

Osteochondrosis in horses. Part I. Prevalence and etiopathogenesis

Kliczkowska K.¹, Sapierzyński R.¹, Bereznowski A.², Kłos Z.². Department of Pathology and Veterinary Diagnostic¹, Department of Large Animal Diseases with Clinic², Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

This paper aims at the presentation of a disease characterized by abnormal differentiation of growth cartilage, called osteochondrosis (OC). Osteochondrosis became recently very important problem in equine medicine and horse breeding. It has been recognized in more than 30% horses of some breeds. This led to numerous studies conducted during last 10 years. In many articles vascular changes in growing cartilage are considered to play an important/crucial role in pathogenesis of early stage of osteochondrosis latens. There are also evidences of an impact of breeding and feeding conditions on the OC prevalence. Moreover, the role of biomarkers of cartilage breakdown like Coll2-1, Coll2-1 NO₂ and CPII in OC pathogenesis was broadly investigated. There are also reports presenting new diagnostic methods non-invasive and more accurate than radiography.

Keywords: osteochondrosis, etiopathogenesis, horse.

Martwica chrzęstno-kostna, zwana inaczej osteochondrozą (*osteochondrosis* – OC), jest zaburzeniem kostnienia śródczęstnego. U podstaw choroby leży miejscowa martwica niedokrwien- na chondrocytów spowodowana zaburzeniami unaczynienia chrząstki szklistej w przynasadach rosnącej kości (1). Obumarła tkanka chrzęstna nie ulega mineralizacji wraz z posuwającym się frontem kostnienia, co prowadzi do miejscowego zgrubienia chrząstki stawowej, a następnie oddzielania się fragmentu chrzęstno-kostnego w miejscu, gdzie wystąpiła martwica chondrocytów. Osteochondroza jest chorobą, która powszechnie występuje u koni i stanowi poważną przyczynę strat finansowych hodowców i posiadaczy koni.

Ze względu na stopień zaawansowania zmian rozróżnia się 3 postaci osteochondrozy u koni (1, 2).

1. **Postać utajona** (*osteochondrosis latens*), która oznacza najwcześniejsze zmiany chrząstki, obserwowalne jedynie w badaniu histopatologicznym wycinka chrząstki (martwica komórek śródbłonna naczyń na pograniczu chrząstki i nowo powstającej kości oraz związana z tym miejscowa martwica niedokrwien- na chondrocytów). Przy tej postaci nie obserwuje się objawów klinicznych, ani nieprawidłowości w badaniu rentgenowskim.

Osteochondroza u koni. Część I. Występowanie i etiopatogeneza

Katarzyna Kliczkowska¹, Rafał Sapierzyński¹, Andrzej Bereznowski², Zdzisław Kłos²

z Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej¹ oraz Katedry Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką² Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

2. **Postać podkliniczna** (*osteochondrosis manifesta*), w której obecne jest miejscowe zgrubienie chrząstki stawowej, co jest konsekwencją opóźnionego posuwania się frontu kostnienia; ta postać nie objawia się klinicznie, ale może być rozpoznana w badaniu rentgenowskim.

3. **Postać oddzielająca** (*osteochondrosis dissecans* – OCD), charakteryzuje się tym, że fragment martwej chrząstki zaczyna się oddzielać od kości leżącej pod chrząstką, tworzy się szczelina; następnie fragment chrzęstno-kostny może oddzielać się od kości i występować luźno w stawie. W tym przypadku choroba daje charakterystyczne objawy kliniczne, zmiany są też widoczne w czasie badania rentgenowskiego i artroskopowego.

Jak się wydaje, rozwój osteochondrozy u koni wiąże się z ukierunkowaniem hodowli koni sportowych na uzyskanie dobrze rozwiniętego umięśnienia i dużej wysokości w kłębie, najlepiej w jak najmłodszym wieku. Chorobę tę niezwykle rzadko stwierdza się u kuców ras prymitywnych, dlatego też przypuszcza się, że tło genetyczne odgrywa podstawową rolę w jej rozwoju, jednak wykazano, że rozwój zmian jest też powiązany z innymi czynnikami, takimi jak: sposób chowu (typ boksu, pastwisko czy tryb mieszany) i żywieniem paszami wysokobiałkowymi. Jako czynniki predysponujące brano pod uwagę były też niedobór miedzi oraz zjawisko insulinooporności, jednak ich rola w rozwoju choroby nie została do tej pory jednoznacznie udokumentowana. Artykuł ten prezentuje przegląd aktualnego piśmiennictwa z zakresu występowania i etiopatogenezy osteochondrozy u koni.

Występowanie

Częstość występowania osteochondrozy u koni różni się znacząco w zależności m.in. typu użytkowego, sposobu utrzymania, żywienia, rasy i wieku badanych zwierząt (3, 4). Według ostatnich badań nasilenie występowania tej choroby waha się od 10 do 11% wśród koni wykazujących objawy choroby, takie jak obrzęk i kulawizna, do nawet 62% u koni badanych kontrolnie, niewykazujących objawów choroby (5, 6, 7). Problem ten nie omija również Polski,

gdzie częstość występowania osteochondrozy wśród młodych ogierów zakwalifikowanych do zakładu treningowego wyniosła w badaniach wstępnych ok. 30% (8). Rzadkim, ale opisanym już zjawiskiem jest pojawianie się zmian o charakterze osteochondrozy u kuców. Badania z ostatnich lat skupiają się w większej mierze na ocenie występowania choroby w konkretnych stawach i ich częściach, a nie w populacji koni ogółem. Poniżej zaprezentowano wyniki kilku prac skupiających się na określeniu miejsc predylekcyjnych dla występowania osteochondrozy i jej nasilenia.

W jednym z badań obejmujących 269 rocznych koni pełnej krwi (niepodanych wcześniej treningowi), zgromadzonych na aukcji w Republice Południowej Afryki, zmiany o charakterze osteochondrozy w stawie nadgarstkowym znaleziono u 0,7% koni, w stawie śródstopowo-palcowym – 1,6%, w stawie stępu – 4,4%, a w udowo-piszczelowym u 0,4% badanych zwierząt (9).

W innym badaniu przeprowadzonym na 811 holenderskich koniach gorącookrwestych (KWPN, Royal dutch horse) określano konkretne miejsca predylekcyjne dla danego stawu (10). W stawie udowo-rzepakowym 91,4% stwierdzonych zmian miało charakter spłaszczenia obrysu powierzchni stawowej (OC manifesta) na kłykcium bocznym błoczka kości udowej i w dole błoczka kości udowej, a w 96,3% przypadków stwierdzono obecność wolnych fragmentów chrzęstno-kostnych (OC dissecans) na kłykcium bocznym błoczka kości udowej. W stawie stępu najwięcej zmian o charakterze spłaszczenia powierzchni stawowej (92,6%) znaleziono na grzebieniu ślimaka kości piszczelowej oraz na obu grzebieniach błoczka kości skokowej, zaś wolne fragmenty chrzęstno-kostne występowały w 94,4% na grzebieniu ślimaka kości piszczelowej i na grzebieniu bocznym błoczka kości skokowej. W stawach śródrečno/śródstopowo-palcowych brano pod uwagę tylko przednio-dogrzebietową część nasady dalszej kości śródrečno/śródstopia; zmiany o charakterze spłaszczenia obrysu powierzchni stawowej obserwowano w 12,7% przypadków w kończynach piersiowych i 16,1% zmian w kończynach miednicznych. Wolne fragmenty chrzęstno-kostne występowały w tych stawach odpowiednio w 3,3 i 7,3% przypadków.

Podobne badanie stawu stępu i stawu śródrečno-palcowego przeprowadzono u 464 kłusaków amerykańskich w Norwegii (11). Porównywano w nim wyniki badań z 2006 i 2007 r. Najczęstszym miejscem występowania zmian o charakterze osteochondrozy był grzebień bloczka kości skokowej. Zmiany typowe dla postaci oddzielającej osteochondrozy w stawie stępu obejmowały najczęściej grzebień ślimaka kości piszczelowej. Ponadto w 2007 r. odnotowano spadek częstości występowania osteochondrozy, ale wzrost postaci oddzielającej osteochondrozy, w stosunku do 2006 r., co sugeruje, że problem zaburzeń o charakterze osteochondrozy stawu stępu nasila się w hodowli kłusaków amerykańskich w Norwegii, co może mieć też przełożenie na inne rasy koni.

W badaniach przeprowadzonych w Szwecji brano pod uwagę także obraz kliniczny choroby (5). Analizowano dane dotyczące szwedzkich koni gorącokrwistych, u których wykonano badania radiologiczne stawów w latach 1992–1998. Badanie obejmowało dwie grupy koni. Pierwszą stanowiły zwierzęta niewykazujące objawów klinicznych, poddane rutynowym badaniom rentgenowskim przed transakcją kupno-sprzedaż, czy kontrolnie przed wdrożeniem młodego konia do treningu. Grupę tę stanowiło 879 koni w wieku od 0,5 roku do 15 lat. Grupa druga to konie, u których badanie radiologiczne wykonano podczas badania klinicznego w związku z występowaniem u tych zwierząt kulawizny (3639 koni w wieku od 0,5 do 22 lat). W grupie pierwszej aż 19,7% koni wykazało zmiany o charakterze osteochondrozy (najczęściej zmiany obserwowano w stawie śródrečno/śródstopowo-palcowym, rzadziej w stawie kolanowym i stępowym). Spośród koni z objawami klinicznymi odsetek ten wyniósł 11,4 (najczęściej zajęty był staw kolanowy, rzadziej w stawy śródrečno/śródstopowo-palcowe i staw stępu). Autorzy pracy wnioskują, że zmiany o charakterze osteochondrozy zlokalizowane w stawie kolanowym mają największą tendencję do dawania objawów klinicznych, takich jak kulawizna, natomiast osteochondrozy stawów śródrečno/śródstopowo-palcowych często pozostają niezauważone klinicznie i są wykrywane w trakcie badania rentgenowskiego.

Jak wspomniano poprzednio, dostępne są też doniesienia na temat częstości występowania osteochondrozy u koni w Polsce, oparte na badaniu radiologicznym 28 ogierów szlachetnej półkrowi, w wieku 3–4 lat podczas przyjmowania ich do zakładu treningowego oraz przeprowadzone na 1–2 dni przed ukończeniem treningu (8). Już w dniu przyjęcia odsetek koni z widocznymi na zdjęciach rentgenowskich zmianami wynosił 30, z czego większą

część stanowiły zmiany w obrębie stawów śródrečno/śródstopowo-palcowych. Trening miał największy wpływ na nasilenie się zmian o charakterze osteochondrozy w stawach śródrečno/śródstopowo-palcowych; odsetek koni bez zmian w tych stawach malał po zakończeniu treningu o 18–25%. Jedynym stawem, w którym po treningu nie wzrosła częstość występowania zmian okazał się staw udowo-rzepakowy.

Zmiany o charakterze osteochondrozy obserwowane są również u koni ras zimnokrwistych. Przeprowadzono pisemną ankietę wśród właścicieli 935 koni rasy clydesdale w Wielkiej Brytanii i USA dotyczącą występowania u tej rasy powiększenia obrysu stawu stępu (6). Analiza zebranych danych wykazała że u 10% koni, które objęła ankieta obserwowano deformację stawu stępu. Ponieważ 80% koni z powiększeniem obrysu tego stawu nie wykazywało objawów bólowych, a jedynie u 3% występowała kulawizna I stopnia, autorzy uznali, że prawdopodobieństwo, iż deformacja była spowodowana urazem, złamaniem śródstawowym, znacznego stopnia zwyrodnieniem, krwiakiem wewnątrzstawowym czy zakażeniem jest niskie. Założyli więc, że powiększenie obrysu stawu stępu, bez towarzyszącej bolesności i kulawizny, jest najprawdopodobniej spowodowane zmianami o charakterze osteochondrozy. Ponadto około połowa opisanych zmian wystąpiła u koni poniżej 12 miesiąca życia. Na tej podstawie oszacowano, że u około 10% koni rasy clydesdale mogą występować zmiany o charakterze osteochondrozy.

W Niemczech w latach 2001–2004 badaniu poddano 167 niemieckich koni zimnokrwistych, o średniej wieku 14 miesięcy, nie wykazujących kulawizny ani powiększenia obrysu stawów (7). U koni tych wykonano po 2 zdjęcia rentgenowskie w projekcji boczno-przyśrodkowej i doczaszkowo-dogonowej stawów stępu i po jednej projekcji boczno-przyśrodkowej stawów śródrečno/śródstopowo-palcowych. U 61,7% koni znaleziono przynajmniej jedną zmianę o takim charakterze w którymś ze stawów, zaś u 26,9% zwierząt stwierdzono wolne fragmenty chrzęstno-kostne w stawie. Zmiany o charakterze osteochondrozy grzebień strzałkowego bloczka kości śródrečna/śródstopia III znaleziono u 53,9% koni. W stawie stępu znaleziono 40,1% zmian o charakterze osteochondrozy i 0,6% zmian o charakterze postaci oddzielającej choroby. Z tego w grzebień boczny bloczka kości skokowej 17,4%, a w nasadzie dalszej kości piszczelowej aż 28,1% zmian.

Jednak osteochondroza to nie tylko problem dotyczący kończyn. W literaturze opisano przypadek 14-miesięcznego wałacha rasy belgijskiej, który trafił do Atlantic Veterinary College z objawami pogłębiającej

się ataksji (12). Zdjęcie rentgenowskie odcinka szyjnego kręgosłupa nie wykazało zmian patologicznych, jednak ze względu na pogarszający się stan zdrowia konia poddano eutanazji. Sekcja zwłok wykazała dwie symetryczne zmiany na kłykciach potylicznych, owalne, o średnicy 2 cm, lekko wystające ponad powierzchnię. Zmieniona chrząstka przylegała do kości, ale dawała się lekko przesunąć pod wpływem nacisku. Powierzchnie stawowe pierwszego kręgu szyjnego były spłaszczone w miejscach odpowiadających zmienionej chrząstce kłykci potylicznych. Ostatecznie rozpoznano obustronną, symetryczną osteochondrozę kłykci potylicznych oraz dysplazję stawu potyliczno-szczytowego. Przypadki osteochondrozy kręgów szyjnych opisane były już wcześniej, na przykład przez Relanda i wsp. (13, 14).

Także kuce, wbrew powszechnej opinii, nie są wolne od zagrożenia wystąpieniem osteochondrozy. Opisano 7 przypadków uszkodzenia chrząstki o charakterze osteochondrozy umiejscowionych na kłykciu bocznym bloczka kości udowej (część bliższa, czyli jedno z miejsc predylekcyjnych dla tej choroby u dużych koni) u 4 kuców w wieku od 6 do 15 miesięcy (15). U dwóch z nich obserwowano powiększenie obrysu stawu i kulawiznę. Zmiany były obustronne, co jest charakterystyczne dla osteochondrozy u dużych koni. Histologicznie wszystkie zmiany manifestowały się zgrubieniem chrząstki stawowej, w większości przypadków obserwowano martwicę chondrocytów i tworzenie przez nie skupisk. W 4 przypadkach obecna była poprzeczna szczelina pomiędzy chrząstką a kością leżącą pod chrząstką. Uszkodzone naczynia chrząstki były widoczne w 4 przypadkach, a w 3 obserwowano utratę prawidłowego układu chondrocytów, który zastąpiony został przez równomiernie rozłożone, małe, okrągłe chondrocyty. W żadnym z preparatów barwionych hematoksyliną i eozyną nie zaobserwowano natomiast zmiany barwności i kwasochłonności tkanki.

Etiopatogeneza

Unaczynienie

W patogenezie osteochondrozy uwzględnąć należy zaburzenia dotyczące naczyń krwionośnych chrząstek nasadowych, co skutkuje niedokrwiem i martwicą chondrocytów (16). Zaburzenia te są prawdopodobnie najważniejsze w patogenezie utajonej postaci osteochondrozy (*osteochondrosis latentis*). Chrząstka szklista zawiązka kości zapopatrywana jest przez naczynia wnikaające przez chrzęstną. Naczynia biegają w środku kanałów chrzęstnych w głąb chrząstki. Kiedy pojawiają się wtórne punkty

kostnienia, naczynia biegnące w początkowych częściach kanałów chrzęstnych nadal korzystają z dopływu krwi z naczyń ochrzęstnej. Natomiast naczynia pozostałe w częściach dalszych kanałów wytwarzają anastomozy z naczyniami nowo powstającej kości leżącej pod chrząstką. Naczynia kości znajdującej się pod chrząstką muszą więc przejść przez granicę dwóch tkanek (kostnej i chrzęstnej), by dostać się do dalszych części kanałów chrzęstnych.

Jak wykazano w badaniach przeprowadzonych na bardzo młodych źrebiętach, w miejscach predylekcyjnych do pojawiania się osteochondrozy w stawie stępu (kostka przyśrodkowa, grzebień ślimaka kości piszczelowej oraz grzebień boczny bloczka kości skokowej) sieć naczyń w ochrzęstnej jest bardzo skomplikowana. Naczynia zaopatrujące wnikają do kanałów chrzęstnych w chrząstce rosnącej nasady dalszej kości piszczelowej oraz kości skokowej; powierzchnie 2–3 mm chrząstki są pozbawione naczyń, co nawiązuje do późniejszego podziału na chrząstki stawową i nasadową. Obszary o grubszej chrząstce, jak kostka przyśrodkowa czy grzebień boczny bloczka kości skokowej, są znacznie obficiej unaczynione niż obszary z cienką warstwą chrząstki. Co więcej wraz z wiekiem unaczynienie zmniejsza się znacznie w poszczególnych częściach chrząstki według określonego schematu:

- w nasadzie dalszej kości piszczelowej: grzebień ślimaka – kostka boczna – wyrostek dziobiasty pośrodkowy i na końcu kostka przyśrodkowa,
- w kości skokowej: bruzda kości skokowej – środkowa część grzebienia bloczka – część dalsza grzebienia przyśrodkowego bloczka – część bliższa grzebienia przyśrodkowego bloczka – część bliższa grzebienia bocznego bloczka i na końcu część dalsza grzebienia bocznego bloczka.

W badaniu mikroskopowym zaburzenia budowy chrząstki charakterystyczne dla osteochondrozy zaobserwowano w obszarach, które najdłużej pozostają unaczynione – kostka przyśrodkowa, grzebień bloczka kości piszczelowej i część dalsza grzebienia bocznego bloczka kości skokowej. W obrębie samej kostki przyśrodkowej utrata unaczynienia postępowała od części doogonowej do części doczaszkowej. Najwięcej zmian znaleziono w części doczaszkowej. W obrębie grzebienia ślimaka unaczynienie zanikało od strony doogonowo-przyśrodkowej do doczaszkowo-bocznej i większość zmian znaleziono w skrawkach pochodzących z bocznej strony tego wyrostka.

U 7 źrebiąt zaobserwowano 12 zmian w postaci obumierania kanałów chrzęstnych wraz z pobliskimi chondrocytami (widoczny rozpad jądra i kwasochłonna

cytoplazma). Zmiany wystąpiły w miejscu, gdzie nowe unaczynienie wtórnego punktu kostnienia przechodzi przez strefę granicy z chrząstką, by stworzyć anastomozy z naczyniami w dalszych odcinkach kanałów chrząstki. Obumieranie chondrocytów na granicy kostnienia i chrząstki zaburza proces kostnienia śródchrzęstnego. W 3 przypadkach wyżej opisane zaburzenia powodowały widoczne makroskopowo opóźnienie kostnienia śródchrzęstnego w postaci punktowych zgrubień chrząstki i ścięć obszaru kostnienia w porównaniu z otaczającymi tkankami.

Następnie 8 źrebiąt w wieku od 0 do 7 tygodni poddano doświadczeniu według podobnego schematu (17). Tym razem badano część dogrzebietową grzebienia strzałkowego bloczka kości śródstopia III w stawach śródstopowo-palcowych. Chrząstka w rejonie grzebienia strzałkowego była najgrubsza i najdłużej unaczyniona, a zaburzenia o charakterze obumierania kanałów chrzęstnych zaobserwowano w miejscu, gdzie naczynia z ochrzęstnej tworzą połączenia z naczyniami kości śródchrzęstnej. Potwierdza to związek między zaburzeniami w naczyniach krwionośnych unaczyniających chrząstkę a zaburzeniem kostnienia śródchrzęstnego. Doświadczenie to jest jednak niepełne, ponieważ według literatury zmiany o charakterze osteochondrozy o podłożu naczyniowym w stawach śródstopowo-palcowych mają miejsce do około 2,5 mies. życia, dlatego u badanych źrebiąt obraz zmian może być niepełny (18).

W kolejnym doświadczeniu badano grzebień boczny bloczka kości udowej (19). Jednak fragment odosiowy bocznego grzebienia bloczka kości udowej wykazywał nieproporcjonalnie długi okres unaczynienia w porównaniu do swojej grubości, dlatego opisany wcześniej dla stawu stępu związek grubości chrząstki z długością okresu unaczynienia jest w obszarze stawu kolanowego wątpliwy. Najdłużej unaczyniony pozostawał grzebień przyśrodkowy bloczka, który (w odróżnieniu od grzebienia bocznego) nie jest miejscem predylekcyjnym dla osteochondrozy. Niemniej jednak proces zanikania unaczynienia i zmniejszania się grubości chrząstki nie został w pełni zakończony (najstarsze źrebię miało 7 tygodni), więc nie wiadomo do jakiego wieku mogą pojawiać się w dalszej nasadzie kości udowej zmiany o charakterze osteochondrozy spowodowane zaburzeniami w unaczynieniu.

Mając już poznany plan rozwoju unaczynienia w poszczególnych częściach nasady dalszej kości udowej, ci sami autorzy przeprowadzili badania na większą skalę, uwzględniające miejsca powstawania zmian o charakterze osteochondrozy (20). Badanie objęło płody i źrebięta w wieku do 11 miesięcy życia (w sumie 30 osobników).

Analizie poddano grzebień boczny bloczka oraz kłykieć przyśrodkowy kości udowej. W 7 z 30 (23,3%) przypadków stwierdzono zmiany o charakterze osteochondrozy, a łącznie stwierdzono 16 różnych zmian patologicznych; 10 spośród wszystkich zmian zlokalizowanych było na grzebieniu bocznym bloczka kości udowej, 3 na kłykiu przyśrodkowym i 3 na krawędzi przyśrodkowej bloczka kości udowej. 14 z 16 zmian zlokalizowanych było w miejscach, gdzie według poprzedniego badania występują naczynia o przebiegu równoległym do frontu kostnienia – doczaszkowa, doczaszkowo-boczno-odosiowa i doogonowo-przyśrodkowo-odosiowa część nasady dalszej kości udowej, a konkretnie w miejscach, gdzie naczynia przekraczają granicę dwóch tkanek o odmiennych właściwościach – kostnej i chrzęstnej. Zmiany miały charakter martwicy niedokrwiennej chondrocytów.

Wpływ warunków chowu i żywienia

W związku z istotą zmian, jakie towarzyszą osteochondrozie u koni, bardzo prawdopodobne jest, że w patogenezie odgrywają znaczenie sposób chowu i żywienia koni. Kompleksowej oceny wpływu warunków utrzymania i żywienia dokonali Vander Heyden i wsp. (21), którzy przebadali 223 belgijskich koni gorączokrwistych w 3 okresach życia: płodowym, od narodzin do odsadzenia i od odsadzenia do ukończenia 1 roku. Szczególny nacisk w tej pracy położono na ocenę wpływu żywienia ciężarnej kłaczy oraz sposobu utrzymania źrebiąt (pastwisko, boks, system mieszany) do ukończenia pierwszego roku życia na ryzyko wystąpienia u tych źrebiąt osteochondrozy. Wśród właścicieli koni przeprowadzono ankietę dotyczącą warunków chowu i żywienia źrebiąt oraz ich matek. W żywieniu kłaczy brano pod uwagę, czy kłacz dostawała jedynie pasze objętościowe, czy treściwe (do pasz treściwych zaliczono zboża, takie jak owies, jęczmień czy kukurydza, a także gotowe granulaty i mieszanki paszowe) w połączeniu z objętościowymi, czy treściwe jako jedyną paszę. Do dalszego etapu badania (oceny klinicznej i radiologicznej) udało się zakwalifikować 100 ogierków i 123 kłaczki w wieku od 12 do 38 miesięcy, pochodzące z 80 hodowli. Radiologicznie badano stawy śródrečno/śródstopowo-palcowe, stawy stępu i kolanowe. Do grupy koni dotkniętych osteochondrozą sklasyfikowano zwierzęta na podstawie stwierdzenia obecności nieregularnych krawędzi cienia kości tworzących staw lub obecności wolnego fragmentu chrzęstno-kostnego w jednym z miejsc predylekcyjnych (bliższa część grzebienia strzałkowego kości śródrečna/śródstopia III, dalsza część grzebienia bocznego

i bliższa część grzebienia przyśrodkowego boczka kości skokowej, grzebień ślimaka kości piszczelowej, kostka przyśrodkowa kości piszczelowej, boczny i przyśrodkowy grzebień boczka kości udowej). Kondycję koni oceniano za pomocą pięciopunktowej skali (1 punkt skrajnie wychudzenie, 5 punktów – znaczne otłuszczenie).

Spośród 223 koni 69 (30,9%) zakwalifikowano do grupy dotkniętej zmianami o charakterze osteochondrozy. 34 konie miały zmiany w stawach pęcinowych (15,25%), 31 w stawie stępu (14%), a 20 koni (9%) w stawie kolanowym. U 33,7% źrebiąt pochodzących od matek karmionych w czasie ciąży paszami treściwymi z dodatkiem pasz objętościowych i u 38,9% od matek karmionych jedynie paszami treściwymi rozwinęła się osteochondroza. Odsetek ten u źrebiąt urodzonych przez matki karmione jedynie paszą objętościową wyniósł zaledwie 4%. Ponadto osteochondroza rozwijała się też częściej u źrebiąt, które karmione były przez matki otrzymujące w okresie laktacji pasze treściwe i objętościowe (31,5% źrebiąt) oraz same pasze treściwe (39,5% źrebiąt), w porównaniu do źrebiąt karmionych przez klacze otrzymujące w okresie laktacji pasze objętościowe (19,4%).

Badanie wykazało też protekcyjną rolę stałego, umiarkowanego wysiłku we wczesnym okresie życia (ruch na pastwisku) na rozwój osteochondrozy u źrebiąt. Zmiany o charakterze osteochondrozy obserwowano rzadziej u osobników, które miały nieograniczony dostęp do swobodnego ruchu w okresie przedodsadzeniowym, mianowicie u 25,6% źrebiąt utrzymywanych wyłącznie na pastwisku, 47,4% źrebiąt utrzymywanych w systemie mieszanym i 66,6% źrebiąt utrzymywanych jedynie w zamkniętym boksie. Podobnie wolnowybiegowy sposób utrzymania źrebiąt w okresie poodsadzeniowym redukował ryzyko pojawienia się zmian o charakterze osteochondrozy (21,2% źrebiąt utrzymywanych na pastwisku i 41,7% źrebiąt utrzymywanych w systemie mieszanym lub w boksach).

Podobne doświadczenie objęło 378 źrebiąt spośród 3 ras (francuski koń gorącokrwisty, kłusak francuski, pełna krew angielska) z 21 hodowli we Francji (22). Badanie trwało 3 lata i uwzględniało okres od 8 miesięcy ciąży. W okresie okołoodsadzeniowym (ok. 6 miesiąc życia) wykonano badanie rentgenowskie stawu nadgarstkowego, stawów palca, stawu kolanowego i stępu w kończynach po stronie prawej i lewej. Jako czynniki ryzyka występowania osteochondrozy rozpatrywano rasę, płęć, typ budowy (wysokość w kłębie i obwód klatki piersiowej), sposób żywienia, wysiłek fizyczny źrebięcia, a także wiek klaczy i liczbę urodzonych przez nią wcześniej źrebiąt.

Spośród wszystkich poddanych ocenie osobników 36% źrebiąt wykazało zmiany radiologiczne typowe dla osteochondrozy. Zmiany występowały częściej u źrebiąt rasy francuski koń gorącokrwisty (53%) niż u koni pełnej krwi angielskiej (25%) czy kłusaków (34%). Źrebięta z większą wysokością w kłębie w trzydziestym dniu życia również wykazywały większe ryzyko wystąpienia osteochondrozy. Nieznacznie większy odsetek osteochondrozy występował u samic (37%) niż u samców (35%). Niezależnie od rasy i wysokości w kłębie zmiany o charakterze osteochondrozy występowały częściej u źrebiąt pozbawionych swobodnego ruchu na pastwisku lub z ograniczeniem ruchu do 2–3 dni w tygodniu. Podwyższone ryzyko pojawienia się osteochondrozy występowało też u źrebiąt pochodzących od klaczy w wieku poniżej 10 roku życia (35%) lub starszych niż 15-letnie (51%), w stosunku do klaczy 10–15-letnich (31%). Liczba urodzonych przez klacz źrebiąt nie miała wpływu na występowanie osteochondrozy, podobnie źrebięta, które otrzymywały we wczesnym okresie żywieniowym (od 3 miesiąca ciąży matki do 2 miesiąca życia źrebięcia) niskie dawki żywieniowe wykazywały zmiany o charakterze osteochondrozy o wiele rzadziej (20%) niż te, które otrzymywały wysokie dawki żywieniowe (33%). Brak swobodnego ruchu lub ruch ograniczony do 1–3 dni w tygodniu też (53%) zwiększał ryzyko wystąpienia osteochondrozy w porównaniu do źrebiąt, które miały zapewniony codzienny, swobodny ruch (30%).

Insulinooporność

Badania opublikowane przez Lepeule i wsp. (22), analizujące sposób utrzymania źrebiąt (system wolnowybiegowy vs system zamknięty) i rodzaj podawanej paszy (pasze objętościowe vs pasze treściwe), sugerują związek między występowaniem osteochondrozy i zmianami stężenia glukozy i być może insuliny w organizmie. Insulina produkowana jest przez komórki beta trzustki w odpowiedzi na wysoki poziom glukozy we krwi. Jej podstawową rolą jest zwiększanie wychwytu glukozy przez komórki, m.in. miocyty, adipocyty i hepatocyty, powodując tym samym obniżenie jej poziomu we krwi. Dodatkowo insulina hamuje wytwarzanie hormonu wzrostu (GH) w przednim płacie przysadki, a poprzez to działa supresyjnie na wzrost kości na długość (GH na drodze bezpośredniej i pośredniej za pomocą insulinopodobnego czynnika wzrostu – IGF stymuluje proliferację osteoblastów).

W związku z tym zaplanowano doświadczenie, którego celem była ocena ewentualnych różnic w stężeniu glukozy i insuliny u nakarmionych koni ze

zmianami typowymi dla osteochondrozy i osobników bez takich zmian (23). Do badania wykorzystano 14 młodych kłusaków amerykańskich, z czego 4 z tych koni miało radiologicznie stwierdzoną osteochondrozę oddzielającą. Krew do badań pobierano przed karmieniem oraz co godzinę przez 6 godzin po karmieniu. Schemat ten powtarzano 4-krotnie, w odstępie 4-tygodniowym. Jak wykazało badanie, zarówno stężenie poposiłkowe glukozy, jak i insuliny było wyższe u koni z osteochondrozą oddzielającą (glukoza: $8,59 \pm 2,6$ mmol/l, insulina: $43,7 \pm 3,1$ IU/dl), niż u koni zdrowych (glukoza: $7,89 \pm 0,8$ mmol/l, insulina: $27,8 \pm 1,0$ IU/dl). Stosunek stężenia glukozy do insuliny nie różnił się jednak znacząco w obu grupach (40 u koni zdrowych, 37 u koni z osteochondrozą oddzielającą). Stosunek glukoza/insulina był niższy u koni młodszych (źrebięta i roczniaki) niż u dwulatków, sugerując, że osteochondroza oddzielająca u młodszych koni może mieć podłoże w oporności insulinowej.

Zawartość miedzi w paszy

W 1998 r. w Nowej Zelandii przeprowadzono badania na 21 źrebiętach, sugerujące, że potomstwo od matek, którym w późnej ciąży suplementowano miedź w dawce 0,5 mg/kg m.c., doustnie, wykazuje mniejszą tendencję do rozwoju zmian o charakterze osteochondrozy (w 150 dniu życia u źrebiąt przeprowadzono badanie pośmiertne), w porównaniu do źrebiąt uzyskanych od klaczy utrzymywanych jedynie na pastwisku (24). Co ciekawe, suplementacja ta nie wpływała jednak na stężenie miedzi w wątrobie źrebiąt.

Mając do dyspozycji nowocześniejsze metody badawcze, dla sprawdzenia tych sugestii badaniu poddano 23 klacze pełnej krwi, które podzielono na dwie grupy: suplementowaną i niesuplementowaną miedzią (25). Grupie pierwszej (11 klaczy) podawano wersenian wapnia i miedzi w 220, 248, 276 i 304 dniu ciąży domięśniowo, a później co dwa tygodnie, aż do wyżrebienia; w tym samym czasie klacze z grupy drugiej (12 klaczy) otrzymywały roztwór soli fizjologicznej. Badano stężenie miedzi w wątrobie źrebiąt przyżyciowo, wykonując biopsję wątroby w pierwszym tygodniu życia. Po eutanazji zwierząt w 163 dniu (± 4 dni) narząd pobierano do dalszych badań. W czasie trwania eksperymentu klacze i źrebięta utrzymywano na pastwisku, a próbki z pastwiska badano pod względem zawartości w nich związków mineralnych. Podczas sekcji zwłok do badania pobierano wycinki kości tworzących stawy: ramienny, łokciowy, biodrowy, kolanowy, stępu, a także rzepkę i kość skokową. Skrawki barwiono hematoksyliną i eozyną oraz błękitem toluidyny (dla uwidocznienia

proteoglikanów istoty międzykomórkowej). Oceniano obecność przetrwałej warstwy chrząstnej, martwicy chondrocytów, formowanie się szczeliny podchrząstnej, zakłócenia w normalnej przemianie chondrocytów, aktywność fosfatazy zasadowej (ALP) oraz katepsyny B (enzym biorący udział w rozkładzie kolagenu). Przeprowadzone badania wykazały, że koncentracja miedzi w wątrobie u źrebiąt od matek z obu grup nie różniła się znacząco, nie było też ważnych statystycznie różnic w obu grupach źrebiąt pod względem oceny histopatologicznej preparatów badanych kości i chrząstek. Jednak badania przeprowadzone po 160 dniach życia w obu grupach źrebiąt wykazały występowanie zmian histopatologicznych typowych dla osteochondrozy. Nieprawidłowości obserwowano najczęściej w obrębie przyśrodkowej części grzebienia bocznego bloczka kości udowej (u 27% źrebiąt od matek niesuplementowanych i u 36% źrebiąt od matek suplementowanych) i guzka pośredniego głowy kości ramiennej (u 55% źrebiąt od matek niesuplementowanych i u 45% źrebiąt od matek suplementowanych).

Wyniki badania zaprzeczają więc wnioskowi wypływającym z pracy Pearce'a i wsp. (24), że suplementacja miedzią kłaczy w późnej ciąży wywiera ochronny wpływ na pojawienie się zmian o charakterze osteochondrozy u źrebiąt, wykluczają również związek pomiędzy stężeniem miedzi w wątrobie źrebiąt, a ryzykiem wystąpienia choroby (24). Jednak nie można jednoznacznie wykluczyć, że rozbieżności wyników obu prezentowanych prac są związane z inną drogą suplementacji miedzią: droga doustna vs droga pozajelitowa.

Rola kolagenu

Macierz pozakomórkowa chrząstki składa się z sieci włókien kolagenowych typu II poprzepłatanych silnie uwodnionymi agregatami proteoglikanu. W kości macierz pozakomórkowa zawiera również proteoglikany oraz kolagen typu I, ale w głównej mierze jest to substancja zmineralizowana. Dlatego podczas kostnienia na podłożu chrzęstnym cała struktura macierzy pozakomórkowej tkanki chrząstnej musi ulec przebudowie. W jednym z badań analizie poddano: całkowitą zawartość kolagenu, hydroksylizyny, obecność wiązań krzyżowych kolagenu i zawartość glikozaminoglikanów (GAG) w chrząstce nasadowej i kości pod chrząstką u 43 źrebiąt KWPN w poszczególnych stadiach zaawansowania osteochondrozy (26). Źrebięta poddano eutanazji (24 źrebięta w wieku 5 miesięcy i pozostałe 19 źrebiąt w wieku 11 miesięcy), pobrano próbki ze stawu kolanowego i stępu. Występowanie i stopień zaawansowania osteochondrozy oceniono

według pięciostopniowej skali utworzonej na podstawie skali Van Weerena i Barnevelda (27) oraz Hensona (28). Całkowita zawartość kolagenu w stawie stępu we wczesnej osteochondrozie była znacznie niższa niż w chrząstce kontrolnej, co sugeruje, że ewentualny wpływ zawartości kolagenu w chrząstce na przebieg kostnienia śródchrząstowego ma miejsce na samym początku rozwoju choroby. Dodatkowo, w chrząstce dotkniętej wczesnymi zmianami ilość wiązań krzyżowych hydroksylizylopirydinolinowych kolagenu była znacznie obniżona w porównaniu do chrząstek kontrolnych, co sugeruje, że zmiany w budowie sieci kolagenu mają wpływ na kostnienie śródchrząstne.

Białka regulatorowe

Istotną rolę w regulacji procesu wzrostu chondrocytów i kostnienia śródchrząstowego odgrywają białka regulatorowe, a w szczególności białko zależne od parathormonu (parathyroid related protein – PTHrP), białko Ihh (Indian hedgehog) i morfogenetyczne białka kości (bone morphogenetic proteins – BMP's).

W doświadczeniu Semevolosa i wsp. (29) stwierdzono wzmożoną aktywność PTHrP w chrząstce nasadowej pobranej ze stawu ramiennego (doogonowa część głowy kości ramiennej) i udowo-rzepakowego (grzebień boczny i przyśrodkowy bloczka kości udowej) od 11 młodych koni (w wieku od 6 do 12 miesięcy) mających objawy osteochondrozy w wyżej wymienionych stawach w porównaniu do 11 koni w podobnym wieku bez zmian typowych dla tej choroby. Ten sam zespół poddał analizie szlaki regulacyjne zależne od Ihh (30). Ihh jest jednym z trzech białek z grupy Hedgehog (białka te tworzą szlak przekaznictwa pełniący kluczową rolę w regulacji rozwoju zarodkowego ssaków) i bierze udział w cyklu rozwojowym chondrocytów. Ihh działa na komórki docelowe poprzez receptory transbłonowe Patched (Ptc1, Ptc2) i Smoothened (Smo). Aktywacja receptora Smo powoduje aktywację czynników transkrypcji Gli1, Gli2, and Gli3. Gli1 ma właściwości aktywujące geny docelowe, natomiast dwa pozostałe mają zarówno właściwości aktywujące, jak i hamujące. Próbkę chrząstki pobrane z bocznych i przyśrodkowych grzebieni bloczka kości udowej oraz z doogonowej części głowy kości ramiennej od źrebiąt zdrowych i dotkniętych OC poddano badaniu histologicznemu oraz wyizolowano RNA i wykonano real time PCR i hybrydyzację *in situ*. Wykazano wzmożoną ekspresję mRNA dla Ihh w głębszych warstwach zmienionej chrząstki stawowej, przy ekspresji minimalnej w chrząstce zdrowej. Ekspresja receptorów dla Ihh nie różniła

się znacząco w przypadku chrząstki zdrowej i dotkniętej osteochondrozą, a w przypadku Gli 1 była nawet niższa w chrząstce chorej niż w zdrowej. Nasuwa to wniosek, że wprawdzie Ihh odgrywa rolę w powstawaniu osteochondrozy, ale nie wpływa na komórki chrząstki na drodze auto- i parakrynowej, lecz działa w jakiś inny nieokreślony jeszcze sposób (30).

W innym doświadczeniu porównywaną ekspresję Ihh, PTH-rP, VEGF, PDGF-A, MMP-13 i MMP-3 w chrząstce grzebienia przyśrodkowego i bocznego bloczka kości udowej w grupie źrebiąt dotkniętych osteochondrozą oraz osobników zdrowych z użyciem mikrodyssekcji laserowej (31). Metoda ta jest nowoczesną metodą biologii molekularnej, pozwalającą precyzyjnie wyizolować pojedyncze komórki z heterogennego materiału w stanie niezmiennym morfologicznie oraz biochemicznie. Dzięki temu możliwa jest analiza konkretnych cech jedynie w komórkach, które są przedmiotem naszego zainteresowania. W opisywanym doświadczeniu stężenie wymienionych wcześniej substancji badano w poszczególnych populacjach komórek rosnącej kości: komórki leżących na granicy chrząstki i kości oraz komórek leżących w pobliżu kanałów chrzęstnych. Chrząstki pochodzące od 7 źrebiąt zaklasyfikowano jako dotknięte wczesną formą osteochondrozy, u 8 źrebiąt nie zaobserwowano zmian dotyczących badanych tkanek, dlatego też ta grupa koni stanowiła kontrolę. W porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej u źrebiąt wykazujących zmiany o charakterze osteochondrozy ekspresja genów kodujących MMP-13 i PDGF-A była wyraźnie zwiększona w chondrocytach wokół kanałów chrzęstnych, z kolei w chondrocytach leżących na granicy chrzęstno-kostnej odnotowano zwiększoną ekspresję genów kodujących PDGF-A i PTH-rP. Dodatkowo, analiza pełnej grubości chrząstki u źrebiąt z osteochondrozą wykazała wzrost ekspresji genów kodujących: Ihh, MMP-3 i MMP-13 w porównaniu do chrząstki pobranej od źrebiąt zdrowych.

W ostatnich latach przedmiotem wielu prac stało się badanie mazi stawowej od koni z osteochondrozą i postacią oddzielającą osteochondrozy. W mazi pobranej od zdrowych i chorych źrebiąt w różnym wieku (4,5; 5,5; i 13 miesięcy) mierzono m.in. stężenie substratów do syntezy kolagenu II CPII (C-Propeptide II) oraz produktów jego degradacji C2C (collagen type II cleavage) (32). Wraz z wiekiem źrebiąt malał stosunek substratów niezbędnych w syntezie kolagenu II do produktów jego degradacji (CPII /C2C). Stosunek ten był większy u koni z osteochondrozą, przy czym różnice znaczącą statystycznie widać było u zwierząt w wieku 5,5 miesiąca. Zjawisko

to świadczy o przewadze procesów syntezy kolagenu nad jego rozpadem w stawach dotkniętych osteochondrozą, jednak może być to zarówno przyczyną zaburzenia kostnienia śródczęstego, jak również świadczyć o toczącej się reakcji naprawczej w chorym stawie (32).

Rola insulinopodobnego czynnika wzrostu

Insulinopodobny czynnik wzrostu IGF (insulin-like growth factor-1 – IGF-1), inaczej somatomedyna C, jest jednym z dwóch insulinopodobnych czynników wzrostu produkowanych w wątrobie pod wpływem działania hormonu wzrostu (growth hormone – GH) z przedniego płata przysadki. Hormon wzrostu poprzez IGF-1 (w większym stopniu) i IGF-2 (w niewielkim stopniu) pobudza wzrost kości poprzez pobudzenie proliferacji chondrocytów w chrząstce nasadowej. Badanie przeprowadzone na 168 koniach gorąckrwiastych różnych ras, znajdujących się w 2 szpitalach w Belgii, wykazało wzrost stężenia całkowitego IGF-1 w surowicy dorosłych (starszych niż 15-miesięczne) koni chorych na osteochondrozę ($0,81 \pm 0,29$ ng/ml/kg m.c.), w stosunku do koni zdrowych ($0,70 \pm 0,19$ ng/ml/kg m.c.), co może sugerować zaangażowanie tego czynnika w patogenezie osteochondrozy u koni (33). Jednak w związku z faktem, że osteochondroza rozpoczyna się już u bardzo młodych źrebąt, jest mało prawdopodobne, że ten podniesiony poziom IGF-1 we krwi jest przyczyną pojawienia się zmian. Bardziej prawdopodobne jest, że poziom IGF-1 odzwierciedla procesy naprawcze zachodzące w uszkodzonej chrząstce, bowiem IGF-1 oprócz pobudzania wzrostu i proliferacji chondrocytów stymuluje te komórki do produkcji składników macierzy pozakomórkowej, m.in. kolagenu, proteoglikanu i hialuronianu (33).

Piśmiennictwo

1. Ytrehus B., Carlson C. S., Ekman S.: Etiology and pathogenesis of osteochondrosis. *Vet. Pathol.* 2007, **44**, 429-48.
2. Ekman S., Carlson S. C., van Weeren P. R.: Workshop report third international workshop on equine osteochondrosis, Stockholm, 29–30th May 2008. *Equine Vet. J.* 2009, **41**, 504-507.
3. Vander Heyden L., Lejeune J. P., Caudron I., Detilleux J., Sandersen C., Chavatte P., Paris J., Delière B., Serteyn D.: Association of breeding conditions with prevalence of osteochondrosis in foals. *Vet. Rec.* 2012, **172**, 68.
4. Lepeule J., Bareille N., Robert C., Ezanno P., Valette J. P., Jacquet S., Blanchard G., Denoix J. M., Seegers H.: Association of growth, feeding practices and exercise conditions with the prevalence of developmental orthopaedic disease in limbs of French foals at weaning. *Prev. Vet. Med.* 2009, **89**, 167-177.
5. Jonsson L., Dalin G., Egenvall A., Nasholm A., Roepstorff L., Phillipson J.: Equine hospital data as a source for study of prevalence and heritability of osteochondrosis and palmar/plantar osseous fragments of Swedish Warmblood horses. *Equine Vet. J.* 2011, **43**, 695-700.
6. Weaver M. P., Wilant L.: Owner survey of tarsocrural effusion (bog spavin) in Clydesdale horses. *Vet. Rec.* 2012, **170**, 286.
7. Wittwer C., Hamann H., Rosenberger E., Dist O.: Prevalence of osteochondrosis in the limb joints of south German Coldblood horses. *J. Vet. Med.* 2006, **53**, 531-539.
8. Lewczuk D., Bereznowski A., Hecold M., Klos Z.: Częstość występowania martwicy chrzęstno-kostnej u ogierów w zakładach treningowych – doniesienie wstępne. *Roczn. Nauk. Pol. Tow. Zootechn.* 2011, **3**, 31-38.
9. Furniss C., Carstens A., van den Berg S.: Radiographic changes in Thoroughbred yearlings in South Africa. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 2011, **82**, 194-204.
10. Van Grevenhof E. M., Ducro B. J., van Weeren P. R., van Tartwijk J. M., van den Belt A. J., Bijma P.: Prevalence of various radiographic manifestations of osteochondrosis and their correlations between and within joints in Dutch Warmblood horses. *Equine Vet. J.* 2009, **41**, 11-16.
11. Lykkjen S., Roed K., Dolvik N.: Osteochondrosis and osteochondral fragments in Standardbred trotters: prevalence and relationships. *Equine Vet. J.* 2012, **44**, 332-338.
12. Muirhead T., McClure J.T., Bourque A., Pack L.: Osteochondrosis of the occipital condyles and atlanto-occipital dysplasia in a Belgian horse. *Can. Vet. J.* 2003, **44**, 984-986.
13. Reiland S., Asheim A., Jeffcott L.B., Ekman S.: Spinal osteochondrosis in the horse. *Svensk-Veterinartidning* 1983, **35**, 63-65.
14. Beck C., Middleton D., Maclean A., Lavelle R.: Osteochondrosis of the second cervical vertebra of a horse. *Equine Vet. J.* 2002, **34**, 210-212.
15. Voute L. C., Henson F. M. D., Platt D., Jeffcott L. B.: Osteochondrosis lesions of the lateral trochlear ridge of the distal femur in four ponies. *Vet. Rec.* 2011, **168**, 265.
16. Olstad K., Ytrehus B., Ekman S., Carlson C. S., Dolvik I. N.: Epiphyseal cartilage canal blood supply to the tarsus of foals and relationship to osteochondrosis. *Equine Vet. J.* 2008, **40**, 30-39.
17. Olstad K., Ytrehus B., Ekman S., Carlson C. S., Dolvik I. N.: Epiphyseal cartilage canal blood supply to the metatarsophalangeal joint of foals. *Equine Vet. J.* 2009, **41**, 865-871.
18. Carlson C.S., Cullins L.D., Meuten D.J.: Osteochondrosis of the articularepiphyseal cartilage complex in young horses: evidence for a defect in cartilage canal blood supply. *Vet. Pathol.* 1995, **32**, 641-647.
19. Olstad K., Ytrehus B., Ekman S., Carlson C. S., Dolvik I. N.: Epiphyseal cartilage canal blood supply to the distal femur of foals. *Equine Vet. J.* 2008, **40**, 433-439.
20. Olstad K., Ytrehus B., Ekman S., Carlson C. S., Dolvik I. N.: Early lesions of articular osteochondrosis in the distal femur of foals. *Vet. Pathol.* 2011, **48**, 1165-1175.
21. Vander Heyden L., Lejeune J. P., Caudron I., Detilleux J., Sandersen C., Chavatte P., Paris J., Delière B., Serteyn D.: Association of breeding conditions with prevalence of osteochondrosis in foals. *Vet. Rec.* 2012, **172**, 68.
22. Lepeule J., Bareille N., Robert C., Ezanno P., Valette J. P., Jacquet S., Blanchard G., Denoix J. M., Seegers H.: Association of growth, feeding practices and exercise conditions with the prevalence of developmental orthopaedic disease in limbs of French foals at weaning. *Prev. Vet. Med.* 2009, **89**, 167-177.
23. Ralston S. L.: Hyperglycemia/hyperinsulinemia after feeding a meal of grain to young horses with osteochondritis dissecans (OCD) lesions. *Pferdeheilkunde* 1996, **3**, 320-322.
24. Pearce S. G., Firth E. C., Grace N. D., Fennessy P. F.: Effect of copper supplementation on the evidence of developmental orthopaedic disease in pasture-fed New Zealand Thoroughbreds. *Equine Vet. J.* 1998, **30**, 211-218.
25. Gee E., Davies M., Firth E., Jeffcott L., Fennessy P., Mogg T.: Osteochondrosis and copper: histology of articular cartilage from foals out of copper supplemented and non-supplemented dams. *Vet. J.* 2007, **173**, 109-117.
26. Van de Lesta C.H.A., Brama P.A.J., van El B., DeGroot J., van Weeren P. R.: Extracellular matrix changes in early osteochondrotic defects in foals: a key role for collagen? *Biochem. Biophys. Act.* 2004, **1690**, 54-62.
27. Van Weeren P. R., Barneveld A.: The effect of exercise on the distribution and manifestation of osteochondrotic lesions in the Warmblood foal. *Equine Vet. J.* 1999, **31**, 16-25.
28. Henson F. M., Davies M. E., Jeffcott L. B.: Equine dyschondroplasia (osteochondrosis) – histological findings and type VI collagen localization. *Vet. J.* 1997, **154**, 53-62.
29. Semevolos S. A., Brower-Toland B. D., Bent S. J., Nixon A. J.: Parathyroid hormone-related peptide and Indian hedgehog expression patterns in naturally acquired equine osteochondrosis. *J. Orthop. Res.* 2002, **20**, 1290-1297.
30. Stacy A., Semevolos M., Strassheim L., Haupt J., Nixon A.: Expression patterns of hedgehog signaling peptides in naturally acquired equine osteochondrosis. *J. Orthop. Res.* 2005, **23**, 1152-1159.
31. Riddick T. L., Dueterdieck-Zellmer K., Semevolos S. A.: Gene and protein expression of cartilage canal and osteochondral junction chondrocytes and full-thickness cartilage in early equine osteochondrosis. *Vet. J.* 2012, **194**, 319-325.
32. De Grauw J.C., Donabédian M., van de Lest C.H.A., Perona G., Robert C., Lepage O., Martin-Rosset W., Van Weeren P.R.: Assessment of synovial fluid biomarkers in healthy foals and in foals with tarsocrural osteochondrosis. *Vet. J.* 2011, **190**, 390-395.