta pitkälle edennyt nivelrustovaurio. Alkavia lieviä nivelrustovauriota ei ylipäätään osata aina edes epäillä, ennen kuin vauriot ovat edenneet pidemmälle. Kuvantamismenetelmien rinnalle onkin pyritty kehittämään biokemiallisia menetelmiä, joilla voitaisiin havaita ja tunnistaa nivelsairauksia (McIlwraith ym. 2018).

2 SYNOVIAALINIVELEN RAKENNE JA TOIMINTA

Synoviaalinivelellä tarkoitetaan liikkuvaa niveltä, jossa on nivelkapseli ja niveltuvien luiden välissä nesteentäyteinen ontelo (Sjaastad ym. 2016, Singh 2018). Nivel toimii kokonaisuutena, jossa kaikki sen osat ovat vuorovaikutuksessa ja vaikuttavat yhdessä nivelen tasapainoon (van Weeren 2016a).

2.1 Nivelen osat

Nivelen voidaan ajatella koostuvan nivelkapselista, siihen liittyvästä nivelkalvosta, nivelnesteestä, niveltuvien luiden päiden rustonalaisesta luusta, nivelrustosta ja mahdollisista muista nivelen sisäisistä rakenteista. Nivelkapseli ympäröi synoviaaliniveleä ollen nivelen uloin osa. Nivelkapseli rakentuu pääasiassa sidekudoksesta, ja siinä on useimmissa nivelissä kaksi kerrosta, ulompi ja sisempi (Lieblich ym. 2015, Sjaastad ym. 2016, Singh 2018). Ulkokerros on hyvin verisuonitettua ja hermotettua tiivistä sidekudosta, joka toimii nivelessä mekaanisena vakauttajana ja tukijana (Olson ja Carlson 2017). Siihen voi kiinnittyä esimerkiksi ligamentteja (Lieblich ym. 2015, Singh 2018). Sisempi kerros eli nivelkalvo peittää kaikkia nivelen pintoja nivelrustoa lukuun ottamatta. Nivelkalvo jaetaan subintima- ja intimakerroksiin.

Nivelkalvon subintimakerros on löyhää sidekudosta, ja se on hyvin verisuonitettu, imusuonitettu ja hermotettu (van Weeren 2016a, Olson ja Carlson 2017). Intimakerros on nivelkapselin 1–4 solukerroksen paksuinen sisin kerros, jossa on solujen (synoviosyytit ja makrofagit) lisäksi kollageenisäikeitä ja muita väliaineen proteiineja (Lieblich ym. 2015, Olson ja Carlson 2017). Intiman solut tuottavat ja erittävät nivelnesteeseen aminoglykaaneja ja erilaisia soluvälittäjäaineita (sytokiineja ja kemokiineja), kuten kasvutekijöitä ja tulehdusvälittäjäaineita (van Weeren 2016a, Singh 2018). Intimalla ei ole tyvikalvoa (Olson ja Carlson 2017), mikä yhdessä subintiman runsaan verisuonituksen kanssa helpottaa aineiden siirtymistä veren ja nivelnesteiden välillä (van Weeren 2016a). Tämä aineiden kulku perustuu sekä hydrostaattisen että kolloidiosmoottisen paineen eroihin, kuten veren ja kudoksen välillä muualla elimistössä, mutta intiman synoviosyytit myös aktiivisesti estävät molekyylien kulkua ja erittävät molekyyliä nivelnesteeseen (van Weeren 2016a).

Nivelneste liukastaa nivelpintoja, ravitsee ja huoltaa nivelrustoa sekä välittää nivelen eri osien vuorovaikutuksia (McIlwraith 2016a, Sjaastad ym. 2016, van Weeren 2016a, Singh 2018, Olson ja Carlson 2017). Nivelneste on viskoosia kellertävää nestettä, jota suodattuu verestä (Rimington 1949, Sjaastad ym. 2016, van Weeren 2016a, Olson ja Carlson 2017, Singh 2018).

Nivelnesteessä on runsaasti viskoosisuutta aiheuttavaa hyaluronihappoa (HA) ja liukastavana aineena toimivaa proteoglykaani-4:ää eli lubriiniä sekä pinta-aktiivisia fosfolipidejä ja eri entsyymejä (Liebich ym. 2015, van Weeren 2016a, Olson ja Carlson 2017). Normaalissa nivelnesteessä on vain vähän soluja (alle 500 solua mikrolitrassa), ja solut ovat pääasiassa lymfosyyttejä (van Weeren 2016a). Nivelnesteestä aineenvaihdunnan kuona-aineet poistuvat imunestekiertoon (Goldring ja Goldring 2017).

Nivelrusto on niveltyvien luiden päitä peittävä hyaliinirustokerros (Ross ja Pawlina 2016b, Singh 2018), jonka rakenne ja toiminta käydään tarkemmin kappaleessa 2.2. Nivelrustossa ei ole verisuonitusta, imusuonia tai hermoja (Yttrhus ym. 2004, Lecocq ym. 2008, Liebich ym. 2015, Singh 2018), ja edellä kuvattu melko välitön aineiden kulku nivelnesteeseen ja veren välillä mahdollistaa nivelruston ravitsemuksen ja kuona-aineiden poiston (Yttrhus ym. 2004, Lecocq ym. 2008, Liebich ym. 2015), jotka nivelrustossa perustuvat diffuusioon (Liebich ym. 2015, Sjaastad ym. 2016, Olson ja Carlson 2017, Singh 2018). Nivelneste välittää siis nivelruston ja nivelkalvon välistä vuorovaikutusta sekä nivelen normaalissa toiminnassa että patologisissa tiloissa (van Weeren 2016a).

Nivelessä voi olla nivelensisäisiä ligamenteja, muita niveltä tukevia sekä painetta tai niveleen kohdistuvia voimia tasaavia rakenteita, kuten esimerkiksi polvinivelen nivelkierukat (Liebich ym. 2015, Singh 2018). Näiden rakenteiden pääasiallinen rakennusaine on tyypin I kollageeni (Coll-1), ja ne ovat hermotettuja. Kyseisillä rakenteilla ei nykytiedon mukaan vaikuta olevan suurta roolia nivelen fysiologiassa tai patologiassa, mutta niiden vaurioituminen voi johtaa nivelrustovaurioon ja OA:in (van Weeren 2016a).

Rustonalainen luu, joka on osa niveltyvien luiden epifyysiä, tukee nivelrustoa (Liebich ym. 2015, van Weeren 2016a). Sen paksuus voi vaihdella nivelen ja nivelpinnan kohdan mukaan, paksuimmillaan se on muutaman millimetrin vahvuinen. Rustonalainen luu on hyvin verisuonitettua ja hermotettua (Liebich ym. 2015, Olson ja Carlson 2017). Nivelruston alla on ensin kerros tiivistä luukudosta, jonka jälkeen on trabekulaariluuta (Liebich ym. 2015, Sjaastad ym. 2016). Rustonalaisessa luussa tiivis luu on järjestäytynyt sylinterimäisiksi osteoneiksi, joiden keskellä kulkee verisuonia ja hermoja (Olson ja Carlson 2017). Tiivis luukudos on jäykkää ja mahdollistaa vakaan tuen, kun taas trabekulaariluukudos lisää rustonalaisen luun joustavuutta vähentäen nivelruston kuormitusta (Liebich ym. 2015, van Weeren 2016a).

Rustonalainen luu pystyy muovautumaan enemmän kuin kortikaalinen luu, ja muovautuminen näkyy trabekulaarikerroksen paksuuden ja rakentumisen muutoksina (van Weeren 2016a).

2.2 Nivelruston koostumus ja rakenne

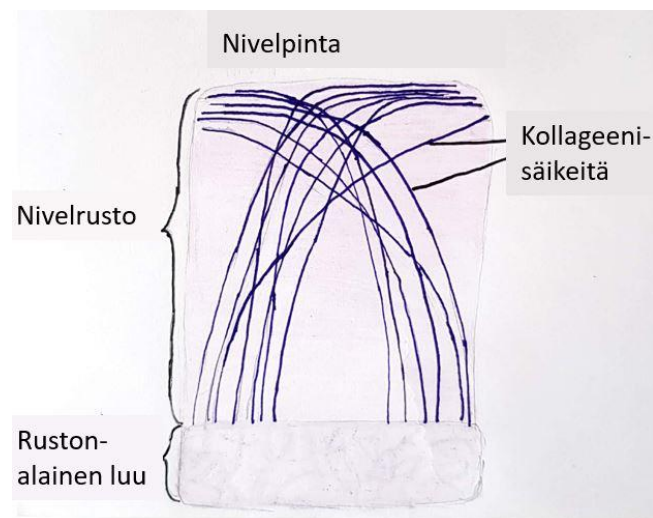
Nivelruston soluväliaine koostuu pääasiassa vedestä (70-80%), kollageeneista ja proteoglykaaneista (van Weeren 2016a, Olson ja Carlson 2017). Lisäksi väliaineessa on erilaisia glykoproteiineja, mineraaleja ja lipidejä (van Weeren 2016a). Rakenneosat ovat järjestäytyneet kolmiulotteisesti tietyllä tavalla, joka mahdollistaa nivelruston ominaisuudet (Lieblich ym. 2015, van Weeren 2016a). Terveessä nivelrustossa rustosolut sijaitsevat laguunoissa soluväliaineen sisällä (Ross ja Pawlina 2016b, Olson ja Carlson 2017). Soluja on vain noin 1–12% ruston tilavuudesta, ja kypsässä nivelrustossa ne tuottavat ruston kaiken soluväliaineen (Ross ja Pawlina 2016b, van Weeren 2016a, Olson ja Carlson 2017). Rustosolujen lisäksi nivelrustossa on uusiutumiseen liittyviä nivelruston esisoluja (Lieblich ym. 2015, van Weeren 2016a). Solut ovat yhteydessä soluväliaineeseen ulokkeidensa avulla, mutta ne eivät ole suorassa kontaktissa toisiinsa (van Weeren 2016a, Olson ja Carlson 2017). Rustosolujen ja soluväliaineen vuorovaikutusta välittävät useat eri molekyylit, joista glykoproteiinit ovat tärkeimpiä (Berg ym. 2008, Ross ja Pawlina 2016b).

Nivelrusto jakaantuu paksuussuunnassaan rakenteellisesti neljään eri vyöhykkeeseen: pinnallinen vyöhyke, keskivyöhyke, syvä vyöhyke ja neljäntenä kalkkeutunut rusto, joka kiinnittää nivelruston rustonalaiseen luuhun (Lieblich ym. 2015, Ross ja Pawlina 2016b). Kolmen ensimmäisen vyöhykkeen rajat ovat liukuvia. Syvän kerroksen ja kalkkeutuneen kerroksen välissä ja niitä erottamassa on ohut hematoksifilinen juoste, ”tidemark”. Juoste haarautuu kalsifioituneen ruston läpi, ja haarojen kautta nivelruston hyaliininen osa on suoraan yhteydessä rustonalaiseen luuhun (van Weeren 2016a). Nivelruston uusiutuessa rustosolut vaeltavat juosteelta kohti nivelpintaa (Lieblich ym. 2015, Ross ja Pawlina 2016b).

Pinnallisessa vyöhykkeessä solut ovat litistyneitä, tyyppin II kollageenisäikeet ovat järjestäytyneet tiiviisti ja nivelpinnan suuntaisesti, proteoglykaaneja on melko vähän ja vesipitoisuus on korkea. Keskivyöhykkeessä kollageenisäikeitä on harvemmassa, ja siinä on vähemmän vettä ja enemmän proteoglykaaneja. Keskivyöhykkeen solut ovat pyöreitä ja jakaantuneet epätasaisesti soluväliaineeseen. Syvässä kerroksessa on muihin nivelruston osiin verrattuna vähiten kollageenisäikeitä sekä vettä ja eniten proteoglykaaneja. Syvän kerroksen rustosolut ovat järjestäytyneet rustonalaiseen luuhun nähden kohtisuoriksi pylväiksi (Ross ja

Pawlina 2016b). Pyöreät rustosolut ovat aineenvaihdunnallisesti aktiivisempia kuin pinnallisen kerroksen litteät solut (van Weeren 2016a).

Rustosolut säätelevät kollageeniverkoston järjestäytymistä ja uudelleenmuodostusta (van Weeren 2016a). Rustosolujen tuottamat kollageenien esiasteet (prokollageenit) muokataan entsyymaattisesti solujen ulkopuolella kollageeniverkoston säikeiksi. Suurin osa nivelruston kollageenista on tyypin II kollageenia, joka muodostaa köysimäisiä rakenteita (Ross ja Pawlina 2016a). Säikeet järjestäytyvät kolmiulotteisiksi kaariksi, jotka lähtevät kalsifioituneesta rustosta rustonalaiseen luuhun nähden kohtisuoraan ja alkavat kaartua keskikerroksessa (Kuva 1). Pinnallisessa kerroksessa lähellä nivelpintaa säikeet kääntyvät nivelpinnan suuntaisiksi (Liebich ym. 2015, van Weeren 2016a, Olson ja Carlson 2017). Nivelen painokuormituksen suunta vaikuttaa kaarten muotoutumiseen, joka voi vaihdella eri nivelten välillä (Liebich ym. 2015, van Weeren 2016a). Kollageenimolekyylien sisällä ja välillä on poikittaissiteitä, jotka vahvistavat yksittäisten säikeiden rakennetta ja kiinnittävät kollageenisäikeisiin muita molekyylejä (van Weeren 2016a).



Kuva 1. Kaavakuva nivelruston kollageenisäikeiden kaareutumisesta.

Kehittyneessä nivelrustossa on muitakin kollageeneja, pääasiassa tyypin IX, XI, III, VI, XIII ja XIV kollageeneja (van Weeren 2016a, Ross ja Pawlina 2016b). Tyypit IX ja XI vahvistavat kollageeniverkosta kiinnittymällä poikittaissidoksin tyypin II kollageeniin ja ovat välttämättömiä kollageeniverkoston rakentumiselle ja nivelruston toiminnalle (van Weeren 2016a). Tyypin IX kollageeni välittää lisäksi tyypin II kollageenin kiinnittymistä

proteoglykaaniin, ja tyypin X kollageeni säätelee kollageenisäikeiden asettumista kolmiulotteisiksi tasoiksi sekä tyypin XI kollageenisäikeiden kokoa (Ross ja Pawlina 2016b).

Kollageeniverkosto ja sen kolmiulotteinen rakenne ovat välttämättömiä nivelruston toiminnalle (Duan ym. 2015). Kollageeniverkoston rakenne ja biokemialliset ominaisuudet eroavat sikiön nivelrustossa, kehittyvässä nivelrustossa varsoilla ja kypsässä nivelrustossa (Lavery ja Girard 2013, Oinas ym. 2018). Nivelruston kehittyessä kollageenisäikeiden määrä ja lomittuminen kovalenttisin poikittaissidoksien lisääntyvät, ja samalla kollageenisäikeiden suuntaus muuttuu nivelpintaan nähden yhdensuuntaisesta kohtisuoraksi (Lavery ja Girard 2013, Oinas ym. 2018). Kehittyvässä nivelrustossa on lisäksi enemmän tyypin IX ja XI kollageenisäikeitä kuin kypsässä. Tyypin X kollageeni liittyy yksilön kehityksessä endokondraaliseen luutumiseen ja osallistuu nivelruston mineralisoitumisen ja rakenneosien järjestäytymisen säätelyyn (van Weeren 2016a).

Nivelruston soluväliaineen päärakennusaineita ovat kollageenien lisäksi lektikaani-perheen proteoglykaanit (PGt) (Liebich ym. 2015), joista tärkein on aggregaani (van Weeren 2016a). PG:issa ydinproteiiniin on kiinnittyneenä sulfatoituja glykosaminoglykaani (GAG)-sivuketjuja, tärkeimpinä kondroitiinisulfaatti (CS) ja kerataanisulfaatti (KS) (van Weeren 2016a, Olson ja Carlson 2017). Näiden sokerijohdannaisten vaikutuksesta PG:t ovat hyvin vesihakuisia (Ross ja Pawlina 2016b, Olson ja Carlson 2017). PG:t sijaitsevat kollageenisäikeiden väleissä ja kiinnittyvät niihin joko suoraan tai HA:n välityksellä (van Weeren 2016a). Myös HA kuuluu GAG:eihin ja on yksi nivelruston soluväliaineen päärakennusaineista. PG:t kerääntyvät HA-molekyylien ympärille muodostaen suuria proteoglykaaniaggregaatteja. Lektikaani-perheen suurten PG:ien ohella nivelrustossa on pieniä PG-molekyylejä, jotka osallistuvat kollageeniverkoston järjestäytymiseen ja tulehdusreaktion välittämiseen (van Weeren 2016a).

2.3 Nivelruston toiminta ja tarkoitus

Nivelrusto toimii iskunvaimentimena, tukena ja voimanvälittäjänä niveltuvien luiden välillä sekä vähentää kitkaa (Kawcak 2016a, Sjaastad ym. 2016). Proteiiniaggregaatit sitovat runsaasti vettä tehden nivelrustosta elastisen (Carlson ja Weisbrode 2017). Osmoottinen paine ja joustamaton kollageeniverkosto synnyttävät yhdessä soluväliaineen hallitun turpoamisen ja nivelrustoon sisäisen paineen (Ross ja Pawlina 2016b, van Weeren 2016a, Olson ja Carlson 2017). Ulkoiset voimat, kuten painonvaraus, vaikuttavat nesteeseen virtaukseen nivelruston ja nivelnesteiden välillä (Goldring ja Goldring 2017, Singh 2018), mikä pitkälti mahdollistaa

nivelruston aineenvaihdunnan (Olson ja Carlson 2017). Jos nivelruston hydrofiiliset ominaisuudet muuttuvat tai kollageeniverkosto rappeutuu, nivelruston mekaaniset ominaisuudet heikkenevät, ja se on alttiimpi vaurioille (Mäkelä ym. 2015, van Weeren 2016a).

Kehittyneessäkin nivelrustossa tapahtuu jatkuvaa uusiutumista, joskin huomattavasti hitaammin kuin muissa elimistön kudoksissa. Nuorilla kasvavilla yksilöillä nivelruston uudelleenjärjestäytymistä ja uusiutumista tapahtuu enemmän kuin aikuisilla (van Weeren 2016a, Olson ja Carlson 2017), ja nuorilla nivelrusto on paksumpi ja joustavampi kuin vanhoilla (Olson ja Carlson 2017, Singh 2018). Kehittyvä nivelrusto on luonnollisesti dynaamisempaa kuin kypsä, mikä onkin tarpeen nivelen sopeutuessa kuormitukseen.

Anabolian ja katabolian on oltava tasapainossa niin, että nivelrusto vastaa nivelen biomekaanisia tarpeita (van Weeren 2016a, Svala ym. 2017, Olson ja Carlson 2017), sillä häiriintynyt nivelruston aineenvaihdunta voi johtaa nivelen sairauksiin, kuten esimerkiksi OC:iin (Lavery ja Girard 2013). Erilaiset kasvutekijät ja muut sytokiinit säätelevät tätä tasapainoa (van Weeren 2016a), mutta sen säilyttämiseen tarvitaan lisäksi sopivaa mekaanista kuormitusta (Frisbie ym. 2016, van Weeren ja Brama 2016). Mekaaninen kuormitus vaikuttaa rustosoluihin sekä suoraan että soluvälinesteen virtauksen välityksellä (van Weeren 2016a). Muutokset virtauksessa stimuloivat metabolista aktiivisuutta sytokiinien erityksen kautta (Goldring ja Goldring, 2017). Mekaaninen kuormitus vaikuttaa myös nivelruston paksuuteen ja koostumukseen (van Weeren 2016a).

Tärkein nivelruston soluväliainetta pilkkova entsyymiryhmä on matriksin metalloproteasit (MMP:t), jotka pilkkovat kollageeneja, PG:a ja muita soluväliaineen rakenneosia (van Weeren 2016a, Olson ja Carlson 2017). Nykykäsityksen mukaan MMP:t osallistuvat nivelruston patologisen hajottamisen lisäksi myös nivelruston normaaliin uusiutumiseen (van Weeren 2016a). MMP-esiasteiden transkriptio- ja aktivoimisaste sekä MMP:eja palautuvasti inaktivoivien molekyylien (osa TIMP-perhettä, ”tissue inhibitors of MMP,” TIMP) määrä säätelevät nivelen MMP-aktiivisuutta. MMP-esiasteita aktivoivat muun muassa sytokiinit (Olson ja Carlson 2017). MMP:iden ohella toinen merkittävä entsyymiperhe on ADAMTS-entyymit (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs, ADAMTS), jotka hajottavat etenkin PG:ita (McIlwraith 2016a, katsauksessaan Bay-Jensen ym. 2018).

3 RAAJAN NIVELRUSTOVAURIO

Nivelrusto on herkkä vaurioitumaan, ja useimpiin nivelsairauksiin liittyy nivelruston rappeutuminen (de Grauw ym. 2011). Koska nivelrustossa ei ole hermotusta tai verisuonitusta ja nivelrusto on harvoja poikkeuksia lukuun ottamatta tunnoton (Liebich ym. 2015, Sjaasatd ym. 2016, Singh 2018), vauriota on vaikea havaita ennen kuin muutos on jo pitkällä (Singh 2018). Rustovauriot voivatkin kehittyä kliinisesti oireettomina, kunnes niveleen kehittyä OA (Machado ym. 2012, van Weeren 2016a).

Tasapainon häiriöt nivelessä ovat keskeisiä nivelen patologioissa ja rappeumien kehittymisessä (Mäkelä ym. 2015, Van Weeren 2016a, Kawcak 2016b). Näistä häiriöistä voi seurata mekaanisia vaurioita nivelen rakenteisiin, kuten nivelrustoon (van Weeren 2016a, Olson ja Carlson 2017). Häiriintynyt nivelruston aineenvaihdunta tai heikentynyt immunestekierto taas voivat johtaa kuona-aineiden kasautumiseen aiheuttaen tulehdustilan ja lopulta nivelsairauden (Goldring ja Goldring 2017). Nivelrustovaurio aiheuttaa tulehdusreaktion, joka vaikuttaa myös muihin nivelen rakenteisiin. Tulehdusreaktio kiihdyttää nivelruston rappeutumista ensitsestään, ja nivelrustovauriot taas voimistavat tulehdusreaktiota (Kawcak 2016b, von Weeren 2016a). Näin kudosaivuriot nivelen rakenteissa, paikallinen tulehdusreaktio ja nivelrustovaurio muodostavat noidankehän, jossa tulehdus muuttaa nivelruston aineenvaihduntaa kataboliseen suuntaan heikentäen rustoa ja tehden siitä alttiimman vaurioille.

3.1 Nivelruston vaurioituminen

Mikä tahansa nivelen epävakautila voi aiheuttaa nivelruston vaurioitumista (McIlwraith 2016a), ja vaurio voi tulla mihin kohtaan tahansa (Kawcak 2016b). Nivelrusto voi vaurioitua mekaanisen liika- tai alikuormituksen, nivelnesteiden liukastavuuden muutoksen, tulehdusten, kuten synoviitin (McIlwraith 2016a, Olson ja Carlson 2017), akuutin tai kroonisen trauman (Kawcak 2016b, McIlwraith 2016a, Olson ja Carlson 2017), kehityshäiriöiden (van Weeren 2016b), rustonalaisen luun skleroosin tai vaurion (Kawcak 2016b, Smith ym. 2016), hapenpuutteen (Hamada ym. 2008, Laverty ja Girard 2013) ja infektion (van Weeren 2016c, Olson ja Carlson 2017) seurauksena. Akuutti vaurio muuttaa nivelnesteiden koostumusta ja heikentää sen liukastavia ominaisuuksia (McIlwraith 2016a), ja jo yksittäinen trauma, toistuvasta lievästäkin kuormituksesta johtuvat mikrovauriot tai nivelruston paikallinen heikkeneminen voivat aiheuttaa suoran vaurion tai käynnistää rappeutumisen vahingoittamalla

rustosoluja (King ym. 2013, Kawcak 2016b, McIlwraith 2016a). Nivelrusto, jonka rakenne on viallinen, voi vaurioitua normaalissakin rasituksessa (McIlwraith 2016a).

Tulehdustila missä tahansa nivelen rakenteessa haittaa nivelrustoa (Olson ja Carlson 2017). Nivelruston vaurioitumien ei välttämättä edellytä tulehdusta, mutta hoitamaton synoviitti johtaa nivelrustovaurioon, ja artroskopisesti arvioituna nivelen tulehdus- ja rappeumamuutosten välillä on selvä korrelaatio (Verwilghen ym. 2011). Tulehduksellisessa ruston hajoamisessa voidaan erottaa kaksi vaihetta: biosynteettinen anabolinen vaihe, jossa rustosolut pyrkivät korjaamaan vauriota, sekä katabolinen hajottava vaihe, jossa eri entsyymit pilkkovat soluväliainetta ja lisäksi soluväliaineen synteesi on inhiboitunut, mikä kiihdyttää nivelruston rappeutumista entisestään (Svala ym. 2017). Muuttunut aineenvaihdunta voikin kertoa myös rustosolujen vasteesta vauriolle eli olla seurausta rakenteiden korjausprosessista (de Grauw ym. 2011).

Nivelrustovaurion alkuvaiheessa soluväliaineen järjestäytyneisyys vähenee. Ensimmäisiä rakenteellisia muutoksia ovat vesipitoisuuden lisääntyminen ja PG:ien väheneminen (Carlson ja Weisbrode 2017). Kohtalaisesti ja voimakkaasti vaurioituneessa nivelrustossa GAG-pitoisuus on matalampi kuin vaurioitumattomassa tai vähäisesti vaurioituneessa nivelrustossa (Van den Boom ym. 2005). Makroskooppisia muutoksia ovat nivelruston pinnan karheutuminen (fibrilloituminen), syöpymät (erosiot), pinnan naarmut ja uurteet (wear lines), murtumalinjat ja nivelruston oheneminen (Jahr ym. 2015, Kawcak 2016).

PG:ien puuttuessa mekaaninen kuormitus kohdistuu suoraan kollageenisäikeisiin ja kollageeniverkosto altistuu entsyymeille (Carlson ja Weisbrode 2017, Olson ja Carlson 2017). Vaurion edetessä kollageeniverkosto pirstoutuu, nivelruston kollageenipitoisuus laskee ja denaturoituneen kollageenin määrä lisääntyy (Hollander ym. 1994, Olson ja Carlson 2017). Kollageeniverkoston häiriöt muuttavat nivelruston mekaanisia ominaisuuksia oleellisesti ja ovat nivelruston rappeutumisessa tärkeä tekijä (Duan ym. 2015). Hitaasta uusiutumisesta ja lähes olemattomasta kollageeniverkoston palauttamiskapasiteetista seuraa nivelruston huono paranemiskyky pienissäkin vaurioissa, ja vaurion paikalle muodostuu usein tiivistä sidekudosta hyaliiniruston sijaan (Ross ja Pawlina 2016b, Olson ja Carlson 2017). Seuraa itseään ruokkiva kierre, joka johtaa lopulta OA:in (Carlson ja Weisbrode 2017).

3.2 Solu- ja molekyyli-tason muutokset

Nivelen patologisissa tiloissa katabolinen aktiivisuus on yleensä vallitsevana (McIlwraith 2016a). Nivelruston tuhoutuminen on käytännössä seurausta entsyymattisen hajotuksen lisääntymisestä yhdessä väliainetuotannon estymisen kanssa (Olson ja Carlson 2017). Rustosolujen vahingoittuminen esimerkiksi trauman seurauksena johtaa entsyymien ja sytokiinien vapauttamiseen, jolloin muun muassa MMP-aktiivisuus nousee (McIlwraith 2016a). Soluväliainetta hajottavia entsyymejä voi vapautua rustosoluista, synviosyyteistä ja makrofageista (Olson ja Carlson 2017), minkä lisäksi irtopalat voivat toimia tulehdusvälittäjäaineiden lähteenä muuttaen nivelruston aineenvaihduntaa (Ley ym. 2007, Ley ym. 2009).

Koiralla nivelruston rappeutumisen alkuvaiheeseen liittyviä entsyymejä ovat ainakin MMP:t ja ADAMTS:t, joista tärkeimpänä aggregaasit (Matyas ym. 2004, Peffers ym. 2016). Aggregaasit ovat aggregaania pilkkovia ADAMTS-entsyymejä (McIlwraith 2016a). Entsyymit pilkkovat soluväliaineesta rakenneosia ja näiden rakenneosien kappaleita eli uudisrakenteita (Peffers ym. 2015, Frisbie ym. 2016, Skiöldebrand ym. 2017). Jäljellä olevat rustosolut alkavat jakautua, ja rustokudos muuttuu liikakasvuiseksi (Olson ja Carlson 2017). Tämä lisää proteaasien tuotantoa entisestään, ja erityisesti MMP:ien ja ADAMTSien määrät nousevat, mikä kiihdyttää muokkautumista edelleen (Bay-Jensen ym. 2017). MMP-aktiivisuus nivelrustossa voi nousta hyvin nopeasti johtuen MMP:a aktivoivista sytokiineista ja siitä, että TIMPsien vaikutus voidaan kumota nopeasti (van Weeren 2016a).

Jo lievissä tulehdusmuutoksissa nivelnesteeseen eritetyt tulehdusvälittäjäaineet, kuten interleukiini-1 β (IL-1 β) ja kasvainkuoliotekijä-alfa (TNF- α), aktivoivat katabolisten entsyymien tuottoa (Tanaka ym. 2013, McIlwraith ym. 2016a). Vaurioituneista rakenteista vapautuu happiradikaaleja, kuten typpimonoksidia (NO) (McIlwraith 2016a). Myös tulehdus itsessään nostaa NO-pitoisuutta (Blanco ja Lotz 1995, Olson ja Carlson 2017). Happiradikaalit hajottavat HA:a ja saattavat pilkkoa kollageeneja ja PG:ita (McIlwraith 2016a), ja korkea NO-pitoisuus vähentää PG-synteesiä rustosoluissa (Stadler ym. 1991, Mastbergen ym. 2008). Solukuolemien määrä ja NO-pitoisuus liittyvät toisiinsa (Hashimoto ym. 1998; Kim ym. 2003). Noussut NO-pitoisuus vastaa hapenpuutetilaa (Blanco ja Lotz 1995, McIlwraith 2016a), joka voi olla noidankehässä yksi mekanismi lisäämässä solujen stressivastetta ja kiihdyttämässä nivelruston rappeutumista (Hamada ym. 2008).

4 NIVELRUSTOVAURION DIAGNOSOIMINEN

Nivelruston ja nivelten tilan arvioimisessa käytetään biomarkkereita. Ne ovat objektiivisesti mitattavissa olevia anatomisia, fysiologisia, biokemiallisia tai molekulaarisia muuttujia, jotka kuvaavat normaaleja biologisia prosesseja, patologisia prosesseja tai hoitovastetta. Biomarkkerit liittyvät tietyn taudin olemassaoloon ja asteeseen. Ne jaetaan kuvantamismenetelmiin ja biokemiallisten merkkimolekyylien analysointiin. Merkkimolekyylejä ovat geneettiset ja biokemialliset molekyylit, joita mitataan elimistön näytteistä kuten verestä, virtsasta ja nivelnesteestä, ja ne jaetaan suoriin ja epäsuoriin. Suorat merkkimolekyylit heijastavat suoraan anabolisia tai katabolisia prosesseja ja kertovat synteessin tai hajotuksen määrästä, kun taas epäsuorat vaikuttavat välillisesti kudoksen muokkautumiseen trauman tai sairausprosessin yhteydessä (Frisbie ym. 2016).

4.1 Kuvantaminen

Niveliä ja nivelrustoa on tutkittu pääasiassa eri kuvantamismenetelmillä ja vahvan vaurioepäilyn tai hoidon yhteydessä lisäksi artroskopisesti. Tavallisissa kuvantamismenetelmissä on se etu, etteivät ne edellytä niveleen kajoamista. Kuvantamismenetelmät tai artroskopia eivät kuitenkaan kerro molekylaarisista prosesseista tai tilan aktiivisuudesta, niillä saadaan ainoastaan tilannekatsaus (De Grauw 2011, McIlwraith ym. 2016). Röntgenkuvantaminen (RTG) ja tietokonekerroskuvaus (TT) perustuvat sähkömagnetismiin ja kudostyyppien erilaiseen säteilynläpäisevyyteen. Magneettikuvantaminen (MK) perustuu eri kudosten erilaiseen ydinmagneettiseen resonanssiin. Aaltoliikettä hyödyntävät menetelmät mittaavat näytteeseen johdettua ääni- tai valoaltoa, joka kulkee joko näytteen läpi tai siroaa siitä. Näitä ovat muun muassa ultraäänikuvantaminen (UÄ), lähi-infrapunaspektroskopia (NIRS), valoallon vaihe-eroa eli optista koherenssia hyödyntävä kerroskuvaus (OCT) ja akustinen emissiotekniikka (AE). Luuston gammakuvaus eli skintigrafia sekä positronin emission tietokonekerroskuvaus (PET) ovat radiofarmaseuttisia menetelmiä, jotka perustuvat radioaktiivisten molekyylien kulkeutumiseen vaurio- tai tulehduspaikalle (Omoumi ym. 2009).

4.1.1 Röntgenkuvantaminen

Nivelrusto on röntgenharvaa kudosta (Butler ym. 2017), eikä sitä voi erottaa radiologisesti. Nivelraon kapeneminen, luupiikit ja kalkkeutunut irtopala tai rustoläppä (flap) ovat ainoat RTG:lla nähtävät nivelrustoon liittyvät muutokset, eikä nivelpinnalla nähdystä harventumasta voida varmasti päätellä nivelruston kuntoa. Kun OA-muutokset nähdään RTG:ssa, OA on

edennyt jo pitkälle (Misumi ym. 2001), sillä muutokset näkyvät röntgenkuvissa vasta, kun luukudos on harventunut huomattavasti (Lalam ym. 2007). RTG ei kerro luotettavasti nivelrustovaurion vakavuutta (Runge ym. 2008), mikä pätee erityisesti vaurion rajoittuessa nivelrustoon (Verwilghen ym. 2011).

Radiologisia muutoksia voi olla ilman kliinisiä oireita (Robert ym. 2006), ja röntgenkuvien perusteella tehty nivelen luokitus ei yhtene ontumaluokituksen kanssa (Verwilghen ym. 2009). Röntgenarvio ei aina ole linjassa artroskopisten löydösten kanssa (Runge ym. 2008, Bourzac ym. 2009, Trumble ym. 2009), vaikka Trumblen ym. (2009) tutkimuksessa artroskopiset ja radiologiset luokitukset nivelen tilasta olivat yhteneviä. RTG:lla ei siis välttämättä päästä diagnoosiin (Easley ym. 2011), mutta se voi silti olla käyttökelpoinen nivelen yleiskuvan (Robert ym. 2006) ja ennusteen arvioinnissa (Van Hoogmoed ym. 2003, Courouce-Malblanc ym. 2006).

4.1.2 Magneettikuvantaminen

MK:lla nivelrusto erottuu rustonalaisesta luusta, ja MK:lla voidaan arvioida nivelrustoa (Easley ym. 2011, ym. Hontoir ym. 2015, Fontaine ym. 2016, Smith ym. 2016). Sitä käytetään yleisimmin silloin, kun ontuman syytä ei saada selville perinteisillä kuvantamistekniikoilla (RTG, UÄ) (Easley ym. 2011). MK:lla on mahdollista arvioida nivelruston tilavuutta, soluväliainetta ja nähdä varhaisia muutoksia (Wang ym. 2010), joita on voitu todeta jo ennen kliinisiä oireita tai muita löydöksiä (King ym. 2013). MK voi johtaa tarkempaan diagnoosiin ja varhaisemmassa vaiheessa kuin RTG ja UÄ, etenkin epäselvissä tapauksissa (Easley ym. 2011, King ym. 2013, Smith ym. 2016). Esimerkiksi septisen niveltulehduksen aiheuttamat muutokset voi todeta MK:lla jo vuorokauden kuluttua infektion alkamisesta (Easley ym. 2011).

Röntgenkuvassa nivel voi näyttää siistiltä, vaikka MK:lla havaitaan nivelrustomuutoksia (King ym. 2013, Smith ym. 2016). MK on herkempi esimerkiksi nivelruston ohenemisen arvioimisessa kuin RTG, jolla arvio perustuu nivelraon kapenemiseen (Wang ym. 2010). Useissa tapaustutkimuksissa RTG:lla ei havaittu OA:in liittyviä muutoksia, jotka todettiin MK:lla, ja MK-löydökset olivat yhtenevät histopatologian kanssa (Smith ym. 2016). Siten MK voi antaa OA:ssa ennusteen ja hoidon kannalta oleellista lisätietoa, jota RTG:lla ei saada (Easley ym. 2011, King ym. 2013).

Smithin ym. (2016) mukaan MK on tarkin kuvantamiskeino varhaisten OA-muutosten havaitsemiseen. Myös OC-vaurion toteamisessa ja sen etenemisen seuraamisessa koko nivelen kattava pisteytysjärjestelmä (MRI-whole-organ scoring system) voi olla hyödyllinen (Smith ym. 2016). Kliinisesti käytettävissä olevista MK-tekniikoista ainakin T2-STIR (T2 short-tau inversion recovery) -, PDw-FS (proton density with fat saturation) - ja T2w (T2-weighted fast spin echo) -tekniikoilla näkyy rakenteellisia muutoksia jo kahdessa viikossa OC-vaurion käynnistämisestä. PDw-FS- ja SPGR-FS (T2* weighted spoiled gradient echo with fat suppression) -tekniikat lisäävät ruston ja rustonalaisen luun välistä kontrastia (Smith ym. 2016). Rustopinnan muutokset erottuvat parhaiten PDw tai VIBE (3-D T1w volumetric interpolated breath-hold examination) -tekniikoilla (Easley ym. 2011).

Varjoaineet parantavat rakenteiden erottuvuutta (Nelson ym. 2017), mutta MK ei välttämättä johda täsmälliseen diagnoosiin edes varjoaineen kanssa (Easley ym. 2011) ja varjoaineen imeytyminen nivelrustoon on hidasta (Wang ym. 2010). MK:lla tai varjoaine-MK:lla arvioituna nivelruston paksuus ei Porterin ym. (2016) mukaan ole yhtenevä kuolemanjälkeisten mittausten kanssa. MK:n haasteena on pitkä kuvausaika, jolloin hevosen on oltava liikkumatta tai nukutettuna (Wang ym. 2010, Smith ym. 2016). Onnistumiseen vaaditaan lisäksi oikeat kuvausarvot, suuntaus ja ajoitus (Wang ym. 2010, Smith ym. 2016). Ruston pinnan, tilavuuden ja paksuuden muutokset eivät välttämättä näy samoilla kuvausasetuksilla, ja hevosilla voidaan joutua tyytymään rustosignaalin arvioimiseen ilman arviota ruston paksuudesta (Smith ym. 2016).

4.1.3 Tietokonekerroskuvaus

TT:llä voi kuvantaa nivelrustoa (Fontaine ym. 2013), ja mikro-TT:llä pystyy varjoaineen avulla arvioimaan nivelruston glykaanipitoisuutta ja hieman rakennettakin (Mittelstaedt ym. 2016). Varjoaineiden avulla pehmytkudokset erottuvat toisistaan, muuten ne olisivat TT:ssa samankaikuisia (Nelson ym. 2017, Nelson ym. 2018). Morfologinen arvio nivelrustosta onkin TT:llä mahdollista vain varjoaineiden avulla (Nelson ym. 2018).

Kaupalliset varjoaineet kulkeutuvat rajallisesti nivelrustoon, jolloin nivelruston ja nivelen muiden rakenteiden välille saadaan suuri kontrastiero (Nelson ym. 2017). Varjoaine-TT:llä voi havaita kollageeniverkoston rappeutumiseen liittyvän nivelruston turpoamisen jo ennen nivelruston ohenemista (Omoumi ym. 2015) ja arvioida nivelruston GAG-pitoisuutta (Bansal ym. 2010). Varjoaineiden avulla voi arvioida nivelruston pintaa, paksuutta ja volyyymiä

(katsauksessaan Nelson ym. 2018). Kuten MK:n, myös TT:n kyvystä erottaa nivelruston muutoksia on kuitenkin ristiriitaisia tuloksia (O'Brien ym. 2011, Hontoir ym. 2014, Smith ym. 2016). Porterin ym. (2016) mukaan arvio nivelruston paksuudesta ei vastaa kuolemanjälkeisiä mittauksia edes varjoaineen kanssa, eikä varjoaine-TT-llä välttämättä havaita nivelrustossa olevia muutoksia (Puchalski 2011).

4.1.4 Ultraäänikuvantaminen

UÄ:lla voidaan tutkia nivelen turvotusta, tulehdustilaa ja vieraskappaleita (Easley ym. 2011, Podlipska ym. 2016). Sillä on voitu tutkia myös nivelrustoa joiltain osin ainakin hevosen polvinivelessä (Martel ym. 2017, Martel ym. 2018). UÄ:lla voi saada paremman kokonaiskuvan nivelpinnan muutoksesta kuin RTG:lla (Martel ym. 2018), ja UÄ voi olla luotettavampi nivelruston tilan arvioimisessa (Podlipska ym. 2016).

Ihmisillä UÄ:lla voi arvioida nivelrustoa kohtalaisesti ja jopa hyvin, mutta toisaalta esimerkiksi polvinivelen lateraalikondylyksessa melko huonosti (Podlipska ym. 2016, Nevalainen ym. 2018). UÄ:lla arvioitu vaurion aste on yhtenevä oireiden kanssa, ja rustomuutoksia on havaittu myös kliinisesti oireettomassa vaiheessa (Podlipska ym. 2017). Ihmisillä tehdyn tutkimuksen perusteella UÄ on parempi polven nivelrikon diagnosoimisessa kuin RTG (Podlipska ym. 2016, Podlipska ym. 2017), mitä voi osaltaan selittää se, että UÄ:lla nähdään muitakin OA:han viittaavia pehmytkudosmuutoksia, joita ei havaita RTG:lla. Ihmisillä UÄ:lla on nähty nivelrustoon liittyvistä muutoksista ruston oheneminen, mutta ei rustopinnan degeneraatiomuutoksia, joita todettiin artroskopiassa. Kuitenkin UÄ:n perusteella tehty OA-luokitus noudatti hyvin artroskopista luokitusta ja paremmin kuin RTG:n avulla tehty, vaikka UÄ:lla ei suoraan nähdäkään nivelruston tilaa (Nevalainen ym. 2018). Toisaalta pitkälle edenneessä ihmisen nivelsairaudessa UÄ:lla havaitut nivelruston muutokset ovat melko yhteneviä röntgenillä arvioidun nivelraon kapenemisen kanssa, vaikkakin UÄ:n herkkyys ja tarkkuus vaihtelevat huomattavasti vaurion sijainnin mukaan (Nevalainen ym. 2018).

Hevosilla UÄ voi olla RTG:a herkempi myös lievien osteokondroottisten irtopalamuutosten (OCD) havaitsemisessa (Bourzac ym. 2009). Sillä voi havaita OCD-muutoksia ennen oireita, ja varsojen OCD-tapauksissa UÄ-löydökset olivat yhteneviä histologian kanssa (Martel ym. 2017). Toisten tutkimusten perusteella UÄ ei ole toimiva nivelruston arvioimisessa ja sillä jää huomaamatta MK:lla havaittuja muutoksia (Easley ym. 2011, King ym. 2013). Easley ym. (2011) havaitsivat, ettei UÄ:lla voi arvioida nivelpintaa ainakaan useissa raajojen distaalisisissa

nivelissä, jolloin sillä ei välttämättä pääse diagnoosiin. Verratessaan artroskopiaa ja UÄ:a hevosen polvivaivan selvittämisessä Adrian ym. (2017) toteavat, että artroskopia toimii paremmin nivelruston arvioimisessa kuin UÄ, joka ei heidän mukaansa ole kovin hyvä menetelmä nivelruston arvioimiseen.

4.1.5 Infrapunasppektroskopia

Nivelruston tutkimiseksi ja sen patologioiden ymmärtämiseksi on kehitetty valoallon leikekuvaukseen perustuvia spektroskopisia menetelmiä, kuten lähi-infrapunasppektroskopia (NIRS). Naudan ja hevosen nivelrustosta otetuista kuvaleikkeistä voidaan tutkia esimerkiksi kollageeniverkoston rakennetta ja nivelruston koostumusta kvantitatiivisesti (Palukuru ym. 2016, Rieppo ym. 2017a, Rieppo ym. 2017b, Sarin ym. 2018). Menetelmä soveltuu hevosen nivelruston arvioimiseen etenkin yhdistettynä optiseen koherenssikerroskuvaukseen (kpl 4.1.6) (Sarin ym. 2018). Menetelmä vaatii koepalan nivelrustosta ja on siten melko traumaattinen.

4.1.6 Optinen koherenssikerroskuvaus

Optinen koherenssikerroskuvaus (OCT) perustuu kudoksista takaisin heijastuviin valon aallonpituuksiin. Se muodostaa kudoksen sisärakenteista kaksiulotteisen kuvan samaan tapaan kuin UÄ (Huang ym. 1991). OCT soveltuu nivelruston paksuuden mittaamiseen, ja se on yhtenevä mikroskooppisen arvion kanssa (Jahr ym. 2015, Puhakka ym. 2016). Artroskopiaan yhdistettynä OCT:lla voi arvioida hevosen nivelruston kollageeni- ja PG-pitoisuuksia ja kollageeniverkostoa (Puhakka ym. 2016, Sarin ym. 2017), ja se sopii erityisen hyvin eläinten nivelruston arvioimiseen (Jahr ym. 2015). Luotettavuutta lisää OCT:n yhdistäminen NIRS:aan (Sarin ym. 2017). OCT-tuloksen arvioiminen on vielä melko subjektiivista, mikä vaikeuttaa vaurioiden systemaattista arviointia. Tämän korjaamiseksi hevosille on kehitetty OCT-pisteytysmalli, joka voi vähentää arvioijasta johtuvaa virhettä (Te Moller ym. 2017).

4.1.7 Akustinen emissiotekniikka

AE mittaa kohteesta ääniaaltoja. Ulkoisten voimien muokatessa rakenteita niistä vapautuu ääniaaltoja, kuten myös eri pintojen osuessa toisiinsa. Tätä ilmiötä kutsutaan akustiseksi emissioksi (Shark ym. 2011, Shakya ym. 2019). Nivelen liikkeestä syntyy ääniaaltoja (Wu ym. 2010), joiden perusteella voidaan saada tietoa nivelruston tilasta, sillä vaurioitunut nivelrusto tuottaa signaaleja eri tavalla kuin terve (Shakya ym. 2019). AE-signaalien avulla saadaan sekä kvantitatiivista että kvalitatiivista tietoa nivelrustovauriosta (Wierzcholski 2015). AE:a on

sovellettu nivelten tutkimisessa ihmisillä ja hevosilla, ja sen soveltamista kliiniseen työhön ollaan kehittämässä (Shakya ym. 2019).

4.1.8 Radiofarmaseuttiset kuvantamismenetelmät

PET:in avulla voi tunnistaa ihmisillä nivelreumatismin ja nivelrikon, mutta tunnistus perustuu glukoosiaineenvaihduntaan tai luustomuutoksiin, ja nivelruston arvioiminen on heikkoa (Nakamura ym. 2007, Kubota ym. 2017). Skintigrafiasta on todettu olevan hyötyä nivelreuman tunnistamisessa ihmisillä, mutta nivelrikon osalta sen toimivuus ei ole niin selvää (Omoumi ym. 2009). Rustospesifin merkkiaineen kanssa skintigrafia soveltui hiirillä tehdyssä tutkimuksessa OA-diagnostiikkaan (Miot-Noirault ym. 2006), ja kaneilla skintigrafialla on tunnistettu akuutti nivelinfektio ja voitu erottaa se aseptisestä tulehduksesta (Sarda-Mantel ym. 2007). Hevosilla skintigrafiaa voidaan käyttää erottamaan infektiivistä rustovauriota aseptisestä, vaikkakaan se ei ole kovin tarkka (Easley ym. 2011). Skintigrafia on herkkä havaitsemaan luun muutoksia, mitä voi hyödyntää ennusteen laatimisessa. CT-kuvaus yhdistettynä skintigrafiaan tarkentaa diagnostikkaa (Omoumi ym. 2009).

4.2 Artroskopia

Artroskopiaa käytetään usein vertailupohjana, kun arvioidaan muilla diagnostisilla menetelmillä havaittuja löydöksiä. Sillä voidaan diagnosoida nivelruston rappeutumista ja ohenemista (Lettry ym. 2010, Verwilghen ym. 2011). Artroskopiassa on invasiivisuuden ja yleisanestesian lisäksi haittana, että sillä on mahdollista havaita vain makroskooppiset muutokset nivelruston pinnassa (Lettry ym. 2010, Verwilghen ym. 2011) ja arvio nivelrustosta on subjektiivinen (Sarin ym. 2017). Luotettavuuden ja vertailukelpoisuuden parantamiseksi on kehitetty kvantitatiivisia menetelmiä, joilla voi mitata objektiivisemmin nivelruston rakennetta ja muun muassa kollageenipitoisuutta. Esimerkiksi NIRS:n tai OCT:n yhdistäminen artroskopiaan tarkentaa nivelruston arvioimisesta (Sarin ym. 2017).

4.3 Kliiniskemialliset tutkimukset veri- ja nivelnestenäytteistä

Kuvantamismenetelmien puutteiden takia nivelvaurioiden tutkimukseen käytetään ja ollaan kehittämässä uusia kliiniskemiallisia määrittämiä. Kliinisellä kemialla tarkoitetaan tässä potilaasta otettujen näytteiden laboratoriotutkimuksia, joilla selvitetään nivelsairauksiin tai rustovaurioon liittyvien merkkimolekyylien (katso kappale 5) pitoisuuksia ja aktiivisuutta.

Nivelruston muuttunut tasapaino ja nivelruston hajoamistuotteet voivat näkyä hevosen nivelnesteessä, esimerkiksi kollageenin hajoamistuotteet vapautuvat nivelnesteeseen (Frisbie ym. 2016). Jo vajaa 40 vuotta sitten on todettu, että kun nivelrustossa on vaurio, hevosen nivelnesteessä esiintyy nivelrustoperäisiä kappaleita, ja siten oletettu nivelruston hajoamistuotteiden pitoisuuden olevan yhteydessä nivelrustovaurioon. Nekropsiassa nivelnesteessä on havaittu fragmentteja myös sellaisissa nivelissä, joissa nivelruston pinnassa ei vielä näkynyt makroskooppisia muutoksia (Tew ja Hackett, 1981). Nivelnesteeseen koostumus (väri, kirkkaus ja viskositeetti) on toistuvasti yhdistetty nivelen tilaan (Rimington 1949, Balazs ym. 1967), ja sen aistinvarainen tarkastelu on yksi keino nivelen tilan alustavassa arvioinnissa (Band ym. 2015). Baccarinin ym. (2014) mukaan nivelnesteeseen kokonaisproteiinit tai valkosolumäärä eivät kuitenkaan eroa merkittävästi rasituksessa, nivelrikossa ja terveillä. Valkosolumäärä nivelnesteessä ei ilmeisesti liity myöskään nivelensisäiseen kipuun (de Grauw ym. 2006a).

Koska nivelneste on yhteydessä verenkiertoon, nivelruston muuttunut aineenvaihdunta voi näkyä myös veressä. Verenkierto on yhteydessä kaikkiin elimistön niveliin, luihin ja lihaksiin, joten veripitoisuudet kuvaavat koko liikuntaelimistön tilaa (Frisbie ym. 2016). Seerumista tai veriplasmasta (jäljempänä plasma) analysoitujen merkkimolekyylien avulla voidaan tehdä johtopäätöksiä yksittäisten nivelten osalta. Nivelneste taas on yhteydessä nivelrustoon ja nivelkapseliin, ja sen koostumus muuttuu herkästi ja nopeasti, joten se kuvastaa täsmällisemmin kussakin nivelessä vallitsevaa tilaa (Frisbie ym. 2016). Toisaalta Verwilghen ym. (2011) pohtivat, että OA on monesti useammassa nivelessä, jolloin veressä voi olla suuremmat muutokset kuin yksittäisen nivelen nivelnesteessä. Näin näyttäisi olevan ainakin tyyppin II kollageenin hajoamistuotteen Coll2-1:n kohdalla (Verwilghen ym. 2011). Samoin vakavammassa vaurioissa merkkimolekyylin pitoisuus veressä voi olla tarkempi mittari kuin nivelnesteessä: Verwilghenin ym. (2011) tutkimuksessa plasman Coll2-1-pitoisuus oli muuttunut vain voimakkaiden rappeumamuutosten yhteydessä.

Verinäytteissä on nivelnäytteisiin verrattuna se etu, että verinäytettä varten ei tarvitse kajota niveleen, jolloin vältetään nivelpistoksen riskeiltä, kuten nivelinfektioilta. Pienissä, rajatummin liikkuvissa nivelissä on lisäksi vain vähän nivelnestetä, mikä voi hankaloittaa nivelnesteestä saamista (Easley ym. 2011) ja sitä myöten myös diagnosoimista nivelnesteeseen perusteella. Verinäytteitä voidaan myös ottaa tiheämmin ja nopeammin, mikä helpottaa nivelen tilan seuranta.

5 BIOLOGISET MERKKIMOLEKYYLIT

Merkkimolekyylit kuvaavat elimen tilaa. Ne voidaan jakaa tulehdusmerkkiaineisiin, aineenvaihdunnan merkkimolekyyleihin ja kudoksen uusiutumisen merkkimolekyyleihin, jotka voidaan edelleen jakaa synteisiin ja rappeutumiseen liittyviin. Toinen tapa on jakaa ne entsyymeihin, soluvälittäjäaineisiin, rakenneproteiineihin ja säätely-RNA:ihin.

5.1 Nivelrustovaurioon liittyvät entsyymit

Haitallinen ärsyke lisää useiden katabolisten entsyymien eritystä synoviosyyteissä ja rustosoluissa, mikä voi olla ensimmäisiä mitattavia muutoksia nivelrustovauriossa (Frisbie ym. 2016, Carslon ja Weisbrode, 2017, katsauksessaan Li ym. 2017). Hevosilla OA nostaa nivelnesteeseen ADAMTS-5:a jo ennen oireita (Ma ym. 2017), ja ADMTS-4:n ja -5:n tuottamien uudisrakenteiden perusteella voi erottaa terveen ja OA-nivelen toisistaan (Janusz ym. 2004, Peffers ym. 2016). MMP:ihin kuuluvat, kollageenia hajottavat kollageenaasit (Olson ja Carlson 2017) on yhdistetty nivelen rappeumasairauksiin (Van den Boom ym. 2005). MMP:ien kohonnut aktiivisuus voi liittyä myös normaaliin nivelruston muokkaukseen yksilön kasvaessa (Brama ym. 2004, McIlwright ym. 2016a), sillä iän myötä nivelnesteeseen kokonais-MMP-aktiivisuus laskee hevosilla selvästi (Brama ym. 2004, de Grauw ym. 2011). MMP-1-aktiivisuus on sikiöillä korkeampi kuin vuotiailla, joilla aktiivisuus on korkeampi kuin aikuisilla. MMP-3-aktiivisuuteen ikä ei kuitenkaan vaikuta. Rasituksella ei ole vaikutusta nivelnesteeseen MMP-1:n aktiivisuuteen, mutta nivelhuuhtelulla on (Brama ym. 2004).

Nivelnesteeseen kokonais-MMP-aktiivisuus on yhteydessä kohtalaiseihin ja voimakkaisiin nivelrustovaurioihin, joissa se kertoo myös vaurion asteesta (Van den Boom 2005). OC:n ja kokonais-MMP-aktiivisuuden välillä ei de Grauw:n ym. (2011) mukaan ole yhteyttä. OA nostaa nivelnesteeseen MMP-3-aktiivisuutta, mutta OC ei (Brama ym. 2004), ja nivelnesteeseen MMP-3-pitoisuuden on todettu nousevan vasta oireilevassa vaiheessa (Ma ym. 2017). Jo Clegg ym. (1997) raportoivat nivelsairauden nostavan nivelnesteeseen MMP-2- ja MMP-9-aktiivisuuksia hevosilla, mutta MMP-2-pitoisuus nousee vasta oireiden alettua (Ma ym. 2017). Myöhemminkin OA:n ja voimakkaiden nivelrustomuutosten on osoitettu lisäävän hevosilla nivelnesteeseen MMP-9-aktiivisuutta, kuten myös MMP-1-aktiivisuutta (Jouglin ym. 2000, Brama ym. 2004, Ma ym. 2017). MMP-13 on tärkein entsyymi ruston väliaineen hajottamisprosessissa (Fosang ym. 1996, Goldring ym. 2011), ja sitä pidetään lupaavana merkkimolekyylinä varhaisenkin nivelrikon diagnosoinnissa (katsauksessaan Li ym. 2017). OA nostaa hevosilla

nivelnesteeseen MMP-13-pitoisuutta jo ennen kliinisiä oireita (Ma ym. 2017). Ihmisillä MMP-13:n tuotannon on havaittu lisääntyvän nivelrikon varhaisessa vaiheessa, mutta pidemmälle edenneessä nivelrikossa MMP-13-geenin ilmeneminen on nivelrustossa vähäisempää kuin terveessä (Sato ym. 2006).

Rustoluista on löydetty solunulkoisena myös MMP- ja ADAMTS-aktiivisuuksia lisäävän S100-ryhmän proteiineja (Stefansson ym. 1982). S100-proteiinit ovat kalsiumia sitovia proteiineja, jotka toimivat sekä solunsisäisesti että ulkoisesti (Yammani ym. 2012). Hevosella OA nostaa nivelnesteeseen S100A10-pitoisuutta (Peffer ym. 2015).

Luun alkalinen fosfataasi (BAP) on luun muodostumiseen liittyvä osteoblastien tuottama entsyymi (Frisbie ym. 2016). Jacksonin ym. (2015) mukaan seerumin BAP-aktiivisuus on nivelsairailta hevosilla kohonnut, Trumblen ym. (2008) mukaan OC sen sijaan laskee BAP:n seerumipitoisuutta. Fullerin ym. (2001) tutkimuksessa OA nosti nivelnesteeseen BAP-pitoisuutta, joka liittyi myös rustovaurioon. Trumblen ym. (2008) tutkimuksessa seerumipitoisuus oli linjassa radiologisen ja artroskopisen luokituksen sekä nivelneste- ja seerumipitoisuuksien suhde artroskopian kanssa, ja seerumipitoisuuden avulla voitiin tunnistaa OC ja havaita nivelrustovaurio ennen radiologisia muutoksia. Iän myötä seerumin BAP vähenee, ja nivelnesteeseen pitoisuuden muutokset vaihtelevat nivelittain (Trumble ym. 2008).

5.2 Soluvälittäjäaineet eli sytokiinit ja kemokiinit

Soluvälittäjäaineet ovat liukoisia proteiineja, jotka osallistuvat solujen väliseen viestintään. Niitä on kymmeniä, joista tässä käydään läpi nivelen diagnostiikan kannalta ja viimeaikaisten tutkimusten perusteella oleellisia. Soluvälittäjäaineet ovat epäsuoria merkkimolekyylejä.

5.2.1 Ruston retiinihappoherkkä proteiini

Ruston retiinihappoherkkä proteiini (CD-RAP) on rustosolujen tuottama ja erittäin pieni liukoinen proteiini, joka liittyy nivelruston muodostukseen ja rappeutumiseen (Berg ym. 2008, Schubert ym. 2010). CD-RAP:ia on terveessäkin rustossa (Dietz ja Sandell 1996), jossa se ohjaa mesenkymaalisoluja erikoistumaan rustosoluiksi ja lisää rustosolujen aggregaatiota (Schubert ym. 2010). Koska CD-RAP:ia esiintyy runsaasti kehittyvässä rustossa, se luokitellaan anaboliseksi (Dietz ja Sandell 1996, Moser ym. 2002). Rustosolujen lisäksi CD-RAP:ia tuotetaan myös melanosyyteissä (Dietz ja Sandell 1996, Novakofski ym. 2015), ja se voi liittyä muihinkin prosesseihin kuin ruston tasapainoon (Berg ym. 2008).

Rustovauriossa soluväliaineesta vapautuu CD-RAP:ia, mikä voidaan havaita kohonneena seerumipitoisuutena (Muller-Ladner ym. 1999, Novakofski ym 2015). Ihmisellä seerumin CD-RAP-pitoisuus on nivelrikossa matalampi tai sama kuin nivelreumassa (Muller-Ladner ym. 1999, Andereya ym. 2006), mutta nivelnesteen CD-RAPin pitoisuus on korkeampi nivelrikossa kuin -reumassa (Saito ym. 2002, Andereya ym. 2006). Ihmisillä tehtyjen tutkimusten perusteella arvellaan, että nivelen tilan heiketessä rustosolujen uusiutuminen vähenee, minkä seurauksena nivelnesteen CD-RAP-pitoisuus laskee (Berg ym. 2008).

Berg ym. (2008) havaitsivat hevosilla tekemässään tutkimuksessa, että laimennusliuos voi vaikuttaa tuloksiin. Andereya ym. (2006) käyttivät tavallista suolaliuosta, mikä voi Bergin ym. (2008) mukaan selittää suurta vaihtelua edellisten tuloksissa, etenkin koska vaihtelu ei näkynyt seerumipitoisuuksissa. Hevosen ikä, sukupuoli tai valittu nivel eivät vaikuttaneet tilastollisesti merkittävästi nivelnesteen CD-RAP-pitoisuuteen. Neljällä hevosella, joilta näyte saatiin kaikista vuohisnivelistä, havaittiin kuitenkin vaihtelua yksilöiden ja yksilöillä eri jalkojen välillä. Tämä vaihtelu ei ollut systemaattista, mutta aineiston pienuuden vuoksi kunnollista tilastollista analyysia ei voitu tehdä. Toistettu nivelhuuhdeltu isotonisella suolaliuoksella ei vaikuta nivelnesteen CD-RAP-pitoisuuteen, mutta niveliin injektoitu lipopolysakkaridi, joka aiheuttaa palautuvan vakavan tulehduksen nivelensisäisesti annettuna, laski CD-RAP-pitoisuutta jo 12 tuntia injektion jälkeen. Pitoisuus pysyi matalana tutkimuksen ajan (noin neljä vuorokautta) (Berg ym. 2008).

5.2.2 Insuliinin kaltainen kasvutekijä 1

Insuliinin kaltainen kasvutekijä 1 (IGF-1) on kasvuhormonin vaikutusta välittävä peptidihormoni, jonka rakenne muistuttaa insuliinia ja joka säätelee muun muassa solunjakautumista. IGF-1 on yhteydessä nivelruston tilaan (de Grauw ym. 2011). Plasman IGF-1-pitoisuudella on voitu erottaa radiologisesti terveet hevoset niistä, joilla nähdään RTG:lla patologisia muutoksia, mutta plasmapitoisuus ei korreloi muutosten voimakkuuden kanssa (Verwilghen ym. 2009). Plasmapitoisuuden voimakas lasku on liitetty OC:iin ja OA:in (Lejeune ym. 2007). OC laskee nivelnesteen IGF-1-pitoisuutta 4 kuukauden ikäisillä varsoilla, mutta eroa ei havaittu enää myöhempinä mittausajankohtina (de Grauw ym. 2011). Verwilghenin ym. (2009) tutkimuksen perusteella myös hevosen paino vaikuttaa IGF-1:n plasmapitoisuuteen.

5.2.3 Osteokalsiini

Osteokalsiini on muun muassa luun uusiutumiseen liittyvä pienikokoinen proteiini, jolla on tärkeä rooli myös akuutin stressivasteen käynnistymisessä (Berger ym. 2019). Ihmisillä sen seerumi- ja nivelnestepitoisuudet ovat linjassa nivelrikon ja ruston aineenvaihduntaa kuvaavien merkkimolekyylien kanssa (Frisbie ym. 2016). Iän (Lepage ym. 1990) ja kortikosteroidien (Geor ym. 1995) on todettu vaikuttavan osteokalsiinin pitoisuuksiin hevosilla. Osteokalsiinia on enemmän seerumissa kuin nivelnesteessä, jonka osteokalsiini voikin olla peräisin verestä (Salisbury ja Sharif 1997) eikä välttämättä toimi yksittäisen nivelen arvioimisessa (Frisbie ym. 2016). Korkea osteokalsiinipitoisuus veressä kahden viikon ikäisellä varsalla voi ennustaa 11 kuukauden ikäisenä RTG:lla diagnosoitua OC:tä (Donabedian ym. 2008). Viiden kuukauden ikäisillä varsoilla seerumin osteokalsiinipitoisuus korreloi positiivisesti OC-asteen kanssa, mutta 11 kuukauden ikäisillä negatiivisesti (Billinghurst ym. 2004). Frisbien ym. (2008) tutkimuksessa sekä OA että valmennus nostivat seerumin ja nivelnesteeseen osteokalsiinipitoisuuksia. Pitoisuuksien perusteella voitiin kuitenkin erottaa OA-hevoset verrokeista riippumatta siitä, valmennettiin niitä vai ei. Osteokalsiinin seerumi- ja nivelnestepitoisuuksien avulla voi erottaa OA:n terveestä (Frisbie ym. 2008).

5.2.4 Kitinaasi-3-kaltaiset proteiinit

Kitinaasi-3-kaltaiset proteiinit (CHI3L) ovat glykoproteiineja, jotka osallistuvat kudosten uusiutumiseen, tulehdusreaktioihin ja kudosaaurioihin, kuten nivelrustovaurioon (Ranok ym. 2013, Di Rosa ym 2014). Ainakin ihmisillä ja rotilla erityisesti CHI3L1 ja CHI3L2 ovat yhteydessä nivelrustovaurioon (Szychlinska ym. 2016). CHI3L1:tä on enemmän OA-nivelen nivelrustossa kuin terveessä, ja CHI3L1-pitoisuus voi liittyä nivelrikon kehittymiseen (Di Rosa ym 2014). Ihmisellä nivelnesteeseen CHI3L2-pitoisuus kertoo rustosolujen aktivaatiosta ja OA:n kehittymisestä (Ranok ym. 2013). Hevosilla CHI3L-proteiineja on tutkittu melko vähän.

5.2.5 High mobility group box protein -1

High mobility group box protein -1 (HMGB-1) on tumaproteiini, jota ei normaalisti esiinny solun ulkopuolella (Frisbie ym. 2016). Solunulkoisena se aktivoi proteaaseja ja lisää tulehdusvälittäjäaineiden erittymistä makrofageista (de Grauw ym. 2010). Synoviitissa HMGB-1:tä vapautuu makrofageista ja nekroottisista soluista, jolloin nivelnesteeseen HMGB-1-pitoisuus nousee nopeasti (Brown ym. 2009, de Grauw ym. 2010). HMGB-1 voi olla osa nivelruston normaalia fysiologiaakin (Ley ym. 2009).

OC nostaa hevosen nivelnesteeseen HMGB-1-pitoisuutta (Brown ym. 2009), kuten myös nivelrustovaurio ja OA (Ley ym. 2009), mikä on linjassa ihmisillä ja rotilla tehtyjen tutkimusten (Kokkola ym. 2002) kanssa. OC:lle on määritetty HMGB-1:n nivelneste-pitoisuuden raja-arvo (vuohisnivelille 11 ng/ml ja karpaalinivelille 9 ng/ml) (Brown ym. 2009), mutta sen perusteella ei voi erottaa nivelrustovauriota OCD:sta tai OA:sta (Ley ym. 2009). HMGB-1-pitoisuus voi liittyä OA:n etenemiseen, sillä OA:ta löytyi puolella nivelistä, joissa oli traumaperäinen OA. Solunulkoista HMGB-1 löytyy nivelestä jo ennen nivelrikon morfologisia muutoksia tai vakavaa synoviittia (aseptinen niveltulehdus) (Ley ym. 2009).

5.2.6 Interleukiinit

Interleukiinit (IL) ovat solujen erittämiä tulehdusvälittäjäaineita, jotka lisäävät MMP-synteesiä rusto- ja synoviaalisoluissa ja alentavat nivelruston PG-pitoisuutta. Nivelten patologian kannalta keskeisimpiä interleukiineja ovat IL-1, sen alatyypit IL-1 α ja IL-1 β sekä IL-6 (McIlwright 2016a). Näistä IL-1 β lisää NO:n muodostumista rustosoluissa (Blanco ja Lotz 1995).

Hevosilla OA nostaa nivelnesteeseen IL-1- ja IL-6-pitoisuuksia jo ennen oireiden ilmenemistä (Ma ym. 2017). IL-1 β -pitoisuus on hevosen vaurioituneessa nivelrustossa korkeampi kuin terveessä (Kamm ym. 2010), ja se voi kertoa OA:n asteesta, sillä sen on todettu nousevan OA:n edetessä (Blanco ja Lotz 1995, Bertuglia ym. 2016). Hevosen nivelnesteeseen IL-6-pitoisuus nousee vakavissa OA-muutoksissa, mutta ei nivelissä, joissa rustovaurio on lievä tai kohtalainen (Ley ym. 2007). Bertuglian ym. (2016) mukaan OA nostaa nivelnesteeseen IL-6-pitoisuutta ensin voimakkaasti, minkä jälkeen pitoisuus laskee noin vuoden kuluessa, kunnes alkaa nousta taudin edetessä. IL-6-pitoisuus saattaaakin liittyä sairauden vaiheeseen. Nivelnesteeseen voimakas IL-6-pitoisuuden nousu viittaa irtopalaan, mutta pitoisuuden lievä muutos ei poissulje sitä. Myös synoviitti itsessään nostaa nivelnesteeseen IL-6-pitoisuutta (Ley ym. 2007).

5.2.7 Leukotrieni B₄

Leukotrieni B₄:n (LTB₄) nivelneste-pitoisuus on korkeampi OC-nivelissä kuin terveissä (de Grauw ym. 2006a ja 2006b), mutta myös ikä vaikuttaa selvästi LTB₄-pitoisuuteen (de Grauw ym. 2011). Nivelnesteeseen LTB₄-pitoisuus ei näytä liittyvän suoraan nivelensisäiseen kipuun: sillä ei ollut yhteyttä nivelensisäiseen puudutusvasteeseen vuohisessa, vaikka kaikilla tutkittavilla hevosilla ontuma oli paikallistettu kyseiselle alueelle johtopuudutuksin (de Grauw

ym. 2006a). Koska rustovaurio ei itsessään aiheuta kipua, tämä ei välttämättä kerro LTB₄:n toimivuudesta nivelruston arvioimisessa. LTB₄-molekyylä ei ole tutkittu kovin paljon.

5.2.8 Prostaglandiini E₂

Nivelen patologioissa keskeisin prostaglandiini on prostaglandiini E₂ (PgE₂), joka on tärkeimpiä tulehduksen välittäjiä OA:ssa (McIlwright 2016a). IL-1 β , TNF- α ja NO aiheuttavat PgE₂-tuotantoa rustosoluissa (Stadler ym. 1991, Blanco & Lotz 1995, McIlwright 2016a). PgE₂ estää rustosolujen jakaantumista (Blanco & Lotz 1995) ja alentaa nivelruston PG-pitoisuutta (McIlwright 2016a).

Hevosten nivelnesteeseen PgE₂-pitoisuudesta on ristiriitaisia tuloksia. Synoviitti nostaa nivelnesteeseen PgE₂-pitoisuutta nopeasti ja voimakkaasti, ja pitoisuus myös laskee melko nopeasti tulehduksen alun jälkeen (de Grauw ym. 2009). Alle vuoden ikäisillä hevosilla nivelnesteeseen PgE₂-pitoisuuksissa ei ole tilastollisesti merkitsevää eroa OC-nivelten ja terveiden välillä, mutta vuotiailla pitoisuus on OC-nivelissä matalampi kuin verrokkiniivelissä (de Grauw ym. 2011), ja nuorilla aikuisilla hevosilla OC näyttäisi nostavan nivelnesteeseen PgE₂-pitoisuutta (de Grauw ym. 2006a ja 2006b). Baccarinin ym. (2014) mukaan nivelnesteeseen PgE₂-pitoisuus ei liity OA:in eikä rasiin. Kuitenkin Frisbien ym. (2008) tutkimuksessa rasiin nosti seerumin ja OA sekä nivelnesteeseen että seerumin PgE₂-pitoisuutta, ja heidän mukaansa sekä seerumista että nivelnesteestä analysoituna PGE₂-pitoisuuden perusteella voi erottaa OA:n terveestä.

5.2.9 Myeloperoksidaasi

Myeloperoksidaasi (MPO) on tulehdusvasteeseen liittyvä entsyymi, joka on yhdistetty nivelrustoa vaurioittaviin tiloihin. Tulehduksessa neutrofiilit vapauttavat MPO:ta (Ackermann 2017). OC laskee plasman MPO-pitoisuutta, jonka perusteella voi erottaa OC-positiiviset OC-negatiivisista. Muut nivelmuutokset eivät vaikuta sen plasmapitoisuuteen. Iän myötä MPO:n plasmapitoisuus voi nousta (Verwilghen ym. 2009). Nivelnesteeseen MPO-pitoisuus on lievissä muutoksissa korkeampi kuin kohtalaisissa ja voimakkaissa, mutta kohtalaisten ja voimakkaiden muutosten välillä ei todettu merkitsevää eroa (Verwilghen ym. 2011). Pitoisuus vaikuttaisi siis laskevan nivelen tilan pahentuessa. Verwilghenin ym. (2011) tutkimuksessa terveet ja lievämuutoksiset nivelet analysoitiin yhtenä ryhmänä.

5.2.10 Stroomasoluperäinen tekijä 1

Stroomasoluperäinen tekijä 1 (SDF-1) on MMP-vapautumista lisäävä kemokiini, jota tuottavat pääasiassa fibrosyytit (Dymock ym. 2014). Se ohjaa mesenkymaalisoluja erilaistumaan rustosoluiksi edistäen rustovaurion korjautumista (Wang ym. 2017). Rasituksella ei ilmeisesti ole vaikutusta hevosen nivelnesteeseen tai veriplasman SDF-1-pitoisuuteen, mutta nivelsairaus nostaa nivelnesteeseen ja laskee seerumin SDF-1-pitoisuutta (Dymock ym. 2014). Nivelen tilan arvioimisessa seerumin SDF-1 on luotettavampi mittari kuin nivelnesteeseen, kuten on myös traumaperäisen OA:n erottamisessa terveistä. Nivelneste- ja plasmapitoisuuksiin verrattuna seerumipitoisuus on herkin (Dymock ym. 2014). SDF-1-pitoisuuksilla ei ole yhteyttä artroskopiolla todettuun nivelrustovaurioon, vaikka sen pitoisuudella on selvä yhteys OC:n ja artroskopisen tulehdusluokituksen kanssa (Dymock ym. 2014). SDF-1-pitoisuuksissa on havaittu nivelkohtaista vaihtelua, ja nivelnesteeseen SDF-1-pitoisuudelle voikin olla tarpeen määrittää nivelkohtaiset raja-arvot (Dymock ym. 2014).

5.2.11 Substanssi P

Substanssi P (SP) on välittäjäaine, joka säätelee erityisesti kipuimpulssien kulkua (Marshall ym. 1990). Sitä on havaittu runsaasti naudan synoviitissa ja OA:ssa (Halliday ym. 1993), jossa se liittyy tulehdukseen ja kipuun (Marshall ym. 1990). Nivelnesteessä proteolyttiset SP-kappaleet lisäävät prostaglandiinien ja kollageenaasien vapautumista (Halliday ym. 1993). Synoviitti nostaa nivelnesteeseen SP-pitoisuutta nopeasti ja voimakkaasti, ja tulehduksessa nivelnesteeseen SP-pitoisuus on linjassa MMP- ja bradykiinipitoisuuksien kanssa (de Grauw ym. 2009).

5.2.12 Muutoskasvutekijä beetta

Muutoskasvutekijä beetta (TGF- β) muun muassa lisää prostaglandiinin ja tyypin II kollageenin tuotantoa ja on IL-1 β vastavaikuttaja (McIlwright 2016a, Van Weeren 2016a). Normaalisti nivelnesteeseen TGF- β -pitoisuus laskee iän myötä (de Grauw ym. 2011, McIlwright 2016a), mutta OC-nivelissä pitoisuus ei laske (de Grauw ym. 2011). Nivelrustossa TGF- β -signalointia estää rustosolujen erittämä proteiini CD109 (Bizet ym. 2011), jonka määrän muutokset liittyvät OA-patogeneesiin ja joka voi olla toimiva hevosen OA:n havaitsemisessa nivelnesteestä mitattuna (Peffer ym. 2015).

5.2.13 Kasvainkuoliotekijä alfa

Kasvainkuoliotekijä alfa (TNF- α) lisää NO-pitoisuutta kudoksissa (Blanco ja Lotz 1995) ja MMP-synteesiä rusto- ja synoviaalisoluissa (Jouglin ym. 2000, McIlwright 2016a). Kammin ym. (2010) mukaan ihmisen nivelnesteeseen TNF- α -pitoisuus nousee OA:n edetessä, mutta Ley ym. (2007) toteavat, että hevosen nivelnesteessä TNF- α -aktiivisuus on vähäistä, eikä se liity synoviittimuutoksiin tai OA:iin. Jouglinin ym. (2000) mukaan hevosilla nivelnesteeseen TNF- α -pitoisuus ei liity nivelrustovaurion asteeseen. Bertuglian ym. (2016) tutkimuksessa taas TNF- α -pitoisuuden perusteella pystyi erottamaan terveet ja OA-yksilöt, ja pitoisuus oli yhtenevä RTG-löydösten kanssa. Akuutti vaurio nosti selvästi TNF- α -pitoisuutta, joka nivelsairauden edetessä nousi usean vuoden ajan (Bertuglia ym. 2016). Ma ym. (2017) mukaan nivelnesteeseen TNF- α -pitoisuus nousee vasta, kun hevonen oireilee niveltä.

5.3 Nivelruston ei-kollageeniset hajoamistuotteet

Nivelruston tasapainon häiriintymiseen liittyy soluväliaineen muutoksia. Entsymaattisissa pilkkomisreaktioissa soluväliaineesta muodostuu uusia kolmiulotteisia molekyyilirakenteita, uudisrakenteita. Esimerkiksi IL-1 β lisää ADAMTS-4:n ja MMP:ien määrää, jotka pilkkovat nivelrustosta uudisrakenteita (Peffer ym. 2016). Näitä soluväliaineen hajoamistuotteita vapautuu nivelnesteeseen (Frisbie ym. 2016, Carlson ja Weisbrode 2017).

5.3.1 Ruston moniosainen väliaine proteiini

Ruston moniosaista väliaine proteiinia (COMP) on runsaasti rustossa. Sitä on myös muissa kudoksissa, kuten jänteissä ja synoviumissa (Frisbie ym. 2016), ja synoviitti itsessään nostaa nivelnesteeseen COMP-pitoisuutta (Misumi ym. 2006). Nivelneste pitoisuudessa on iän myötä laskeva trendi (Taylor ym. 2006), ja voimakas rasitus nostaa nopeasti seerumin COMP-pitoisuutta, joka palautuu levossa normaaliksi vuorokaudessa (Misumi ym. 2006). Nivelnesteeseen ja seerumin COMP-pitoisuudet ja niiden vaste vaurioon eroavat eri hevosroduilla (Skiöldebrand ym. 2001). COMP:n lyhyt puoliintumisaika voi haitata seerumin COMP-pitoisuuden nousun havaitsemista.

Ihmisillä nivelnesteeseen COMP-pitoisuus nousee akuutissa vauriossa, ja pitoisuudesta voi päätellä, onko nivel sairas. Pitoisuus on akuutin vaurion jälkeen useita vuosia lievästi koholla, mutta palautuu lopulta normaalitasolle (Neuman ym. 2017). Hevosillakin OA nostaa nivelnesteeseen COMP-pitoisuutta (Misumi ym. 2006, Peffer ym. 2015, Ma ym. 2017), ja

akuuttia ontumaa aiheuttavissa nivelissä nivelnesteeseen COMP-pitoisuus on korkeampi kuin terveissä tai kroonisesti sairaisissa (Skiöldebrand ym. 2017). Taylorin ym. (2006) mukaan OA laskee nivelnesteeseen COMP-pitoisuutta, mutta nivelnesteeseen ja seerumin COMP-pitoisuudet voivatkin nousta vasta 2 vuoden kuluttua vaurion alusta ja olla vaurioitumisen jälkeen ensin matalammat (Bertuglia ym. 2016). Lievissä ja kohtalaisissa ontumissa nivelnesteeseen COMP-pitoisuudella ei ole yhteyttä skleroosiin, luun hajoamiseen, luupiikkeihin tai nivelraon kaventumiseen (Taylor ym. 2006). Onkin ehdotettu, että nivelnesteeseen COMP-pitoisuus ensin nousee ja sairauden jatkuessa laskee (Misumi ym. 2006). Myös hevosen virtsan COMP-pitoisuus voi toimia OA-diagnostiikassa (Misumi ym. 2006).

Laboratorio-oloissa varhaisen OA:n mallissa rusto tuottaa solunulkoisia COMP-uudisrakenteita (Peffer ym. 2016, Skiöldebrand ym. 2017). Peffer ym (2015) löysivät kahdeksan eri OA:in liittyvää COMP:sta pilkkoutunutta neljästä aminohaposta koostuvaa uudisrakennetta, ja hevosilla mahdollisesti ainoastaan vaurioituneessa nivelrustossa esiintyvälle seriini-glysiini-proliini-treoniini-histidiini-glutamaatti-peptidille (SGPTHE) on kehitetty vasta-ainemääritys (Skiöldebrand ym. 2017). Nivelnesteeseen SGPTHE on lupaava merkkimolekyylit nivelruston varhaisten muutosten havaitsemiseen (Skiöldebrand ym. 2017). Myös uudisrakenteiden kokojakauma eroaa terveissä ja sairaisissa nivelissä: sairaisissa on vähemmän suuria (septisissä nivelissä ei ollenkaan) ja enemmän pieniä kappaleita. Kokojakauman perusteella ei silti voi erottaa eri nivelsairauksia toisistaan (Misumi ym. 2001).

5.3.2 Glykosaminoglykaanit

GAG:it ovat PG:ien ydinproteiiniin liittyneitä sokerijohdannaisia (ks. kpl 2.1). Nivelruston GAG-pitoisuudella ei ole yhteyttä nivelnesteeseen GAG-pitoisuuteen (Van den Boom ym. 2005). Sekä rasitus että OA nostavat nivelnesteeseen ja seerumin GAG-pitoisuuksia. OA nostaa seerumin GAG-pitoisuutta enemmän kuin rasitus, mutta nivelnesteeseen GAG-pitoisuuden avulla ei voi erottaa rasitusta ja OA:a (Frisbie ym. 2008). GAG:n nivelnesteeseen pitoisuudessa ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa verrokkien ja nivelrustovauriollisten nivelten välillä tutkimuksessa, jossa verrokkeina käytettiin saman hevosen kliinisesti oireetonta kontralateraalniveltä. Osassa verrokinivelissä havaittiin kuitenkin artroskopisesti nivelrustomuutoksia, mikä voi selittää arvojen päällekkäisyyttä (Fuller ym. 2001). Nivelnesteeseen GAG-pitoisuudella ei ole yhteyttä nivelrustovaurion asteeseen (Van den Boomin ym. 2005). GAG:ien kokonaispitoisuuden lisäksi on tutkittu yksittäisten GAG:ien yhteyttä nivelten patologiisiin tiloihin.

5.3.2.1 Hyaluronihappo

Hyaluronihappo (HA) on GAG:eihin kuuluva polysakkaridi, joka tekee nivelnesteestä viskoosia ja joustavaa (van Weeren 2016a). Seerumin HA-pitoisuuden nousu on yhdistetty useassa tutkimuksessa nivelrikon riskiin (katsauksessaan Band ym. 2015), vaikka nivelnesteeseen HA-pitoisuudessa on suurta vaihtelua myös terveissä nivelissä (Taylor ym. 2006). Etenkin nuorilla hevosilla nivelnesteeseen HA-pitoisuus nousee valmennuskauden alkuvaiheessa (Baccarin ym. 2014), ja pitoisuuden nousu voi kertoa sopeutumisesta kuormitukseen. Baccarinin ym. (2014) mukaan hevosen nivelnesteeseen HA-pitoisuus ei eroa terveiden ja OA-nivelten välillä, mutta Ma ym. (2017) mukaan se nousee OA:ssa jo ennen kliinisiä oireita. Kliinisesti oireilevissa nivelissä nivelnesteeseen HA-pitoisuuden on todettu olevan myös matalampi kuin terveissä, mutta HA-pitoisuudella ja nivelruston artroskopisella arviolla ei ollut yhteyttä (Fuller ym. 2001).

Ihmisillä nivelnesteeseen HA-pitoisuuden ja HA:n molekyylipainon on osoitettu olevan yhteydessä OA:in, ja HA:n molekyylipainolla voi ennustaa OA:n kehittymistä ja etenemistä. Ihmisillä polven OA:ssa molekyylipaino on yhteydessä kipuun: mitä pienempi molekyylipaino ja mitä suurempi suhteellinen osuus kevyitä HA-molekyylejä, sitä kipeämpi polvi. OA-diagnostiikassa kevyiden ja raskaiden HA-molekyyliden määrien suhde on tarkempi kuin molekyylien keskipaino. Molekyylipainon lasku ja kevyiden molekyylien osuuden kasvu ilmaisevat kehittyvää OA:a, ja jakauman siirtymä kohti kevyempiä liittyy OA:n nopeaan etenemiseen (Band ym. 2015). Hevosilla ei ole juuri tutkittu HA-molekyylipainon merkitystä.

5.3.2.2 Kerataanisulfaatti

Kerataanisulfaatti (KS) on GAG-tyyppinen PG:ien sivuketju (katso kpl 2.1). Nivelnesteeseen KS-pitoisuus ja KS-GAG-suhde on nivelrustovauriollisissa ja kliinisesti oireilevissa nivelissä matalampi kuin oireettomissa (Fuller ym. 2011). Nivelnesteeseen KS-pitoisuuden vaihtelu on verrokeissakin suurta, joskin osassa niistä havaittiin artroskopisesti nivelrustomuutoksia. Nivelnesteeseen KS-pitoisuus ja KS- ja GAG-pitoisuuksien suhde eroavat oireilevissa ja terveissä nivelissä ja lisäksi sen mukaan, onko nivelrustossa vauriota vai ei (Fuller ym. 2011).

5.3.2.3 Kondroitiinisulfaatti ja sen fragmentti CS846

Kondroitiinisulfaatti (CS) on PG:iden sivuketju (katso kpl 2.1). Nivelnesteessä oleva CS viittaa OC:iin jo ennen oireita, ja OCD nostaa nivelnesteeseen CS-pitoisuutta (Machado ym. 2012). Nivelnesteeseen CS-pitoisuuden avulla voi ennustaa OA:n kehitystä: se oli selvästi korkeampi

niillä hevosilla, joille kehittyi myöhemmin OA, kuin muilla. Kellään näistä hevosista ei tutkimuksen aikana ollut RTG:lla tai UÄ:lla havaittavia OA-muutoksia (Baccarinin ym. 2014).

Nivelpatologioissa on havaittu CS-peräisiä uudisrakenteita, kuten CS846, joka kertoo ruston rakennusprosessista (Jackson ym. 2015). Rasitus ja OA nostavat seerumin ja nivelnesteeseen CS848-pitoisuuksia, OA rasitusta selvemmin (Frisbie ym. 2008, Ma ym. 2017). OC laskee neljän kuukauden ikäisillä hevosilla nivelnesteeseen CS846-pitoisuutta ja CS-846:GAG-suhdetta, mutta myöhemmin eroa ei ole. Tästä voitiin päätellä, että OC:n alkuvaiheessa nivelnesteeseen CS846-GAG-suhde ja CS846-pitoisuus ovat matalammat kuin terveessä, ja myöhemmin lisääntynyt pitoisuus kertoo korjausvasteesta (de Grauw ym. 2011).

5.3.3 Suuret proteoglykaanit ja niiden uudisrakenteet

Aggrekaani on nivelruston tärkein PG (ks. kpl 2.1). Ihmisen nivelnesteeseen aggrekaanipitoisuus nousee akuutin vaurion jälkeen, ja sen perusteella voi päätellä onko nivel terve vai sairas. Aggrekaanipitoisuus alkaa laskea selvästi puolen vuoden kuluttua vauriosta, mutta pysyy hieman koholla useita vuosia (Neuman ym. 2017). Hevosilla aggrekaanin nivelnesteepitoisuudet eroavat eri roduilla (Skiöldebrand ym. 2001). Hevosen nivelnesteestä (Peffer ym. 2015) ja rustosta on *in vitro* -tutkimuksessa (Peffer ym. 2016) tunnistettu OA:lle ominaisia aggrekaanin uudisrakenteita, joita voidaan mahdollisesti hyödyntää niveldiagnostiikassa. Larsson ym. (2014) ovat kehittäneet testin aggrekaanin alaniini-arginiini-glysiini-seriini-peptidille (ARGS), jota voi mitata nivelnesteestä, verestä ja virtsasta.

Lubrisiini on suuri PG, jota on nivelnesteessä ja nivelrustossa, jossa se sitoo soluväliaineen proteiineja (Reesink ym. 2016, Flowers ym. 2017, Svala ym. 2017). Lubrisiinia tuottavat synoviosyytit, nivelkierukoiden solut ja rustosolut, ja MMP:t pilkkovat lubrisiinia nivelrustosta (Flowers ym. 2017). OA nostaa nivelnesteeseen lubrisiinipitoisuutta hevosilla (Reesink ym. 2017a). Hiirillä ja hevosilla terveiden nivelten lubrisiini on voimakkaasti O-glykosyloitu, eli siinä on liittyneenä useita sokeri- ja siaalihapposivuketjuja. OA lisää niukasti sokeroitujen eli vain yhden O-glykaanin sisältävien lubrisiinien määrää nivelnesteessä. Vähentynyt O-glykosylaatio voi heikentää nivelpintojen liukastusta ja olla yksi nivelrikon varhaisista muutoksista (Svala ym. 2017). Hiirillä OA:ssa nivelruston pinnalla on lubrisiini-Coll2- ja lubrisiini-fibronektiini-komplekseja, joita ei ole terveissä nivelissä (Flowers ym. 2017).

Galektiinit ovat β -galaktosideja sitovia proteiineja, joita luuytimen kantasolut, rustosolut ja synoviosyytit tuottavat (Reesink ym. 2017b). Nivelnesteessä on useita galektiineja, tutkituimpina galektiini-1 ja -3 (Gal1 ja Gal3). Gal1 saattaa hillitä tulehdusta (Iqbal ym. 2013), ja Gal3 sitoo lubrasiinia parantaen sen liukastavuutta (Reesink ym. 2016). Galektiinien inhibitio haittaa kantasolujen toimintaa (Reesink ym. 2017b) ja johtaa lubrasiinin häviämiseen nivelruston pinnalta edistäen rustovauriota (Reesink ym. 2018). Terveen nivelruston pinnallisessa kerroksessa on runsaasti Gal3:a ja vain vähän Gal1:tä (Reesink ym. 2018), mutta OA-nivelessä Gal3 sitoutuu heikosti nivelruston pintaan (Reesink ym. 2016). Hevosen nivelnesteessä on normaalistikin Gal1:tä ja Gal3:a, mutta OC ja OA nostavat niiden nivelnesteepitoisuuksia (Reesink ym. 2018).

5.3.4 Pienet leusiinirunsaat proteoglykaanit ja niiden uudisrakenteet

Nivelruston soluväliaineessa on suurten lisäksi pieniä PG:eja. ADAMTS:t ja MMP:t pilkkovat soluväliaineesta ainakin biglykaania (Melching ym. 2006), dekoriinia (Imai ym. 1997) ja fibromoduliinia (Heathfield ym. 2004). Hevosen nivelnesteestä on löydetty OA:iin liittyviä biglykaanin, dekoriinin ja fibromoduliinin uudisrakenteita (Peffer ym. 2015), joita pidetään lupaavina merkkimolekyyleinä niveldiagnostiikalle ja OA-profiilin määrittämiselle (Peffer ym. 2016).

5.4 Nivelruston kollageeniset merkkimolekyylit

Kollageeniverkostojen muodostuessa tai hajotessa ruston väliaineeseen vapautuu erikokoisia peptidiketjuja tai niistä pilkkoutuneita uudisrakenteita. Näiden lisääntynyt pitoisuus nivelnesteessä tai veressä voi viitata kollageeniverkoston lisääntyneeseen rakentumiseen tai hajoamiseen (Carlson ja Weisbrode 2017).

5.4.1 Tyypin II kollageenin hajoamistuote Coll2-1 ja sen nitraattimuoto

Tyypin II kollageenia on ainoastaan rustossa (Carlson ja Weisbrode 2017). Se on nivelruston soluväliaineen runsain proteiini, jonka hajoamistuotteiden seerumipitoisuutta voi pitää luotettavana ruston rappeutumisen arvioimisessa (Verwilghen ym. 2011), vaikka itse tyypin II kollageenin nivelnesteepitoisuudella ei ole yhteyttä rustovaurioon (de Grauw ym. 2011). Tyypin II kollageenin nivelnesteepitoisuus eroaa eri hevosroduilla (Skiöldebrand ym. 2001). Tyypin II kollageenia pilkkovat pääasiassa MMP:t, ja hajoamistuotteita vapautuu laboratorioolosuhteissa OA-rustosta enemmän kuin terveestä rustosta (Lavery ym. 2002).

Coll2-1 on tyypin II kollageenin hajoamistuote, johon liitetään nitraatti ja vapautetaan verenkiertoon (Kaur ja Halliwell 1994). Coll2-1-pitoisuus laskee iän myötä (Verwilghen ym. 2011). Koska Coll2-1 muodostuu vain rustospesifeistä kollageeneista, se on täsmällinen nivelen arvioimisessa (Deberg ym. 2005). OA nostaa nivelnesteen Coll2-1-pitoisuutta, jonka perusteella voi erottaa terveen ja sairaan nivelen (Verwilghen ym. 2009, Verwilghen ym. 2011). Täyttyneessä nivelessä Coll2-1-pitoisuus on korkeampi kuin terveessä, ja nivelnesteen Coll2-1-pitoisuuden avulla voidaan päätellä nivelrustovaurion olemassaolosta (Verwilghen ym. 2011). Nivelnesteen Coll2-1-pitoisuus nousee nivelrustovaurion voimistuessa ja on toimiva myös vaurioasteen arvioimisessa (Verwilghen ym. 2011) kuten seeruminkin Coll2-1-pitoisuus (Verwilghen ym. 2009, Verwilghen ym. 2011).

Coll2-1:n nitraattimuodon Coll2-1NO₂:n seerumipitoisuus on toimiva nivelrustovaurion ilmaisin ainakin ihmisellä (Deberg ym. 2005), ja plasman Coll2-1NO₂-pitoisuuden nousu OC-hevosilla ilmaisee tulehdusta. Plasman Coll2-1- ja Coll2-1NO₂-pitoisuuksien perusteella voidaan erottaa OC-hevoset terveistä mutta ei arvioida OC-muutosten astetta (Gangl ym. 2007), vaikkakin Verwilghenin ym. (2009) tutkimuksessa RTG-luokitus oli yhtenevä plasman Coll2-1NO₂-pitoisuuden kanssa. Nivelnesteen Coll2-1NO₂-pitoisuus sen sijaan ei ole kovin luotettava mittari nivelrustovaurion diagnosoimisessa (Verwilghen ym. 2011).

5.4.2 Tyypin II kollageenin uudisrakenne C2C

C2C on tyypin II kollageenin ¾-pituinen karboksyylipään peptidi (Verwilghen ym. 2011), jota syntyy MMP:n pilkkoessa tyypin II kollageenia (Nicholson ym. 2010). Niveldiagnostiikassa Coll2-1 ja C2C ovat toisiaan täydentäviä merkkimolekyylejä, joiden yhdistelmällä voi päästä tarkempaan tulokseen kuin pelkästään Coll2-1-pitoisuuden mittauksella (Verwilghen ym. 2011).

Seerumi- ja nivelnestepitoisuuksissa on nivelkohtaista vaihtelua (Trumble ym. 2009, Nicholson ym. 2010). Ikä laskee vuohisnivelen nivelnesteen C2C-pitoisuutta, mutta ei radiokarpaali- eikä mediokarpaalinivelen (Nicholson ym. 2010). Rasitus ei vaikuta ainakaan nivelnesteen C2C-pitoisuuteen (Trumble ym. 2009). OC:n on todettu laskevan seerumin C2C-pitoisuutta (Nicholson ym. 2010). Tulokset nivelnesteen C2C-pitoisuuden ja nivelvaurioiden yhteydestä vaihtelevat. Trumble ym. (2009) toteavat nivelnesteen C2C-pitoisuuden olevan yhteydessä RTG- ja artroskopia-arvioon sekä vaurioasteeseen, mutta Lettryn ym. (2010) mukaan C2C-

pitoisuudella ei ole yhteyttä artroskopiseen luokitukseen. OC nosti nivelnesteeseen C2C-pitoisuutta (Trumble ym. 2009, Lettry ym. 2010), ja nivelnesteeseen C2C-pitoisuuden perusteella voitiin erottaa OC:n terveestä (Trumble ym. 2009). Toisaalta de Grauw ym. (2006b ja 2011) ovat raportoineet, ettei nivelnesteeseen C2C-pitoisuus eroa terveen ja OCD-nivelen välillä. Myöskään traumaperäinen irtopala ei muuttanut nivelnesteeseen C2C-pitoisuutta terveisiin verrattuna (Lettry ym. 2010), mutta pieni otoskoko (6 hevosta) saattaa vaikuttaa siihen, ettei eroa havaittu. C2C:tä pidetään silti lupaavana diagnostiikan kannalta (Lettry ym. 2010).

5.4.3 Tyypin II prokollageenin karboksyylipään propeptidi

Propeptidit ovat lyhyitä aminohappoketjuja prokollageenin amino- ja karboksyylipäissä. Ne poistetaan ennen kollageenin liittymistä kollageniverkoston (Van Weeren ym. 2016a). Tyypin II prokollageenin karboksyylipään propeptidi (CPII) kuvaa tyypin II kollageenin synteesiä (Nicholson ym. 2010).

Ikä ei vaikuta seerumin CPII-pitoisuuteen (Nicholson ym. 2010), mutta rasitus nostaa seerumin ja nivelnesteeseen pitoisuuksia sekä terveillä että OA-hevosilla (Frisbie ym. 2008). CPII:lla vaikuttaa olevan myös nivelkohtaisia eroja (Nicholson ym. 2010). Sekä nivelnesteestä että seerumista analysoituna CPII-pitoisuuden perusteella voi erottaa OA:n terveestä (Frisbie ym. 2008), ja nivelnesteeseen CPII-pitoisuus oli yhtenevä artroskopisen rustomuutospisteytyksen kanssa (Lettry ym. 2010). OA ja OCD nostavat seerumin CPII-pitoisuutta (Frisbie ym. 2008, Lettry ym. 2010), mutta OC ei (Nicholson ym. 2010, Lettry ym. 2010). Billinghamin ym. (2004) tutkimuksessa seerumin CPII-pitoisuus oli linjassa OC-muutosten vakavuuden kanssa yksivuotiailla, mutta ei viiden kuukauden ikäisillä, ja Jacksonin ym. (2015) mukaan CPII:n seerumipitoisuus ei ole toimiva sairaan ja terveen nivelen erottamiseen yksittäisillä hevosilla.

Hevosilla OC nostaa nivelnesteeseen CPII:C2C-pitoisuuksien suhdetta (de Grauw ym. 2011), ja 4,5 kuukauden ikäisenä mitattu seerumin CPII:C2C-suhde ennustaa 5,5 kuukauden iässä radiologisesti diagnosoitua OC:tä ja OC-muutoksen voimakkuutta. CPII:C2C-suhteella ei kuitenkaan ollut yhteyttä 11 kuukauden iässä diagnosoituun OC:hen (Donabedian ym. 2008). Iän myötä CPII:C2C-suhde laskee (de Grauw ym. 2011).

5.4.4 Tyypin I ja II kollageenin ristisidokselliset karboksyylipään päätepeptidit

Ristisidoksellinen karboksyylipään C-päätepeptidi CTX-II on peräisin tyypin II kollageenista, ja sen lisääntynyt esiintyminen viittaa käynnissä olevaan nivelruston hajotusprosessiin

(Nicholson ym. 2010). CTX-I on peräisin luussa esiintyvän tyypin I kollageenista, eikä sen avulla voi erottaa OA:a rasituksesta (Frisbie ym. 2008). CTX-II sen sijaan on toimiva analyytin rustovaurion havaitsemiseksi (Cleary ym. 2010). Hevosen ikä kuitenkin vaikuttaa sekä seerumin että nivelnesteen CTX-II -pitoisuuteen (Billinghurst ym. 2004, Nicholson ym. 2010), ja nivelnesteen ja seerumin CTX-II-pitoisuuksissa on myös nivelkohtaista vaihtelua (Nicholson ym. 2010). Rasitus laskee seerumin CTX-II-pitoisuutta. OC nostaa nivelnesteen ja laskee seerumin CTX-II-pitoisuutta, mutta pitoisuudet eivät olleet yhteydessä radiologisen tai artroskopisen luokituksen kanssa (Cleary ym. 2010). Jacksonin ym. (2015) mukaan seerumin CTX-II-pitoisuus laskee 2-4 kuukauden kuluttua nivelsairauden alusta, kun taas Bertuglian ym. (2016) mukaan OA-vaurion alussa nivelnesteen ja seerumin CTX-II-pitoisuudet ovat samat kuin terveillä, ja sairauden edetessä ne nousevat kahden vuoden kuluttua. Ma ym. (2016) tutkimuksessa hevosen nivelnesteen CTX-II-pitoisuus kuitenkin nousi jo ennen oireita.

5.4.5 Tyypin X kollageeni

OA:ssa tyypin X kollageenin muuttunut nivelnestepitoisuus voi liittyä rustosolujen liikakasvuun. Nivelruston vaurioalueilla rustosolut tuottavat tyypin X kollageenia tyypin II kollageenin sijaan (Von Der Mark ym. 1992). Myös Eerolan ym. (1998) hiirillä tehdyn tutkimuksen tulokset tukevat tätä oletusta. Hevosilla tyypin X kollageenia ei ole tutkittu.

5.5 Mikro- ja rengasrakenteiset RNA:t

Mikro- ja rengasrakenteiset RNA:t ovat ei-koodaavia RNA-molekyylejä. Ne säätelevät solujen aineenvaihduntaa, ja niiden pitoisuuksien muutokset kertovat muuttuneesta tasapainosta (Memzac ym. 2013, Lasda ja Parker 2014, Hollis ja Starkey 2018, Coutinho de Almeida ym. 2019). Mikro-RNA:t (miRNA) ovat lyhyitä kaksijuosteisia RNA-molekyylejä (Lee ym. 1993), jotka säätelevät proteiinisynteesiä (Bhaskaran ja Mohan 2014). miRNA:t säätelevät muun muassa sytokiinivastetta, apoptoosia ja proteaasien ilmentymistä ja voivat liittyä nivelrustovaurioon (Baek ym. 2018, Cao ym. 2018, Malemud ym. 2018). miRNA:t ovat melko uusi kohde nivelrustodiagnostiikan tutkimuksessa, mutta niitä pidetään lupaavina varhaisen OA:n ja OA:n ennusteen merkkimolekyyleinä (Endisha ym. 2018, Li HZ ym. 2018). Sekvensoinnin perusteella tiedetään hevosen rustossa olevan ainakin 609 eri säätelijä-miRNA:ta, joista 327 on yhteisiä muiden nisäkkäiden kanssa (Desjardin ym. 2014a).

Osa miRNA:ista on rustospesifisiä, kuten miRNA-140 (Miyaki ym. 2010). Hiirillä on löydetty 139 eri miRNA:ta, joiden pitoisuus eroaa vaurioituneessa ja terveessä nivelrustossa, ja hiiren ja

ihmisen OA:han liitettyjen miRNA-molekyyleillä on yhtäläisyyksiä (Kung ym. 2018). Hevosilla on tunnistettu 49 eri miRNA:ta, jotka ilmenevät nivelrustossa eri tavalla terveissä ja OC-nivelissä. Myös mekaaninen puristus muuttaa miRNA- ilmentymistä nivelrustossa (Desjardin ym. 2014a). Borgonio Cuadra ym. (2014) tunnistivat ihmisillä 12 eri miRNA:ta, joiden plasmapitoisuuden perusteella voidaan erottaa OA-potilas terveestä ja Ntoumou ym. (2017) tunnistivat 279 eri miRNA:ta, joiden seerumipitoisuus eroaa OA-potilailla ja terveillä. Ihmiselle onkin määritetty kolme erilaista nivelrikon diagnostiikassa toimivaa miRNA-seerumiprofiilia (Ntoumou ym. 2017), ja ihmisen nivelnesteestä voi arvioida OA-astetta ainakin miRNA-140-3p ja miRNA-140-5p pitoisuuksien perusteella (Yin ym. 2017).

Rengasrakenteiset RNAt (circRNA) ovat pieniä rengasmaisia RNA-molekyylejä. Ne voivat olla erityisen hyödyllisiä diagnostiikassa, koska ne ovat miRNA-molekyylejä stabiilimpia. Lisäksi ne ovat usein hyvin kudosspesifisiä (Memczak ym. 2013). Myös circRNA:t vaikuttavat proteiinisynteesiin (Li HZ ym. 2018, Memczak ym. 2013), minkä lisäksi ne voivat vaikuttaa mikroRNA:iden toimintaan ja välillisesti kiihdyttää nivelruston soluväliaineen hajotusta ja tulehdusreaktiota (Liu ym. 2016, Liu ym. 2017, Zhou ym. 2018). Ihmisen kokoverestä on pystytty eristämään ja tunnistamaan tuhansia circRNA:ita (Memczak ym. 2015), ja ihmisellä 104 circRNA:ta ilmenee eri tavalla vaurioituneessa ja terveessä nivelrustossa (Liu ym. 2017). Hiirellä nivelruston rustosolut ilmentävät OA:ssa 255 circRNA:ta eri tavalla kuin terveessä nivelessä, ja näistä mmu-circRNA-30365 ja mmu-circRNA-36866 poikkeavat erityisen selvästi (Zhou ym. 2018). Tutkimuksia circ-RNA-pitoisuuksista hevosilla ei löytynyt tähän katsaukseen.

Myös solujen vereen ja nivelnesteeseen vapauttamia säätely-RNA:ta sisältäviä eksosomeja voidaan eristää ja niiden sisältöä tutkia. Sisältö kuvaa patologisia prosesseja ja muokkaa kohdesolun geeni-ilmenemistä (Withrow ym. 2016). Eksosomit välittävät soluviestintää OA:ssakin, ja nivelnesteessä olevat eksosomit vaikuttavat vaurion etenemiseen (Kato ym. 2014). Siten solunulkoisissa nesteissä eksosomit ovat lupaava kohde niveldiagnostiikan kehittämisessä (Li Z ym. 2018).

6 POHDINTA

Nivelrustovaurioon liittyy nivelen aineenvaihdunnan muutoksia: molekyyli- ja proteiinitasot muuttuvat ja nivelrustosta irtoaa rakennekappaleita. Rustosolujen tuottamia proteiineja löytyy sekä alkuperäisessä muodossaan että muokattuina (katsauksessaan Sanches ym. 2017). On järkeenkäypää ajatella, että näitä muutoksia nivelnesteessä ja nivelen aineenvaihdunnan seurauksena myös veressä voisi hyödyntää nivelrustovaurion diagnosoimisessa. Lähtökohtaisesti mitä voimakkaammat muutokset nivelessä on, sitä enemmän nivelruston hajoamistuotteita vapautuu. Toisaalta ”end stage” -nivelessä nivelrustoa on jo hävinnyt niin paljon, ettei hajoamistuotteita enää vapaudu samassa määrin kuin aiemmin. Voi olla osuvampaa sanoa, että mitä voimakkaampi prosessi, sitä enemmän vapautuu merkkimolekyylejä. Esimerkiksi kroonisessa OA:ssa nivelnesteessä COMP-pitoisuus on laskenut (Skiöldebrand ym. 2017). COMP:ia voisi käyttää akuutin ja kroonisen OA:n erottamisessa, koska se erottaa akuutit kroonisista ja terveistä, vaikkei kroonisia terveistä.

Ennusteen ja hoidon kannalta on merkitystä, onko kyseessä pelkkä synoviitti vai jo nivelrustomuutokset, onko nivelruston rappeutuminen käynnissä tai voiko tilanne aktivoitua myöhemmin, ja kuinka nopeasti vaurio mahdollisesti etenee. Esimerkiksi ostotarkastuksen kannalta nivelruston arvioiminen voi olla ongelmallista: kliinisesti terveellä hevosella voi olla nivelrustomuutoksia, jotka eivät vielä oireile tai näy RTG:ssä (Lalam ym. 2007, Verwilghen ym. 2009). Nämä vauriot voivat olla eteneviä ja alkaa vaivata hevosta estäen sen suunnitellun käytön. Hevosen nivelruston tarkempaa arviota on tähän mennessä voitu tehdä lähinnä artroskopiolla, johon liittyy infektioriski ja yleisanestesiaan liittyvät riskit. Artroskopiakaan ei ole täysin luotettava nivelruston arvioimisessa, ja muille keinoille arvioida nivelrustoa olisi tarvetta. Radiofarmaseuttisilla menetelmillä voi tunnistaa pidemmälle edenneet muutokset ja paikantaa ongelman, mutta niilläkään ei pysty erottamaan nivelruston vaurioita ainakaan varhaisessa vaiheessa (Nakamura ym. 2007, Kubota ym. 2017).

TT:lla, MK:lla ja UÄ:llä voi olla mahdollista todeta synoviitti varhaisessa vaiheessa (katsauksessaan Yue ym. 2018). Nivelrustovaurion erottaminen sen sijaan ei ole niin varmaa. MK:lla ja TT:lla voi arvioida nivelrustoa joiltain osin, mutta molemmista menetelmistä on vaihtelevia tuloksia. MK:lla voi tarkastella nivelruston pintaa, rustonlaista luuta ja nivelruston kompositiota, mutta TT:lla näkee vain pinnan (Omoumi ym. 2009). Vaikka joidenkin tutkimusten mukaan ainakin MK soveltuu hyvin nivelrustovaurion arvioimiseen, liittyy menetelmään myös paljon virhelähteitä. Nivelruston arvioimista MK:lla ja TT:lla on myös

tutkittu vasta melko vähän. Varjoaineen käyttö lisää MK:n ja TT:n tarkkuutta etenkin nivelensisäisesti annosteltuna (Nelson ym. 2018), mutta siihen liittyy invasiivinen toimenpide. Kaikilla varjoaineilla nivelruston arvioiminen ei välttämättä onnistu (Bansal ym. 2011, Kulmala ym. 2013).

Osassa tutkimuksista todetaan UÄ:n olevan RTG:a luotettavampi tai yhtenevä artroskopian tai histologian kanssa (Martel ym. 2017 ja 2018), osassa taas, ettei UÄ:lla voi arvioida nivelrustoa (Nevalainen ym. 2018). Tämän kirjallisuuskatsauksen perusteella UÄ vaikuttaisi soveltuvan nivelen arvioimiseen kokonaisuutena, ja koska nivelsairauksissa on etenkin myöhemmissä vaiheissa muutoksia useissa rakenteissa, UÄ:lla voi pystyä diagnosoimaan OA:n nivelen kokonaisuutena perusteella (Podlipska ym. 2017 ja 2018). Nivelruston yksityiskohtaisempi arviointi UÄ:lla on kuitenkin rajallista (Nevalainen ym. 2018).

RTG:lla ei voi nähdä nivelrustoa. Nivelraon kapenemista voi pitää merkinä nivelrikosta, mutta toisaalta nivelruston ohentuessa nivelrako voi myös kasvaa. Joka tapauksessa radiologiset muutokset näkyvät vasta, kun nivelrustovaurio on edennyt pitkälle ja muutokset ulottuvat luuhun tai nivelrusto kalkkeutuu. Hoitomahdollisuudet ovat tällöin jo melko vähäisiä (Clegg 2018). Voisi ajatella, että radiologisesti nähtävät muutokset voivat aina viitata nivelrustovaurioon, mutta löydöksettömien röntgenkuvien informatiivisuus nivelruston osalta on hyvin rajallista. Radiologiassakin on kuitenkin paljon vaihtelua, eivätkä kaikki nähtävät muutokset välttämättä ole patologisia tai merkittäviä.

Kaiken kaikkiaan käytössä olevilla kuvantamismenetelmillä (RTG, TT, MK ja UÄ) voi kyetä ainakin välillisesti arvioimaan nivelrustoa edenneessä OA:ssa, mutta ne eivät ole tarpeeksi herkkiä varhaisten muutosten havaitsemiseen (Hadjab ym. 2018). Ne eivät myöskään kerro käynnissä olevasta prosessista: nivelen tila voi olla melko stabiili tai nopeastikin etenevä löydöksistä riippumatta.

Ainakin verinäytteen ja toisinaan myös nivelnestenäytteen otto voi olla helpompaa ja nopeampaa kuin kuvantaminen. Etenkin veren pitoisuuksiin perustuva diagnosointi olisi hyödyllistä, koska se ei vaadi niveleen kajoamista. Näytteiden kuljetusmahdollisuuksista ja saatavilla olevista laboratoriopalveluista riippuen merkkimolekyyleihin perustuva diagnostiikka voisi olla kuvantamismenetelmiä laajemmin toteutettavissa, sillä hevosilla ainakin edistyneet kuvantamismenetelmät ovat vaikeita ja kalliita toteuttaa. Kuvia täytyy myös

osata tulkita ja ottaa, jotta diagnosointi olisi luotettavaa: MK:ssa ja TT:ssa eri kuvausasetuksilla saadaan näkyviin eri asioita, ja eri painotuksilla, kuvausarvoilla sekä kuvaleikkeiden paksuudella voi olla paljonkin vaikutusta tuloksiin ja diagnoosin luotettavuuteen (Hontoir ym. 2104, Porter ym. 2016).

Tutkimuksissa on käytetty eri kuvauskäytäntöjä, mikä hankaloittaa tutkimusten vertailua. Tulevaisuudessa kuvien tulkintaan voidaan ehkä käyttää tietokoneohjelmia (Tiulpin ym. 2018), jolloin tulkinnan subjektiivisuus vähenisi, mutta kuten Bay-Jensen ym. (2018) katsauksessaan toteavat, non-invasiivisille ja kuvaaville biokemiallisille merkkimolekyyleille on kasvava tarve ihmislääketieteessäkin. Merkkimolekyyleistä on toivottu apua varhaisempaan ja tarkempaan niveldiagnostiikkaan, ja useita veren ja nivelnesteiden molekyylejä on tutkittu parempien diagnosointimenetelmien löytämiseksi. Etenkin ruston hajoamista kuvaavilla molekyyleillä on potentiaalia osoittaa OA aikaisemmassa vaiheessa kuin RTG:lla (Verwilghen ym. 2009, Verwilghen ym. 2011). Samoin OC:n diagnosoimiseksi on lupaavia nivelnesteiden muuttujia (Lavery ym. 2000, Semevolos ym. 2001, de Grauw ym. 2006a, deGrauw ym. 2006b), ja etenkin OCD:ssä merkkimolekyylit voivat olla hyödyllisiä varhaisessa diagnostiikassa (Verwilghen ym. 2009). Esimerkiksi seerumin kohonnut CPII:C2C-suhde kertoo jo piilevästä tai lähiaikoina kehittyvästä OC-prosessista (Donabedianin ym. (2008), joskin seerumin merkkimolekyyliden kyky erottaa OC:n aste vaihtelee (Billinghurst ym. 2004).

Merkkimolekyyleissä on ennusteen ja hoitovasteen arvioinnissa se etu, että ne voivat kertoa myös prosesseista sen hetkisten muutosten lisäksi. Niiden avulla voi arvioida, ovatko vallitsevana anaboliset vai kataboliset prosessit tai kuinka voimakas tulehdusvaste on. Näin voisi päätellä, onko tilanne nivelessä rauhoittumassa vai pahenemassa. Esimerkiksi CPII kertoo kollageenisynteesin olevan käynnissä (Lettry ym. 2010), CTXII, Coll2-1 ja C2C ilmaisevat tyyppin II kollageenin hajoamista (Nicholson ym. 2010, Verwilghen ym. 2011, Bertuglia ym. 2016) ja COMP ja aggregaation pilkkoutumistuotteet kertovat ei-kollageenisen soluväliaineen hajotuksesta (Misumi ym. 2006, Larsson ym. 2014). Ruston uusiutumiseen liittyvän CS846:n pitoisuus on vauriossa matalampi kuin normaalisti, mutta vaurion korjausprosessissa sen pitoisuus taas nousee (Ma ym. 2017). Samoin esimerkiksi CD-RAP pitoisuuden nousu voi kertoa käynnissä olevasta vaurion korjausprosessista (Berg ym. 2008).

Merkkimolekyylipitoisuuksien tulkinnassa tulee huomioida molekyylin alkuperä ja luonne. Epäsuorat merkkimolekyylit, kuten tulehdusvälittäjäaineet, voivat kertoa tulehdusprosessista,

mutta eivät varsinaisesti suoraan nivelrustosta. Koska nivelrusto reagoi herkästi nivelen häiriöihin, ja nivelrustovaurio ja synoviitti usein liittyvät toisiinsa, voi tulehdusvälittäjäaineiden noususta päätellä, että ainakin nivelrustovaurion riski on olemassa ja vaurioituminen todennäköisesti alkanut. Kuitenkin nivelessä kaikki vaikuttaa kaikkeen, ja rustosolut voivat reagoida myös muihin patologioihin nivelessä ilman nivelrustovauriota. Suorat merkkimolekyylit, jotka ovat peräisin nivelruston hajoamisesta tai suoraan hajottavat nivelrustoa, kertovat suoraan, että nivelrustossa on vauriota tai että sitä hajotetaan. MMP:t hajottavat nivelrustoa suoraan, joten myös niiden korkea määrä tai aktiivisuus indikoi suoraan nivelruston hajottamista (Van den Boom ym. 2005, Ma ym. 2017), samoin nivelruston vaurioituessa syntyvät kappaleet kuten Coll2-1 (Verwilghen ym. 2011). Suorat merkkimolekyylit voivat olla epäsuoria tarkempia diagnosoinnin kannalta, sillä niihin liittyy vähemmän tulkintaa, ja ruston hajoamista kuvaavat merkkimolekyylit onkin todettu lupaaviksi nivelrustovaurion tutkimisessa (Verwilghen ym. 2009).

Osa merkkimolekyyleistä, muun muassa Coll2-1, toimii kvantitatiivisesti eli niiden avulla voi arvioida vaurion tai sairauden astetta (Deberg ym. 2005, Verwilghen ym. 2011). Toiset ovat kvalitatiivisia eli yksinkertaistettuna ne kertovat, onko nivel sairas vai terve ottamatta kantaa mahdollisen sairauden tai vaurion asteeseen. Esimerkiksi IGF-1 on kvalitatiivinen merkkimolekyylit, jonka perusteella voi erottaa terveet ja RTG-muutoksia omaavat yksilöt toisistaan, mutta ei muutosten voimakkuutta (Verwilghen ym. 2009). Kvalitatiivisten kohdalla tulee haaste tulosten tulkintaan ja raja-arvojen valitsemiseen: mikä määrittellään terveeksi.

Hevosilla OA on erilainen eri nivelissä (Novakofski ym. 2015), ja voi olla tarpeen määrittää joka nivelelle omat viitearvot, mikä koskee ainakin C2C-pitoisuutta (Trumble ym. 2009). Merkkimolekyylin nivelneste- ja veripitoisuuksista on muutenkin vaihtelevia tuloksia, joihin voivat vaikuttaa nivelen lisäksi ainakin yksilölliset erot, ikä ja vaurion vaihe. Jos tutkittavien hevosten ikähajonta on suurta, kuten Trumblen ym. (2009) tutkimuksessa, ikäerot ovat voineet vaikuttaa tuloksiin. Esimerkiksi nivelnesteeseen MMP-1-aktiivisuuden vaikuttaa OA:n lisäksi yksilön kasvu ja invasiiviset toimenpiteet, ja myös varsojen arvot poikkeavat aikuisista (Brama ym. 2004). Ikä vaikuttaa Coll2-1-pitoisuuteen, mutta iällä ei kuitenkaan vaikuta olevan merkitystä Coll2-1NO₂-pitoisuuteen (Verwilghen ym. 2011). Yksilöiden välisen vaihtelun takia ainakin nivelnesteeseen CD-RAP-pitoisuuden hyödyntämiseksi pitäisi ehkä ottaa hevoselta näyte jo ennen vaurioitumista, jolloin tätä pitoisuutta voi myöhemmin verrata uuden näytteen

pitoisuuteen. Ei kuitenkaan olisi käytännöllistä eikä riskitöntä ottaa näytteitä terveiltä hevosilta mahdollisen tulevan ongelman varalle, ja koska nivelnestenäytteen otto on invasiivinen toimenpide, näytteenotto terveestä nivelestä olisi arveluttavaa.

Pitoisuuserot vaurion eri vaiheissa ovat hyödyllisiä, sillä ne mahdollistavat vaurion asteen arvioimisen. Tutkimusta vain tarvittaisiin enemmän ja kontrolloidummin, jotta saataisiin erotettua eriasteiset vauriot toisistaan. Vielä tarvitaan myös enemmän tietoa nivelrustomuutosten erottamisesta muista nivelen häiriöistä, sillä nivelruston vaurioituminen voi usein olla ratkaiseva tekijä ennusteen, hoidon ja elämänlaadun kannalta.

Merkkimolekyylien ja nivelrustovaurion yhteyden arvioimisessa onkin hankalaa se, että pitoisuuksia verrataan tutkimuksissa usein yleisesti nivelmuutoksiin, eikä välttämättä eritellä tarkemmin, liittyvätkö nämä muutokset nivelrustoon. OA:in ja OC:iin liittyy nivelrustovaurio, mutta nivelrustovaurio voi esiintyä yksinäänkin, ja juuri varhaisten ja lievien muutosten erottamiseen terveistä tarvitaan lisää keinoja. Tämän vuoksi tutkimusaineiston valitseminenkin voi olla ongelmallista: miten valita verrokkiryhmän terveet yksilöt, kun nivelruston arvioiminen on niin rajallista, etenkin kun isolla osalla hevosista voi olla piileviä muutoksia nivelrustossa. Useat merkkimolekyylit liittyvät myös normaaliin aineenvaihduntaan tai esimerkiksi stressiin (Berger ym. 2019), mikä hankaloittaa niiden pitoisuuksien tulkintaa.

Terveiden ryhmän valikoiminen voi osin vaikuttaa taustalla tuloksissa, joissa ei todeta selvää eroa sairaiden ja terveiden välillä, kuten Fullerin ym. tutkimuksessa (2001). Tutkimuksen verrokkiryhmät eivät olleetkaan kaikki terveitä, ja mahdollisesti osin tästä syystä ryhmien väliset erot GAG-pitoisuuksissa eivät olleet tilastollisesti merkitseviä. Bergin tutkimuksessa (2008) taas kaikille hevosille tehtiin ontumatutkimus, mutta niveliä ei tutkittu RTG:lla eikä hevosia tutkittu aivan systemaattisesti, sillä osalle tehtiin UÄ-tutkimus, osalle otettiin nivelnestenäyte ja joillekin tehtiin molemmat tutkimukset. Näin valikoitiin 28 oletetusti tervettä yksilöä. Trumbly ym. tutkimuksessa (2009) verrokkihevosia ei ilmeisesti kuvattu enää puolen vuoden harjoituskauden jälkeen, jolloin mahdolliset tuloksiin vaikuttaneet muutokset ovat voineet jäädä huomaamatta, mikä voisi selittää verrokkiryhmien yksittäiset korkeammat arvot. Virhelähteenä voi toimia myös se, jos verrokkivivelenä on käytetty eri niveltä tai eri-ikäisten hevosten niveliä, tai eri nivelistä kerättyjä näytteitä on käsitelty yhtenä ryhmänä. Esimerkiksi Bergin ym. tutkimuksessa (2008) tutkittavien hevosten ikä vaihteli 1-18-vuotiaan välillä. Yksi mahdollinen virhelähde on sekin, että usein testit on kehitetty muun lajin kuin hevosen

molekyylien tunnistamiseen. Tutkimusmenetelminä on pääasiassa käytetty vasta-ainetestejä, elektroforeesia, HPLC:tä, MS:ää ja histokemiaa.

Potentiaalisia merkkimolekyylejä tunnetaan, mutta systemaattinen tutkimus ei vielä riitä. Seurantatutkimusten vähyyden takia on vaikea arvioida, mitä merkkimolekyyli- ja proteiinitasot kertovat yksilön ennusteesta. Tulosten vaihdellessa merkkimolekyylejä ei vielä voi soveltaa käytännön diagnosointiin, vaikka joitain raja-arvojakin on määritetty. Tiedetyt merkkimolekyylit, kuten CHI3L1 ja tyypin X kollageeni, vaikuttavat lupaavilta nivelrustosta mitattuina, mutta jotta niitä voisi käyttää kliinisessä diagnostiikassa, niitä tulisi tutkia elimistön solunulkoisista nesteistä (nivelesteistä, verestä tai virtsasta).

Skiöldebrand ym. toteavat (2017), etteivät merkkimolekyylit ole riittävän herkkiä yksilötasolla. Heidän näkemyksensä on, ettei nivelrikon eri asteiden tunnistamiseen ole saatavilla toimivia merkkimolekyylianalyysijä. Myös McIlwright ym. (2018) arvioivat, että nivelsairauden varhaisesta vaiheesta täsmällisesti kertovia merkkimolekyylejä ei ole käytettävissä, joistain lupaavista tuloksista huolimatta. Yksittäisten merkkimolekyylien analysoinnin sijaan voisi olla toimivampaa käyttää merkkimolekyylipaneelia. Niiden käyttöä on kuitenkin tutkittu vasta melko vähän, eikä ainakaan plasman IGF-1-, MPO, Coll2-1- ja Coll2-1NO₂-paneeli kyennyt ennustamaan RTG-luokitusta (Verwilghen ym. 2009).

Kun merkkimolekyyleihin liittyvistä lukuisista vuorovaikutusverkostoista ei vielä tiedetä tarpeeksi, uudet kuvantamis- ja ääniaaltomenetelmät tuntuvat nousevan pinnalle nivelitutkimuksessa. Etenkin OCT ja AE, joka alustavan kenttäkokeilun perusteella voisi toimia hevosilla (Oulun Hevosklinikka, ell Ritva Kaikkonen, henkilökohtainen tieto), vaikuttavat lupaavilta nivelruston arvioimiseen. Hevospraktiikkaan uudet menetelmät eivät luultavasti tule aivan lähivuosina, sillä kehitys vie aikansa. Spektrometrinen menetelmien haittana on nivelrustoon kajoaminen, vaikka rustonäytteen tutkimus tuottaakin tietoa rakenteesta.

Diagnoosimenetelmiä valittaessa on huomioitava, kuinka tarkkaa tietoa tarvitaan: millä tiedolla on vaikutusta hoitoon, ennusteeseen tai ostopäätökseen. Nivelruston muutos voi olla sivulöydös, jos se ei tule etenemään merkittävästi eikä hevonen oireile sitä. Toisaalta taas pienet oireettomatkin muutokset nivelrustossa voivat olla merkittäviä ennusteen ja tulevaisuuden kannalta. Diagnoosimenetelmästä riippumatta löydöksiä on tarkasteltava suhteessa hevosen oireisiin, ikään ja käyttötarkoitukseen.

7 JOHTOPÄÄTÖKSIÄ

Uusille nivelrustovaurion tarkemmin ja varhaisemmassa vaiheessa tunnistaville diagnostisille menetelmille on tarvetta. Pidemmälle edenneen nivelsairauden toteamiseen on käytössä kohtalaisen runsaastikin työkaluja, mutta hevosen nivelrustovaurion arvioimiseen niitä on rajallisemmin. Nivelruston tutkimiseen ja varhaisen muutoksen havaitsemiseen on uusia, alustavien kenttäkokeiden perusteella toimivia kuvantamismenetelmiä (AE ja MK) ja lupaavia merkkimolekyylejä, joita on koottu taulukkoon 1. Useiden muidenkin merkkimolekyylin pitoisuus tai aktiivisuus muuttuu nivelsairauksien yhteydessä, mutta niiden perusteella ei voida välttämättä erottaa nivelrustovauriota nivelen muista häiriöistä kuten synoviitista.

Merkkimolekyylit eivät ole vielä sovellettavissa käytännössä, sillä niille ei ole pystytty luotettavasti asettamaan raja-arvoja. Vielä tarvitaan systemaattista tutkimusta ja vasta-aineiden tuottamista tunnistamaan uudisrakenteita sekä tuotekehitystyötä testien valmistamiseksi ennen kuin praktiikkakäyttöön saadaan tieteellisesti todennetut herkät diagnosointimenetelmät nivelruston arvioimiseksi. Testien kehittämiseksi tarvittavia vasta-aineita voitaisiin seuraavaksi seuloa laajoista synteettisistä vasta-ainekirjastoista käyttämällä keruuvälineenä tunnettuja uudisrakenteiden aminohapposisältöjä. Yksittäisten merkkimolekyylin tutkimisen lisäksi olisi hyödyllistä kehittää merkkimolekyylipaneeleita nivelruston arvioimiseksi.

Molekyylipaneelien ohella etenkin uudisrakenteet, eksosomit ja mikro- ja circ-RNAt sekä kuvantamismenetelmistä AE ja OCT vaikuttavat kiinnostavilta varhaistenkin nivelrustomuutosten diagnostiikan kannalta. Luultavasti kannettavat kuvantamislaitteet ja uudet kuvantamismenetelmät tulevat yleistymään. Eri menetelmien sopivilla yhdistelmillä päästäisiin todennäköisesti parhaisiin tuloksiin: esimerkiksi RTG:ta voisi käyttää merkkimolekyylin perusteella tehtyjen päätelmien tukena (Billinghurst ym. 2004). Toisaalta mitä enemmän on muuttujia, sitä vaikeampi on tulkita havaintoja.

Eläinlääkäriin on tärkeä tiedostaa, että nivelrustossa voi olla vaurio, vaikkei nivel oireilisi kliinisesti eikä RTG- tai UÄ-muutoksia näkyisi. Kehittyneemmätkään kuvantamismenetelmät (MK ja TT) eivät välttämättä tunnista olemassa olevaa, saati alkavaa nivelrustovauriota, eivätkä kerro käynnissä olevista prosesseista.

Taulukko 1. Lupaavia merkkimolekyylejä hevosen nivelrustovaurion diagnosoimiseen.
Taulukkoon on koottuna katsauksen perusteella kiinnostavimmat merkkimolekyylit.

Merkkimolekyyli	Näyte	S/ ES	KL/ KN	nivelrustovaurion erottaminen	muuta
MMP:t	nn	S	KN	OC ei vaikuta. OA ja nivelrustovaurio nostavat	erityisesti MMP-1,-9 ja -13. ikä vaikuttaa
osteokalsiini	nn, se	S	KL	OA vs. terve	
CHI3L		ES		OA vs terve	tutkittu ihmisillä ja rotilla
HMGB-1		ES	KL	terve vs. sairas nivel, varhaisessakin vaiheessa	
IL-1	nn	ES	KN	varhainen OA	erityisesti IL-1 β
IL-6	nn	ES	KN	nousee vasta vakavissa	synoviittikin nostaa
SGPTE	nn	S		varhainenkin rustovaurio	COMP:n uudisrakenne
HA-molekyylipaino	nn	S		nivelrustovauriossa kevyiden määrä nousee	ei tutkittu hevosilla. erityisesti kevyiden ja raskaiden suhde
KS	nn	S	KL	OA ja nivelrustovaurio vs. terve	
CS	nn	S	KV	varhainen OA ja OC	CS848(nn, se), OA vs. terve
ARGS	nn, se, vi	S	KL	OA vs. terve	aggrekaanin uudisrakenne
lubriini	nn	S	KL	OA vs. terve	O-glykosylaatioaste varhainen markkeri
galektiinit	nn	S	KL	OA ja OC vs. terve	erityisesti Gal3 ja Gal1
Leusiinirunsaiden PG:ien uudisrakenteet	nn	S		potentiaalisia varhaisen vaurion diagnosoimisessa	vielä tutkimusvaiheessa
Coll2-1	nn, se	S	KN	tunnistaa OA:n ja nivelrustovaurion	ikä vaikuttaa. C2C täydentää
CPII	nn	S	KN	erottaa nivelrustovaurion	rasitus ja nivel vaikuttavat
CTX-II	nn	S	KV	OA vs. terve	ikä, nivel ja vaihe vaikuttavat, tulkinta vaikeaa
tyypin X kollageeni					potentiaalinen, ei vielä tutkittu hevosilla
säätely-RNA:t	nn, se	ES		potentiaalisia varhaisen vaurion diagnosoimisessa	vapaat tai eksosomeissa, vielä tutkimusvaiheessa

Taulukossa käytetyt lyhenteet:

nn=nivelneste, se=seerumi, vi=virtsa, S=suora, ES=epäsuora, KL=kvalitatiivinen, KN=kvantitatiivinen

8 KIITOKSET

Haluan kiittää ohjaajaani Nina Lehmosta ja työnjohtajaani Marja Raekalliota mahdollisuudesta mielenkiintoisen ja tärkeän aiheen työstämiseen.

9 LÄHDELUETTELO

- Ackermann MR. Inflammation and Healing. Teoksessa: Zachary JF, McGavin MD (toim.) Pathologic Basis of Veterinary Disease. 6. p. Elsevier. Kiina 2017. 84–85.
- Adrian AM, Barrett MF, Werypy NM, Kawcak CE, Chapman PL, Goodrich LR. A comparison of arthroscopy to ultrasonography for identification of pathology of the equine stifle. *Equine Vet J* 2017, 49:314–321.
- Andereya S, Streich N, Schmidt-Rohlfing B, Mumme T, Müller-Rath R, Schneider U. Comparison of modern marker proteins in serum and synovial fluid in patients with advanced osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2006, 26:432–438.
- Baccarin RYA, Rasera L, Machado TSL, Michelacci YM. Relevance of synovial fluid chondroitin sulphate as a biomarker to monitor polo pony joints. *Can J Vet Res* 2014, 78:50–60.
- Baek D, Lee KM, Park KW, Suh JW, Choi SM, Park KH, Lee JW, Kim SH. Inhibition of miR-449a promotes cartilage regeneration and prevents progression of osteoarthritis in *in vivo* rat models. *Mol Ther Nucleic Acids* 2018, 7:322–333.
- Balazs EA, Watson D, Duff IF, Roseman S. Hyaluronic acid in synovial fluid. I. Molecular parameters of hyaluronic acid in normal and arthritis human fluids. *Arthritis Rheum* 1967, 10:357–376.
- Band PA, Heeter J, Wisniewski H-G, Liublinska V, Pattanayak CW. Hyaluronan molecular weight distribution is associated with the risk of knee osteoarthritis progression. *Osteoarthritis Cartilage* 2015, 23:70–76.
- Bansal PH, Joshi NS, Entezari V, Grinstaff MW, Snyder BD. Contrast enhanced computed tomography can predict the glycosaminoglycan content and biomechanical properties of articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2010, 18:184–191.
- Bansal PN, Joshi NS, Entezari V, Malone BC, Stewart RC, Snyder BD, Grinstaff MW. Cationic contrast agents improve quantification of glycosaminoglycan (GAG) content by contrast enhanced CT imaging of cartilage. *J Orthop Res* 2011, 29:704–709.
- Bay-Jensen AC, Thudium CS, Mobasher A. Development and use of biochemical markers in osteoarthritis: current update. *Curr Opin Rheumatol* 2018, 30:121–128.
- Berg LC, Lenz J, Kjelgaard-Hansen M, Thomsen PD, Jacobsen S. Cartilage-derived retinoic acid-sensitive protein in equine synovial fluid from healthy and diseased joints. *Equine Vet J* 2008, 40:553–557.
- Berger JM, Singh P, Khimian L, Morgan DA, Chowdhury S, Arteaga-Solis E, Horvath TL, Domingos AI, Marsland AL, Yadav VK, Rahmouni K, Gao XB, Karsenty G. Mediation of the acute stress response by the skeleton. *Cell Metab* 2019, 30:890-902.
- Bertuglia A, Pagliara E, Grego E, Ricci A, Brkljaca-Bottegato N. Pro-inflammatory cytokines and structural biomarkers are effective to categorize osteoarthritis phenotype and progression in Standardbred racehorses over five years of racing career. *BMC Vet Res* 2016, 12 (246):1–15.
- Bhaskaran M, Mohan. M. MicroRNAs: History, Biogenesis, and Their Evolving Role in Animal Development and Disease. *Vet Pathol* 2014, 51:759–774.
- Billinghurst RC, Brama PAJ, Van Weeren PR, Knowlton MS, Mc Ilwraith CW. Evaluation of serum concentrations of biomarkers of skeletal metabolism and results of radiography as indicators of severity of osteochondrosis in foals. *Am J Vet Res* 2004, 65:143–150.
- Bizet A.A., Liu K., Tran-Khanh N., Saksena A., Vorstenbosch J., Finnson K.W. The TGF-beta co-receptor, CD109, promotes internalization and degradation of TGF-beta receptors. *Biochim Biophys Acta* 2011, 1813:742–753.
- Blanco FJ, Lotz M. IL-1-induced nitric oxide inhibits chondrocyte proliferation via PGE2. *Exp Cell Res* 1995, 218:319–325.

- Borgonio Cuadra VM, González-Huerta NC, Romero-Córdoba S, Hidalgo-Miranda A, Miranda-Duarte A. Altered expression of circulating microRNA in plasma of patients with primary osteoarthritis and in silico analysis of their pathways. *PLoS One* 2014, 9:1–10.
- Bourzac, C, Alexander K, Rossier Y, LAverty S. Comparison of radiography and ultrasonography for the diagnosis of osteochondritis dissecans in the equine femoropatellar joint. *Equine Vet J* 2009, 41:685–692.
- Brama PAJ, Van den Boom R, De Groot J, Kiers GH, Van Weeren PR. Collagenase-1 (MMP-1) activity in equine synovial fluid: influence of age, joint pathology, exercise and repeated arthrocentesis. *Equine Vet J* 2004, 36:34–40.
- Brown MP, Trumble TN, Merritt KA. High-mobility group box chromosomal protein 1 as a potential inflammatory biomarker of joint injury in thoroughbreds. *Am J Vet Res* 2009, 70:1230–1235.
- Butler J, Colles C, Dyson S, Kold S, Poulos P. General Principle. Teoksessa: Butler J, Colles C, Dyson S, Kold S, Poulos P (toim.) *Clinical Radiology of the Horse*. 4. p. Blackwell Publishing Professional, Iowa, USA 2017. 1–40.
- Cao J, Han X, Qi X, Jin X, Li X. miR-204-5p inhibits the occurrence and development of osteoarthritis by targeting Runx2. *Int J Mol Med* 2018, 42:2560–2568.
- Carlson CS, Weisbrode SE. Bone, Joints, Tendons, and Ligaments. Teoksessa: Zachary JF, McGavin MD (toim.) *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 6. p. Elsevier, Kiina 2017. 953–1008.
- Cleary OB, Trumble TN, Merritt KA, Brown MP. Effect of exercise and osteochondral injury on synovial fluid and serum concentrations of carboxy-terminal telopeptide fragments of type II collagen in racehorses. *Am J Vet Res* 2010, 71:33–40.
- Clegg P. Clinical insights: Recent developments in equine articular disease (2016–2018). *Equine Vet J* 2018, 50:705–707.
- Clegg PD, Coughlan AR, Riggs CM, Carter SD. Matrix metalloproteinases 2 and 9 in equine synovial fluids. *Equine Vet J* 1997, 29:343–348.
- Coutinho de Almeida R, Ramos YFM, Mahfouz A, den Hollander W, Lakenberg N, Houtman E, van Hoolwerff M, Suchiman HED, Rodríguez Ruiz A, Slagboom PE, Mei H, Kielbasa SM, Nelissen RGHH, Reinders M, Meulenbelt I. RNA sequencing data integration reveals an miRNA interactome of osteoarthritis cartilage. *Ann Rheum Dis*. 2019, 78:270–277.
- Couroucé-Malblanc A, Leleu C, Bouchilloux M, Geffroy O. Abnormal radiographic findings in 865 French standardbred trotters and their relationship to racing performance. *Equine Vet J Suppl* 2006,36:417–422.
- De Grauw JC, van de Lest CHA, van Weeren PR, Brommer H, Brama PAJ. Arthrogenic lameness of the fetlock: synovial fluid markers of inflammation and cartilage turnover in relation to clinical joint pain. *Equine Vet J* 2006a, 38:305–311.
- De Grauw JC, Brama PA, Wiemer P, Brommer H, Van de Lest CH, Van Weeren PR. Cartilage-derived biomarkers and lipid mediators of inflammation in horses with osteochondritis dissecans of the distal intermediate ridge of the tibia. *Am J Vet Res* 2006b, 67:1156–1162.
- De Grauw JC, van de Lest CHA, van Weeren PR. Inflammatory mediators and cartilage biomarkers in synovial fluid after single inflammatory insult: a longitudinal experimental study. *Arthritis Res Ther* 2009, 11:1–8.
- De Grauw, Heinola T, van Weeren R, Kiviranta I, Kontinen YT. Rapid release of high mobility group box protein-1 (HMGB-1) in transient arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2010, 28:292–293.
- De Grauw JC, Donabédian M, van de Lest CHA, Perona G, Robert C, Lepage O, Martin-Rosset W, van Weeren PR. Assessment of synovial fluid biomarkers in healthy foals and in foals with tarsocrural osteochondrosis. *Vet J* 2011, 190:390–395.

- Deberg M, Labasse A, Christgau S, Cloos P, Henriksen DB, Chapelle J-P, Zegels B, Reginster J-Y, Henrotin Y. New serum biochemical markers (Coll 2-1 and Coll 2-1 NO₂) for studying oxidative-related type II collagen network degradation in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2005, 13:258–265.
- Desjardin C, Vaiman A, Mata X, Legendre R, Laubier J, Kennedy SP, Laloe D, Barrey E, Jacques C, Cribiu EP, Schibler L. Next-generation sequencing identifies equine cartilage and subchondral bone miRNAs and suggests their involvement in osteochondrosis physiopathology. *BMC Genomics* 2014a, 15:798–808.
- Desjardin C, Riviere J, Vaiman A, Morgenthaler C, Diribarne M, Zivy M, Robert C, LeMoyec L, Wimmel L, Lepage O, Jacques C, Cribiu E, Schibler L. Omics technologies provide new insights into the molecular physiopathology of equine osteochondrosis. *BMC Genomics* 2014b, 15:947–958.
- Dietz UH, Sandell LJ. Cloning of a retinoic acid-sensitive mRNA expressed in cartilage and during chondrogenesis. *J Biol Chem*. 1996, 271:3311–3316.
- Di Rosa M, Szychlinska MA, Tibullo D, Malaguarnera L, Musumeci G. Expression of CHI3L1 and CHIT1 in osteoarthritic rat cartilage model. A morphological study. *Eur J Histochem* 2014, 58:2423–2431.
- Donabedian M, Weeren PR, Perona G, Fleurance G, Robert C, Leger S, Bergero D, Lepage O, Martin-Rosset, W. Early changes in biomarkers of skeletal metabolism and their association to the occurrence of osteochondrosis (OC) in the horse. *Equine Vet J* 2008, 40:253–259.
- Duan X, Wu J, Sift B, Brett TB. Texture analysis of the 3D collagen network and automatic classification of the physiology articular cartilage. *Comput Methods Biomech Biomed Engin*. 2015, 18:931–943.
- Dymock DC, Brown MP, Merritt KA, Trumble TN. Concentrations of stromal cell-derived factor-1 in serum, plasma, and synovial fluid of horses with osteochondral injury. *Am J Vet Res* 2014, 75:722–730.
- Easley JT, Brokken MT, Zubrod CJ, Morton AJ, Garret KS, Holmes SP. Magnetic resonance imaging findings in horses with septic arthritis. *Vet Radiol Ultrasoun* 2011, 52:402–408.
- Endisha H, Rockel J, Jurisica I, Kapoor M. The complex landscape of microRNAs in articular cartilage: biology, pathology, and therapeutic targets. *JCI Insight* 2018, 3:1–16.
- Flowers SA, Zieba A, Örnros J, Jin C, Rolfson O, Björkman LI, Eisler T, Kalamajski S, Kamali-Moghaddam M, Karlsson NG. Lubricin binds cartilage proteins, cartilage oligomeric matrix protein, fibronectin and collagen II at the cartilage surface. *Sci Rep* 2017, 7:1–11.
- Fontaine P, Blond L, Alexander K, Beauchamp G, Richard H, Laverty S. Computed tomography and magnetic resonance imaging in the study of joint development in the equine pelvic limb. *Vet J* 2013, 197:103–111.
- Frisbie DD, Al-Sobayil F, Billingham RC, Kawcak CE, Mc Ilwraith CW. Changes in synovial fluid and serum biomarkers with exercise and early osteoarthritis in horses. *Osteoarthritis Cartilage* 2008, 16:1196–1204.
- Frisbie DD, McIlwraith, DeGrauw JC. Synovial Fluid and Serum Biomarkers. Teoksessa: McIlwraith CW, Frisbie D, Kawcak R, Van Weeren R (toim.) *Joint disease in the horse*. 2. p. Saunders, Philadelphia, USA 2016. 179–191.
- Fuller CJ, Barr AR, Sharif M, Dieppe PA. Cross-sectional comparison of synovial fluid biochemical markers in equine osteoarthritis and the correlation of these markers with articular cartilage damage. *Osteoarthritis Cartilage* 2001, 9:49–55.
- Gangl M, Serteyn D, Lejeune JP, Schneider N, Grulke S, Peters F, Vila T, Deby-Dupont G, Deberg M, Henrotin Y. A type II-collagen derived peptide and its nitrated form as new markers of inflammation and cartilage degradation in equine osteochondral lesions. *Res Vet Sci* 2007, 82:68–75.
- Geor R, Hope E, Lauper L, Piela S, Klassen J, King V, Murphy M. Effect of glucocorticoids on serum osteocalcin concentration in horses. *Am J Vet Res* 1995, 56:1201–1205.

- Goldring SR, Goldring MB. Biology of the normal joint. Teoksessa: Firestein GS, Budd RC, Gabriel SE, McInnes IB, O'Dell JR (toim.) Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology. 10.p. Elsevier Inc, Philadelphia, USA 2017. 1–17
- Goldring MB, Otero M, Plumb DA, Dragomir C, Favero M, El HK, Hashimoto K, Roach HI, Olivetto E, Borzi RM, Marcu KB. Roles of inflammatory and anabolic cytokines in cartilage metabolism: signals and multiple effectors converge upon MMP-13 regulation in osteoarthritis. *Eur Cell Mater* 2011, 21:202–220
- Hadjab I, Sim S, Karhula SS, Kauppinen S, Garon M, Quenneville E, Lavigne P, Lehenkari PP, Saarakkala S, Buschmann MD. Electromechanical properties of human osteoarthritic and asymptomatic articular cartilage are sensitive and early detectors of degeneration. *Osteoarthritis Cartilage* 2018, 26:405–413.
- Halliday DA, McNeil JD, W H Betts WH, R Scicchitano R. The substance P fragment SP-(7-11) increases prostaglandin E2, intracellular Ca²⁺ and collagenase production in bovine articular chondrocytes. *Biochem J* 1993, 292:57–62.
- Hamada T, Torikai M, Kuwazuru A. Extracellular high mobility group box chromosomal protein 1 is a coupling factor for hypoxia and inflammation in arthritis. *Arthritis Rheum* 2008, 58:2675–2685.
- Hashimoto S, Ochs RL, Komiya S, Lotz M. Linkage of chondrocyte apoptosis and cartilage degradation in human osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1998, 41:1632–1638.
- Heathfield TF, Onnerfjord P, Dahlberg L, Heinegård D. Cleavage of fibromodulin in cartilage explants involves removal of the N-terminal tyrosine sulfate-rich region by proteolysis at a site that is sensitive to matrix metalloproteinase-13. *J Biol Chem* 2004, 279:6286–6295.
- Hollander AP, Heathfield TF, Webber C, Iwata Y, Bourne R, Rorabeck C, Poole AR. Increased damage to type II collagen in osteoarthritic articular cartilage detected by a new immunoassay. *J Clin Invest* 1994, 93:1722–1732.
- Hollis AR, Starkey MP. MicroRNAs in equine veterinary science. *Equine Vet J* 2018, 50:721–726.
- Hontoir F, Nisolle J-F, Meurisse H, Simon V, Tallier M, Vanderstricht R, Antoine N, Piret J, Clegg P, Vandeweerdt J-M. A comparison of 3-T magnetic resonance imaging and computed tomography arthrography to identify structural cartilage defects of the fetlock joint in the horse. *Vet J* 2014, 199:115–122.
- Hontoir F, Clegg P, Nisolle J-F, Tew S, Vandeweerdt J-M. Magnetic resonance compositional imaging of articular cartilage: What can we expect in veterinary medicine? *Vet J* 2015, 205:11–20.
- Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, Hee MR, Flotte T, Gregory K, Puliafito CA, Fujimoto JG. Optical Coherence Tomography. *Science*. 1991, 254:1178–1181.
- Imai K, Hiramatsu A, Fukushima D, Pierschbacher MD, Okada Y. Degradation of decorin by matrix metalloproteinases: identification of the cleavage sites, kinetic analyses and transforming growth factor-beta 1 release. *Biochem J* 1997, 322:809–814.
- Jahr H, Brill N, Nebelung S. Detecting early stage osteoarthritis by optical coherence tomography. *Biomarkers* 2015, 20:590–596.
- Jackson BF, Reed SR, Price JS, Verheyen KL. Relationship between serum biomarkers of cartilage and bone metabolism and joint injury in young Thoroughbred racehorse in training. *Am J Vet Res* 2015, 76:679–687.
- Janusz MJ, Little CB, King LE, Hookfin EB, Brown KK, Heitmeyer SA, Caterson B, Poole AR, Taiwo YO. Detection of aggrecanase- and MMP generated catabolic neoepitopes in the rat iodoacetate model of cartilage degeneration. *Osteoarthritis Cartilage* 2004, 12:720–728.
- Jouglin M, Robert C, Valette J-P, Gavard F, Quintin-Colonna F, Denoix J-M. Metalloproteinases and tumor necrosis factor-alpha activities in synovial fluids of horses: correlation with articular cartilage alterations. *Vet Res* 2000, 31:507–515.

- Kamm JL, Nixon AJ, Witte TH. Cytokine and catabolic enzyme expression in synovium, synovial fluid and articular cartilage of naturally osteoarthritic equine carpi. *Equine Vet J* 2010, 42:693–699.
- Kapur RA. Acoustic emission in orthopaedics: A state of the art. Review. *J Biomech* 2016, 49:4065–4072.
- Kaur H, Halliwell B. Evidence for nitric oxide-mediated oxidative damage in chronic inflammation. Nitrotyrosine in serum and synovial fluid from rheumatoid patients. *FEBS Lett* 1994, 350:9–12.
- Kato T, Miyaki S, Ishitobi H, Nakamura Y, Nakasa T, Lotz MK, Ochi M. Exosomes from IL-1 β stimulated synovial fibroblasts induce osteoarthritic changes in articular chondrocytes. *Arthritis Res Ther* 2014, 16:R163: 1–12.
- Kawcak EC. Biomechanics in joints. Teoksessa: McIlwraith CW, Frisbie D, Kawcak R, Van Weeren R (toim.) *Joint disease in the horse*. 2. p. Saunders, Philadelphia, USA. 2016a. 25–32.
- Kawcak EC. Pathologic Manifestations of Joint Disease. Teoksessa: McIlwraith CW, Frisbie D, Kawcak R, Van Weeren R (toim.) *Joint disease in the horse*. 2. p. Saunders, Philadelphia, USA 2016b. 49–56.
- Kim DY, Taylor HW, Moore RM, Paulsen DB, Cho DY. Articular chondrocyte apoptosis in equine osteoarthritis. *Vet J* 2003, 166:52–57.
- King JN, Zubrod CJ, Schneider RK, Sampson SN, Roberts G. MRI findings in 232 horses with lameness localized to the metacarpo(tarso)phalangeal region and without a radiographic diagnosis. *Vet Radiol Ultrasound* 2013, 54:36–47.
- Kokkola R, Sundberg E, Ulfgren AK, Palmblad K, Li J, Wang H, Ulloa L, Yang H, Yan XJ, Furie R, Chiorazzi N, Tracey KJ, Andersson U, Harris HE. High mobility group box chromosomal protein 1: a novel proinflammatory mediator in synovitis- *Arthritis Rheum* 2002, 46:2598–2603.
- Kulmala KAM, Karjalainen HM, Kokkonen HT, Tiitu V, Kovanen V, Lammi MJ, Jurvelin JS, Korhonen RK, Töyräs J. Diffusion of ionic and non-ionic contrast agents in articular cartilage with increased cross-linking—contribution of steric and electrostatic effects. *Med Eng Phys* 2013, 35:1415–1420.
- Kung LHW, Ravi V, Rowley L, Angelucci C, Fosang AJ, Bell KM, Little CB, Bateman JF. Cartilage microRNA dysregulation during the onset and progression of mouse osteoarthritis is independent of aggrecanolytic and overlaps with candidates from end-stage human disease. *Arthritis Rheumatol* 2018, 70:383–395.
- Lalam RK, Cassar-Pullicino VN, Tins BJ. Magnetic resonance imaging of appendicular musculoskeletal infection. *Top Magn Reson Imaging* 2007, 18:177–191.
- Larsson S, Lohmander LS, Struglics A. An ARGS-aggrecan assay for analysis in blood and synovial fluid. *Osteoarthritis Cartilage* 2014, 22:242–249.
- Lasda E, Parker R. Circular RNAs diversity of form and function. *RNA* 2014, 20:1829–1842.
- Laverty S, O' Kouneff S, Ionescu M, Reiner A, Pidoux I, Webber C, Rossier Y, Billingham RC, Poole AR. Excessive degradation of type II collagen in articular cartilage in equine osteochondrosis. *J Orthop Res* 2002, 20:1282–1289.
- Laverty S, Girard C. Pathogenesis of epiphyseal osteochondrosis. *Vet J* 2013, 197:3–12.
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993, 75:843–854.
- Lecocq M, Girard CA, Fogarty U, Beauchamp G, Richard H, Laverty S. Cartilage matrix changes in the developing epiphysis: Early events on the pathway to equine osteochondrosis. *Equine Vet J* 2008, 40:442–454.
- Lejeune JP, Franck T, Gangl M, Schneider N, Michaux C, Deby-Dupont G, Serteyn D. Plasma concentration of insulin-like growth factor I (IGF-I) in growing Ardenner horses suffering from juvenile digital degenerative osteoarthropathy. *Vet Res Commun* 2007, 31:185–195.

- Lepage OM, Marcoux M, Tremblay A. Serum osteocalcin or bone Gla-protein, a biochemical marker for bone metabolism in horses: differences in serum levels with age. *Can J Vet Res* 1990, 54:223–226.
- Lettry V, Sumie Y, Mitsuda K, Tagami M, Hosoya K, Takagi S, Okumura M. Divergent diagnosis from arthroscopic findings and identification of CPII and C2C for detection of cartilage degradation in horses. *Jpn J Vet Res* 2010, 57:197–206.
- Ley C, Ekman S, Elmen A, Nilsson G, Eloranta M-L. Interleukin-6 and Tumour Necrosis Factor in synovial fluid from horses with carpal joint pathology. *J Vet Med* 2007, 54:346–351.
- Ley C, Ekman S, Roneus B, Eloranta M-L. Interleukin-6 and high mobility group box protein-1 in synovial membranes and osteochondral fragments in equine osteoarthritis. *Res Vet Sci* 2009, 86:490–497.
- Li H, Wang D, Yuan Y, Min J. New insights on the MMP-13 regulatory network in the pathogenesis of early osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2017, 19:1–12.
- Li HZ, Lin Z, Xu XH, Lin N, Lu HD. The potential roles of circRNAs in osteoarthritis: A coming journey to find a treasure. *Biosci Rep* 2018, 38: 1–12.
- Li Z, Wang Y, Xiao K, Xiang S, Li Z, Weng X. Emerging Role of Exosomes in the Joint Diseases. *Cell Physiol Biochem* 2018, 47:2008–2017.
- Liebich H-G, Forstenpointner G, Perez W, König HE. Einführung und allgemeine anatomie. Teoksessa: König ja Lieblich (toim.) Anatomie der Haussäugetiere. Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis. 6p. Schattauer GmbH, Stuttgart, Germany 2015. 8–22.
- Liu Q, Zhang X, Hu X, Dai L, Fu X, Zhang J, Ao Y. Circular RNA related to the chondrocyte ECM regulates MMP13 expression by functioning as a miR-136 'sponge' in human cartilage degradation. *Sci Rep* 2016, 6:1–11.
- Liu Q, Zhang X, Hu X, Yuan L, Cheng J, Jiang Y, Ao Y. Emerging roles of circRNA related to the mechanical stress in human cartilage degradation of osteoarthritis. *Mol Ther Nucleic Acids* 2017, 16:223–230.
- Ma TW, Li Y, Wang GY, Li XR, Jiang RL, Song XP, Zhang ZH, Bai H, Li X, Gao L. Changes in synovial fluid biomarkers after experimental equine osteoarthritis. *J Vet Res* 2017, 61:503–508.
- Machado TSL, Correia Da Silva LCL, Baccarin RYA, Michelacci YM. Synovial fluid chondroitin sulphate indicates abnormal joint metabolism in asymptomatic osteochondritic horses. *Equine Vet J* 2012, 44:404–411.
- Marshall KW, Chiu B, Inman RD. Substance P and arthritis: analysis of plasma and synovial fluid levels. *Arthritis Rheum* 1990, 33:87–90.
- Martel G, Forget C, Gilbert G, Richard H, Moser T, Olive J, Laverty S. Validation of the ultrasonographic assessment of the femoral trochlea epiphyseal cartilage in foals at osteochondrosis predilected sites with magnetic resonance imaging and histology. *Equine Vet J* 2017, 49:821–828.
- Martel G, Crowley D, Olive J, Halley J, Laverty S. Ultrasonographic screening for subclinical osteochondrosis of the femoral trochlea in foals (28-166 days old): a prospective farm study. *Equine Vet J* 2018, 50:312–320.
- Mastbergen SC, Bijlsma JW, Lafeber FP. Synthesis and release of human cartilage matrix proteoglycans are differently regulated by nitric oxide and prostaglandin-E2. *Ann Rheum Dis* 2008, 67:52–58.
- Matyas JR, Atley L, Ionescu M, Eyre DR, Poole A. Analysis of cartilage biomarkers in the early phases of canine experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2004, 50:543–552.
- McIlwraith CW. Traumatic Arthritis and Posttraumatic Osteoarthritis in the Horse. Teoksessa: McIlwraith CW, Frisbie D, Kawcak R, Van Weeren R (toim.) Joint disease in the horse. 2. p. Saunders, Philadelphia, USA 2016a. 33–48.

McIlwraith, C.W., Kawcak, C.E., Frisbie, D.D., Little, C.B., Clegg, P.D., Peffers, M.J., Karsdal, M.A., Ekman, S., Laverty, S., Slayden, R.A., Sandell, L.J., Lohmander, L.S. and Kraus, V.B. Biomarkers for equine joint injury and osteoarthritis. *J. Orthop Res* 2018, 36:823–831.

Melching LI, Fisher WD, Lee ER, Mort JS, Roughley PJ. The cleavage of biglycan by aggrecanases. *Osteoarthritis Cartilage* 2006, 14:1147–1154.

Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, Torti F, Krueger J, Rybak A, Maier L, Mackowiak SD, Gregersen LH, Munschauer M, Loewer A, Ziebold U, Landthaler M, Kocks C, le Noble F, Rajewsky N. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature* 2013, 495:333–338.

Memczak S, Papavasileiou P, Peters O, Rajewsky N. Identification and characterization of circular RNAs as a new class of putative biomarkers in human blood. *PLoS One* 2015, 10:1–13.

Misumi K, Vilim V, Clegg PD, Thompson CCM, Carter SD. Measurement of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in normal and diseased equine synovial fluids. *Osteoarthritis Cartilage* 2001, 9:119–127.

Misumi K, Tagami M, Kamimura T, Miyakoshi D, Helal IE, Arai K, Fujiki M. Urine cartilage oligomeric matrix protein (COMP) measurement is useful in discriminating the osteoarthritic Thoroughbreds. *Osteoarthritis Cartilage* 2006, 14:1174–1180.

Mittelstaedt D, Kahn D, Xia Y. Topographical and depth-dependent glycosaminoglycan concentration in canine medial tibial cartilage 3 weeks after anterior cruciate ligament transection surgery—a microscopic imaging study. *Quant Imaging Med Surg* 2016, 6:648–660.

Miyaki S, Sato T, Inoue A, Otsuki S, Ito Y, Yokoyama S, Kato Y, Takemoto F, Nakasa T, Yamashita S, Takada S, Lotz MK, Ueno-Kudo H, Asahara H. MicroRNA-140 plays dual roles in both cartilage development and homeostasis. *Genes Dev* 2010, 24:1173–1185.

Moser M, Bosserhoff AK, Hunziker EB, Sandell L, Fässler R, Buettner R. Ultrastructural cartilage abnormalities in MIA/CD-RAP-deficient mice. *Mol Cell Biol* 2002, 22:1438–1445.

Muller-Ladner U, Bosserhoff AK, Dreher K, Hein R, Neidhart M, Gay S, et al. MIA (melanoma inhibitory activity): a potential serum marker for rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 1999, 38:148–154.

Mäkelä JT, Han SK, Herzog W, Korhonen RK. Very early osteoarthritis changes sensitively fluid flow properties of articular cartilage. *J Biomech* 2015, 48:3369–3376.

Nakamura H, Masuko K, Yudoh K, Kato T, Nishioka K, Sugihara T, Beppu M. Position emission tomography with 18F-FDG in osteoarthritic knee. *Osteoarthritis Cartilage* 2007, 15:673–691.

Nelson BB, Goodrich LR, Barrett MF, Grinstaff MW, Kawcak CE. Use of contrast media in computed tomography and magnetic resonance imaging in horses: techniques, adverse events and opportunities. *Equine Vet J* 2017, 49:410–424.

Nelson BB, Kawsac CE, Barrett MF, Mc Ilwraith CW, Grinstaff MW, Goodrich LR. Recent advances in articular cartilage evaluation using computed tomography and magnetic resonance imaging. *Equine Vet J* 2018, 50:564–579.

Neuman P, Dahlberg LE, Englund M, Struglics A. Concentrations of synovial fluid biomarkers and the prediction of knee osteoarthritis 16 years after anterior cruciate ligament injury. *Osteoarthritis Cartilage* 2017, 25:492–498.

Nevalainen MT, Kauppinen K, Pylväläinen J, Pamilo K, Pesola M, Haapea M, Koski J, Saarakkala S. Ultrasonography of the late-stage knee osteoarthritis prior to total knee arthroplasty: comparison of the ultrasonographic, radiographic and intra-operative findings. *Sci Rep* 2018, 8:17742–17748.

Nicholson AM, Trumble TN, Merritt, KA, Brown MP. Associations of horse age, joint type, and osteochondral injury with serum and synovial fluid concentrations of type II collagen biomarkers in thoroughbreds. *Am J Vet Res* 2010, 71:741–749.

- Novakofski KD, Berg LC, Bronzini I, Bonnevie ED, Poland SG, Bonassar LJ, Fortier LA. Joint-dependent response to impact and implications for post-traumatic osteoarthritis. *Osteoarthr Cartilage* 2015, 23:1130–1137.
- Ntoumou E, Tzetzis M, Braoudaki M, Lambrou G, Poulou M, Malizos K, Stefanou N, Anastasopoulou L, Tsezou A. Serum microRNA array analysis identifies miR-140-3p, miR-33b-3p and miR-671-3p as potential osteoarthritis biomarkers involved in metabolic processes. *Clin Epigenetics* 2017, 9:1–15.
- O'Brien T, Baker TA, Brounts SH, Sample SJ, Markel MD, Scollay MC, Marquis P, Muir P. Detection of articular pathology of the distal aspect of the third metacarpal bone in thoroughbred racehorses: comparison of radiography, computed tomography and magnetic resonance imaging. *Vet Surg* 2011, 40:942–951.
- Oinas J, Ronkainen AP, Rieppo L, Finnilä MAJ, Iivarinen JT, van Weeren PR, Helminen HJ, Brama PAJ, Korhonen RK, Saarakkala S. Composition, structure and tensile biomechanical properties of equine articular cartilage during growth and maturation. *Sci Rep* 2018, 8:11357–11368.
- Iwamoto E, Carlson CS. Bones, joints, tendons and ligaments. Teoksessa: Zachary JF (toim.) *Pathologic basis of veterinary disease*. 6.p. Elsevier, St. Louis, Missouri 2017. 954–1008.
- Omoumi P, Michoux N, Roemer FW, Thienpont E, Vande Berg BC. Cartilage thickness at the posterior medial femoral condyle is increased in femorotibial knee osteoarthritis: a cross-sectional CT arthrography study (Part 2). *Osteoarthritis Cartilage* 2015, 23:224–231.
- Omoumi P, Mercier GA, Lecouvet F, Simoini P, Vande Berg BC. CT arthrography, MR arthrography, PET, and scintigraphy in osteoarthritis. *Radiol Clin North Am* 2009, 47:595–615.
- Ouyang Q, Wu J, Jiang Z, Zhao J, Wang R, Lou A, Zhu D, Shi GP, Yang M. Microarray expression profile of circular RNAs in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients. *Cell Physiol Biochem* 2017, 42: 651–659.
- Palukuru UP, Hanifi A, McGoverin CM, Devlin S, Leslkes PI, Pleshko N. Near infrared spectroscopic imaging assessment of cartilage composition: Validation with mid infrared imaging spectroscopy. *Anal Chim Acta* 2016, 926:79–87.
- Pease A. Biochemical evaluation of equine articular cartilage through imaging. *Vet Clin North Am Equine Pract* 2012, 28:637–646.
- Peffers MJ, Thornton DJ, Clegg PD. Characterization of neopeptides in equine articular cartilage degradation. *J Orthop Res* 2016, 34:106–120.
- Peffers MJ, McDermott B, Clegg PD, Riggs CM. Comprehensive protein profiling of synovial fluid in osteoarthritis following protein equalization. *Osteoarthritis Cartilage* 2015, 23:1204–1213.
- Podlipska J, Guerhazi A, Lehenkari P, Niinimäki J, Roemer FW, Arokoski JP, Kaukinen P, Liukkonen E, Lammontausta E, Nieminen MT, Tervonen O, Koski JM, Saarakkala S. Comparison of diagnostic performance of semi-quantitative knee ultrasound and knee radiography with MRI: Oulu Knee Osteoarthritis Study. *Sci Rep* 2016, 6:1–11.
- Podlipska J, Koski JM, Kaukinen P, Haapea M, Tervonen O, Arokoski JP, Saarakkala S. Structure-symptom relationship with wide-area ultrasound scanning of knee osteoarthritis. *Sci Rep* 2017, 7:44470–44479.
- Porter EG, Winter MD, Sheppard BJ, Berry CR, Hernandez JA. Correlation of articular cartilage thickness measurements made with magnetic resonance imaging, magnetic resonance arthrography, and computed tomographic arthrography with gross articular cartilage thickness in the equine metacarpophalangeal joint. *Vet Radiol Ultrasound* 2016, 57:515–525.
- Puchalski SM. Computed tomography. Teoksessa: Ross MW, Dyson SJ (toim.) *Diagnosis and Management of Lameness*. 2.p. Saunders. Missouri, USA 2011. 234–239.

- Puhakka PH, Te Moller NC, Tanska P, Saarakkala S, Tiitu V, Korhonen RK, Brommer H, Virén T, Jurvelin JS, Töyräs J. Optical coherence tomography enables accurate measurement of equine cartilage thickness for determination of speed of sound. *Acta Orthop* 2016, 87:418–424.
- Qu Y, He D, Yoon J, Van Heck B, Bechhoefer E, Zhu J. Gearbox Tooth Cut Fault Diagnostics Using Acoustic Emission and Vibration Sensors — A Comparative Study. *Sensors* 2014, 14:1372–1393.
- Ranok A, Khunkaewla P, Suginta W. Human cartilage chitinase 3-like protein 2: cloning, expression, and production of polyclonal and monoclonal antibodies for osteoarthritis detection and identification of potential binding partners. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother* 2013, 32:317–325.
- Reesink HL, Bonnevie ED, Liu S, Shurer CR, Hollander MJ, Bonassar LJ, Nixon AJ. Galectin-3 binds to lubricin and reinforces the lubricating boundary layer of articular cartilage. *Sci Rep* 2016, 6:1–10.
- Reesink HL, Watts AE, Mohammed HO, Jay GD, Nixon AJ. Lubricin/proteoglycan 4 increases in both experimental and naturally occurring equine osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2017a, 25:128–137.
- Reesink HL, Sutton RM, Shurer CR, Peterson RP, Tan JS, Paszek MJ, Nixon AJ. Galectin-1 and galectin-3 expression in equine mesenchymal stromal cells (MSCs), synovial fibroblasts and chondrocytes, and the effect of inflammation on MSC motility. *Stem Cell Res Ther*, 2017b, 8:243–254.
- Reesink HL, Nixon AJ, Su J, Liu S, Sutton RM, Mann S, Watts AE, Peterson RP. Galectins-1 and-3 Increase in Equine Post-traumatic Osteoarthritis. *Front Vet Sci* 2018, 20:1–11.
- Rieppo L, Töyräs J, Saarakkala S. Vibrational spectroscopy of articular cartilage. *Appl Spectrosc Rev* 2017a, 52:249–266.
- Rieppo L, Kokkonen HT, Kulmala KAM, Kovanen V, Lammi MJ, Töyräs J, Saarakkala S. Infrared micro-spectroscopic determination of collagen cross-links in articular cartilage. *J Biomed Opt* 2017b, 22:1–10.
- Rimington C. Synovial Fluid Mucin. *Ann Rheum Dis* 1949, 8:34–41.
- Robert C, Valette JP, Denoix JM. Correlation between routine radiographic findings and early racing career in French trotters. *Equine Vet J Suppl* 2006, 36:473–478.
- Ross MH, Pawlina W. Connective tissue. Teoksessa: Ross MH, Pawlina W (toim.) *Histology, a text and atlas, with correlated cell and molecular biology*. 7. p. Lippincott Williams & Wilkins, Kiina 2016a. 156–193.
- Ross MH, Pawlina W. Cartilage. Teoksessa: Ross MH, Pawlina W (toim.) *Histology, a text and atlas, with correlated cell and molecular biology*. 6. p. Lippincott Williams & Wilkins, Kiina 2016b. 194–213.
- Runge JJ, Biery DN, Lawler DF, Gregor TP, Evans RH, Kealy RD, Szabo SD, Smith GK. The Effects of Lifetime Food Restriction on the Development of Osteoarthritis in the Canine Shoulder, *Vet Surg* 2008, 37:102–107.
- Saito S, Kondo S, Mishima N, Ishiguro N, Hasegawa Y, Sandell LJ, Iwata H. Analysis of cartilage-derived retinoic-acid-sensitive protein (CD-RAP) in synovial fluid from patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *J Bone Joint Surg* 2002, 84B:1066–1069.
- Salisbury C, Sharif M. Relations between synovial fluid and serum concentrations of osteocalcin and other markers of joint tissue turnover in the knee joint compared with peripheral blood. *Ann Rheum Dis* 1997, 56:558–561.
- Sanchez C, Bay-Jensen AC, Pap T, Dvir-Ginzberg M, Quasnicka H, Barrett-Jolley R, Mobasheri A, Henrotin Y. Chondrocyte secretome: a source of novel insights and exploratory biomarkers of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2017, 25:1199–1209.

Sarda-Mantel L, Saleh-Mghir A, Welling MM, Meulemans A, Vrigneaud J-M, Raguin O, Hervatin F, Martet G, Chau F, Lebtahi R, Guludec D. Evaluation of ^{99m}Tc-UBI 29-41 scintigraphy for specific detection of experimental *Staphylococcus aureus* prosthetic joint infections. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007, 34:1302–1309.

Sarin JK, Rieppo J, Brommer H, Afara IO, Saarakkala S, Töyräs J. Combination of optical coherence tomography and near infrared spectroscopy enhances determination of articular cartilage composition structure. *Sci Rep* 2017, 7:1–9.

Sarin JK, te Moller NCR, Mancini IAD, Brommer H, Visser J, Malda J, Van Weeren PR, Afara IO, Töyräs J. Arthroscopic near infrared spectroscopy enables simultaneous quantitative evaluation of articular cartilage and subchondral bone *in vivo*. *Sci Rep* 2018, 8:13409–13418.

Sato T, Konomi K, Yamasaki S, Aratani S, Tsuchimochi K, Yokouchi M, Masuko-Hongo K, Yagishita N, Nakamura H, Komiya S, Beppu M, Aoki H, Nishioka K, Nakajima T. Comparative analysis of gene expression profiles in intact and damaged regions of human osteoarthritic cartilage. *Arthritis Rheum* 2006, 54:808–817.

Schubert T, Schlegel J, Schmid R, Opolka A, Grassel S, Humphries M, Bosserhoff AK. Modulation of cartilage differentiation by melanoma inhibiting activity/cartilage-derived retinoic acid-sensitive protein (MIA/CD-RAP). *Exp Mol Med* 2010, 42:166–174.

Semevolos SA, Nixon AJ, Brower-Toland BD. Changes in molecular expression of aggrecan and collagen types I, II, and X, insulin-like growth factor-I, and transforming growth factor-beta1 in articular cartilage obtained from horses with naturally acquired osteochondrosis. *Am J Vet Res* 2001, 62:1088–1094.

Shakya BR, Tiulpin A, Saarakkala S, Turunen S, Thevenot J. Detection of experimental cartilage damage with acoustic emission technique: An *in vitro* equine study. *Equine Vet J* 2019, 0:1–6.

Shark L, Chen H, Goodacre J. Knee acoustic emission: a potential biomarker for quantitative assessment of joint ageing and degeneration. *Med Eng Phys* 2011, 33:534–545.

Singh B. Some basic facts and concepts. Teoksessa: Singh B. Dyce, Sacks and Wensing's textbook of veterinary anatomy. 5. p. Elsevier, St. Louis, Missouri 2018 1–28.

Sjaastad OV, Sand O, Hove K. Bone tissue and metabolism of calcium and phosphate. Teoksessa: Sjaastad OV, Sand O, Hove K. Physiology of domestic animals. 3.p. Scandinavian Veterinary Press, Oslo, Norway 2016. 295–309

Skiöldebrand E, Lorenzo P, Zunino L, Rucklidge GJ, Sandgren B, Carlsten J, Ekman S. Concentration of collagen, aggrecan and cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in synovial fluid from equine middle carpal joints. *Equine Vet J* 2001, 33:394–402.

Skiöldebrand E, Ekman S, Mattson-Hulten L, Svala E, Björkman K, Lindahl A, Lundqvist A, Önnarfjord P, Sihlbom C. Cartilage oligomeric matrix protein neopeptide in the synovial fluid of horses with acute lameness: A new biomarker for the early stages of osteoarthritis. *Equine Vet J* 2017, 49:662–667.

Smith AD, Morton AJ, Winter MD, Colahan PT, Ghivizzani S, Brown MP, Hernandez JA, Nickerson DM. Magnetic resonance imaging scoring of an experimental model of post-traumatic osteoarthritis in the equine carpus. *Vet Radiol Ultrasound* 2016, 57:502–514.

Stadler J, Stefanovic-Racic M, Billiar TR, Curran RD, McIntyre LA, Georgescu HI, Simmons RL, Evans CH. Articular chondrocytes synthesize nitric oxide in response to cytokines and lipopolysaccharide. *J Immunol* 1991, 147: 3915–3920.

Stefansson K, Wollmann RL, Moore BW, Arnason BG. S-100 protein in human chondrocytes. *Nature* 1982, 295:63–64.

Svala E, Jin C, Ruetschi U, Ekman S, Lindahl A, Karlsson NG, Skiöldebrand E. Characterisation of lubricin in synovial fluid from horses with osteoarthritis. *Equine Vet J* 2017, 49:116–123.

Szychlinska MA, Trovato FM, Di Rosa M, Malaguarnera L, Puzzo L, Leonardi R, Castrogiovanni P, Musumeci G. Co-expression and co-localization of cartilage glycoproteins CHI3L1 and lubricin in osteoarthritic cartilage: Morphological, immunohistochemical and gene expression profiles. *Int J Mol Sci* 2016, 17:359–377.

Tanaka S, Toki T, Akimoto T, Morishita K. Lipopolysaccharide accelerates collagen-induced arthritis in association with rapid and continuous production of inflammatory mediators and anti-type II collagen antibody. *Microbiol Immunol* 2013, 57:445–454.

Taylor SE, Weaver MP, Pitsillides AA, Wheeler BT, Wheeler-Jones CPD, Shaw DJ, Smith RKW. Cartilage oligomeric matrix protein and hyaluronan levels in synovial fluid from horses with osteoarthritis of the tarsometatarsal joint compared to a control population. *Equine Vet J* 2006, 38:502–505.

Te Moller NCR, Pitkänen M, Sarin JK, Väänänen S, Liukkonen J, Afara IO, Puhakka PH, Brommer H, Niemelä T, Tulamo R-M, Capilla DA, Töyräs J. Semi-automated international cartilage repair society scoring of equine articular cartilage lesions in optical coherence tomography images. *Equine Vet J* 2017, 49:552–558.

Tew WP, Hackett RP. Identification of cartilage wear fragments in synovial fluid from equine joints. *Arthritis Rheum* 1981, 24:1419–1424.

Tiulpin A, Thevenot J, Rahtu E, Lehenkari P, Saarakkala S. Automatic knee osteoarthritis diagnosis from plain radiographs: A deep learning-based approach. *Sci Rep* 2018, 8:1727–1736.

Trumble TN, Brown MP, Merritt KA, Billingham RC. Joint dependent concentrations of bone alkaline phosphatase in serum and synovial fluids of horses with osteochondral injury: an analytical and clinical validation. *Osteoarthritis Cartilage* 2008, 16:779–786.

Trumble TN, Scarbrough AB, Brown MP. Osteochondral injury increases type II collagen degradation products (C2C) in synovial fluid of Thoroughbred racehorses. *Osteoarthritis Cartilage* 2009, 17: 371–374.

Van den Boom R, Van der Harst MR, Brommer PAJ, Barneveld A, Van Weeren PR, DeGroot J. Relationship between synovial fluid levels of glycosaminoglycans, hydroxyproline and general MMP activity and the presence and severity of articular cartilage change on the proximal articular surface of P1. *Equine Vet J* 2005, 37:19–25.

Van Hoogmoed LM, Snyder JR, Thomas HL, Harmon FA. Retrospective evaluation of equine prepurchase examinations performed 1991-2000. *Equine Vet J* 2003, 35:375–381.

Van Weeren, PR. General anatomy and physiology of joints. Teoksessa: McIlwraith CW, Frisbie D, Kawcak R, Van Weeren R (toim.) *Joint disease in the horse*. 2. p. Saunders, Philadelphia, USA 2016a. 1–24.

Van Weeren PR. Osteochondritis Dissecans. Teoksessa: McIlwraith CW, Frisbie D, Kawcak R, Van Weeren R (toim.) *Joint disease in the horse*. 2. p. Saunders, Philadelphia, USA 2016b. 57–84.

Van Weeren PR. Septic Arthritis. Teoksessa: McIlwraith CW, Frisbie D, Kawcak R, Van Weeren R (toim.) *Joint disease in the horse*. 2. p. Saunders, Philadelphia, USA. 2016c. 91–104.

Van Weeren PR, Brama PAJ. Effects of Loading/Exercise on Articular Tissues and Developmental Aspects of Joints. Teoksessa: McIlwraith CW, Frisbie D, Kawcak R, Van Weeren R (toim.) *Joint disease in the horse*. 2. p. Saunders, Philadelphia, USA 2016. 105–118.

Verwilghen DR, Busoni V, Gangl M, Franck T, Lejeune J-P, Vanderheyden L, Detilleux J, Grulke S, Deberg M, Henrotin Y, Serteyn D. Relationship between biochemical markers and radiographic scores in the evaluation of the osteoarticular status of Warmblood stallions. *Res Vet Sci* 2009, 87:319–328.

Verwilghen DR, Enzerink E, Martens A, Franck T, Ballingandy M, Henrotin Y, Detilleux J, Serteyn D. Relationship between arthroscopic joint evaluation and the levels of Coll2-1, Coll2-1NO(2), and myeloperoxidase in the blood and synovial fluid of horses affected with osteochondrosis of the tarsocrural joint. *Osteoarthritis Cartilage* 2011, 19:1323–1329.

Wang Y-X J, Griffith JF, Ahuja AT. Non-invasive MRI assessment of the articular cartilage in clinical studies and experimental settings. *World J Radiol* 2010, 2:44–54.

- Wang Y, Sun X, Ly J, Zeng L, Wei X, Wei L. Stromal cell-derived factor-1 accelerates cartilage defect repairing by recruiting bone marrow mesenchymal stem cells and promoting chondrogenic differentiation. *Tissue eng. Part A* 2017, 23: 1160–1168.
- Wierzcholski K. Acoustic emission diagnosis for human joint cartilage diseases. *Acta Bioeng Biomech* 2015, 17: 139–148.
- Withrow J, Murphy C, Liu Y, Hunter M, Fulzele S, Hamrick MW. Extracellular vesicles in the pathogenesis of rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2016, 18:286: 1–12.
- Wu Y, Krishnan S, Rangayyan RM. Computer-aided diagnosis of knee-joint disorders via vibroarthrographic signal analysis: a review. *Crit Rev Biomed Eng* 2010, 38:201–224.
- Yammani R.R. S100 proteins in cartilage: role in arthritis. *Biochim Biophys Acta* 2012, 1822:600–606.
- Yin CM, Suen WC, Lin S, Wu XM, Li G, Pan XH. Dysregulation of both miR-140-3p and miR-140-5p in synovial fluid correlate with osteoarthritis severity. *Bone Joint Res* 2017, 6:612–618.
- Ytrehus B, Carlson CS, Lundeheim N, Mathisen L, Reinholt FP, Teige J, Ekman S. Vascularisation and osteochondrosis of the epiphyseal growth cartilage of the distal femur in pigs--development with age, growth rate, weight and joint shape. *Bone* 2004, 34:454–465.
- Yue J, Wu D, Tam LS. The role of imaging in early diagnosis and prevention of joint damage in inflammatory arthritis. *Expert Rev Clin Immunol* 2018, 14:499–511.
- Zhou Z, Du D, Chen A, Zhu L. Circular RNA expression profile of articular chondrocytes in an IL-1 β -induced mouse model of osteoarthritis. *Gene* 2018, 20:20–26.