

SLUTRAPPORT: Patomorfologi och immunbiologi vid Acquired Equine Polyneuropathy (AEP); en nyckel till etiologin? (SHF H-14-47-014, NFR 248341/E50)

Karin Hultin Jäderlund, NMBU

Bakgrund:

Från mitten av 1990-talet har en tidigare okänd neurologisk sjukdom hos häst uppmärksammats i Norge, Sverige och Finland. En forskarmöte avhölls i Helsingfors 2009, där namnet Acquired Equine Polyneuropathy (AEP) introducerades för denna sjukdom. Med stöd från Stiftelsen Hästforskning (V0747001) har vi tidigare genomfört en klinisk och epidemiologisk studie av AEP, som är en förvärvad polyneuropati, en sjukdom i nerverna, med överkotning på bakbenen som karakteristiskt kliniskt symptom.

Sjukdomen är besättningsrelaterad. Våra epidemiologiska data tillsammans med resultat från analyser av blod och foder samt patologianatomiska fynd gör att genetiska eller direkt infektiösa orsaker, såväl som metaboliska dysfunktioner och bristsjukdomar har kunnat uteslutas eller bedömas vara högst osannolika. En gemensam nämnare som förekommer i de allra flesta drabbade besättningar är inplastat vallfoder (hösilage). Detta är en vanlig utfodringsregim i häststallar nuförtiden, men var ovanligt på 90-talet. Prover tagna av grovfodret visade dålig hygienisk kvalitet i en tidigare studie, men kvaliteten på de foderprover från gårdarna som inkluderades i projektet V0747001 var inte lika ensartad.

I grava fall av AEP blev hästar liggande utan förmåga att ta sig upp, vilket resulterade i avlivning. Allvarlighetsgraden liksom tidsförloppet för kulmination och avklingande av symptom varierade betydligt mellan de sjuka hästarna. Mikroskopiska undersökningar av nerverna visade degenerativa förändringar både i nervernas myelinsidor och inne i deras axoner. Förändringar sågs i lika hög grad i nerver från fram- och bakben. Inflammatoriska mononukleära celler återfanns i och kring de skadade nervfibrerna. De Schwannska cellerna, de celler som bildar myelinsidorna, innehöll en ökad mängd cytoplasma. I de Schwannska cellernas cytoplasma fanns inklusioner med ett utseende unikt för AEP.

Trots den forskning som har utförts hittills, är etiologin till AEP inte fastställd. Huvudhypotesen, att det finns en utlösande miljöfaktor i form av någon foder-relaterad toxisk substans i grovfodret som orsakar AEP genom att negativt påverka nervernas struktur och funktion, står dock kvar. De förändringar som ses i nerverna under sjukdomens gång kan vara ledtrådar till etiologin. Utseendet av den demyeliniserande processen i nerverna indikerade att AEP utlöses eller förvärras av immunmedierade händelser. Samtidigt med detta hade unika inklusionskropparna av okänt ursprung upplagrats i de Schwannska cellerna. Det var inte möjligt att avgöra vad som kom först, inklusionskroppar eller inflammation. Då detta bedömdes vara viktiga pusselbitar för att förstå sjukdomsutvecklingen, fanns ett behov av fortsatta studier.

Syftet med detta forskningsprojekt (SHF H-14-47-014, NFR 248341/E50) har därför varit att undersöka patobiologin inklusive immunologiska reaktioner på vävnads-, cell-, organell- och molekylärbiologisk nivå hos hästar i olika stadier av nervsjukdomen "Acquired Equine Polyneuropathy" (AEP), samt att relatera de strukturella förändringarna i nerverna till de kliniska symptomen på en tidsaxel. Målet med detta har varit att kunna förklara viktiga delar i patogenesen för sjukdomen, och därigenom komma närmare etiologin.

Sammanfattningsvis har projektet i all huvudsak berört följande fyra frågeställningar:

- 1) Reflekteras de kliniska symptomen vid AEP direkt av de histopatologiska förändringarna?
- 2) Vad består inklusionskropparna i de Schwannska cellerna av?
- 3) Utlöses de kliniska symptomen vid AEP av att en etiologisk faktor direkt eller indirekt triggar en immunologisk reaktion mot den egna nervvävnaden?
- 4) Har hästar med AEP antikroppar mot gangliosider i serum under sjukdomsperioden?

Material och metoder:

1) För att avgöra hur de kliniska symptomen vid AEP reflekteras av de histopatologiska förändringarna, har patomorfologiska avvikelser som ses i nervbiopsier från affekterade hästar relaterats till grad av kliniska symptom och tid efter symptomdebut. Dessutom har integriteten och funktionen i de rent motoriska nervfibrerna evaluerats med den elektrofysiologiska metoden *transkraniell magnetstimulering*, TcMS. Denna metod har inte tidigare använts för evaluering av hästar med polyneuropatier.

Affekterade hästar genomgick en klinisk och neurologisk undersökning och deras rörelser videofilmades. De kliniska symptomen graderades enligt en tidigare etablerad semikvantitativ skala. Graderingen gjordes vid åtminstone två tillfällen, vid symptomdebut och vid biopsitagning. Nerv- och muskelbiopsier togs i anslutning till avlivning, från ett par överlevande hästar togs endast muskelbiopsier. Nervbiopsier togs från diverse olika nerver; från fram- och bakben, från båda kroppshalvorna, från distala och proximala delar av nerver, och från sensoriska och blandade (innehållande motoriska och sensoriska nervfibrer) nerver. Paraffinbäddade nerver undersöktes med avseende på epineurala, interstitiella och vaskulära avvikelser. Myeliniserade nervfibrer karakteriserades med hjälp av semi-tunna snitt och «teased nerve fibres». För identifikation av eventuella subcellulära förändringar och patologi i omyeliniserade nervfibrer nyttjades transmissionselektronmikroskopi. Olika typer av förändringar i nerverna graderades. Utbredning och grad av nervfiberförändringar jämfördes mellan hästar med mindre än fyra veckors sjukdomstid och hästar med mer än 8 veckors sjukdomstid. Dessutom evaluerades beroendeförhållandet mellan typ och grad av lesioner i nervbiopsier och klinisk grad.

I en stor besättning med 14 affekterade hästar har vi relaterat de kliniska symptomen till funktionen i de motoriska nerverna genom att göra neurologiska undersökningar och TcMS. Undersökningarna på de individuella hästarna gjordes i två omgångar med 4 månaders mellanrum. Vid TcMS-testningen var hästarna sederade.



Vid TcMS stimuleras kortikala motorneuron av en magnetspole hållen mot pannan på hästen. Den nervimpuls som utlöses av detta fortleds via motoriska nervceller i ryggmärg och perifera nerver och resulterar i depolarisering av muskelceller. Muskelsammandragningen registreras av ytelektroder placerade över förutbestämda muskler. Tiden mellan stimulering och muskelpotential (latenstiden) samt amplituden på potentialen evalueras. En försenad potential och/eller en låg amplitud innebär att de motoriska nervcellerna fungerar undermåligt.

2) För att utröna vad inklusionskropparna i de Schwannska cellerna består av, har nervbiopsier från affekterade hästar undersökts med immunhistokemiska markörer för dysfunktionellt endoplasmiskt reticulum, mass-spektrometri för påvisande av upp- resp. nedreglerade proteiner samt *luminiscent conjugated oligothiophenes*, LCO. LCO är en metod för att specifikt påvisa protein som har aggregerat.

3) För att fastställa om de kliniska symptomen vid AEP utlöses av att en etiologisk faktor direkt eller indirekt triggat en immunologisk reaktion mot den egna nervvävnaden, har vi gjort immunhistokemiska analyser på «teased nerve fibres» och snitt. Vi har typat och lokaliserat inflammatoriska celler i och invid nervfibrerna till T-celler, B-celler, histiocyter och/eller makrofager, färgat för FoxP3-positiva regulatoriska T-celler samt analyserat för ekvint IgG och komplementfaktorerna C1q och C5b9.

Hos hästar affekterade av sjukdomen *polyneuritis equi*, en sedan länge känd immunmediert neurologisk sjukdom hos häst, har cirkulerande antikroppar mot *Equine myelin basic protein 2* (MP2) tidigare rapporterats. Med bakgrund i detta, har vi låtit analysera serum från 5 AEP-affekterade och 5 kontrollhästar avseende MP2-antikroppar.

4) Vi har vi modifierat en enzymkopplad immunadsorberande analys (ELISA-metod) så att den kan användas för anti-gangliosider i serumprov från häst, en metod som annars används vid diagnostik av sjukdomar i perifera nervsystemet på människor. Gangliosider är yt-glykolipider som finns på bland annat nervceller. Med den ELISA-testen har vi analyserat hästar med AEP avseende antikroppar mot gangliosider i serum under sjukdomsperioden.

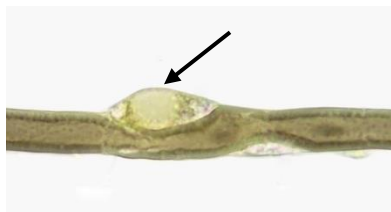
Parallellt med detta har vi under projekttiden samlat information om och material från nya fall av hästar med AEP, och följt upp gamla fall som har överlevt sjukdomen.

Mer detaljerad information avseende material och metoder för vissa delar av 1), 2) och 3) finns beskriven i referenserna 26 och 22. För material och metoder avseende follow-up-studien, se publikation 23. En stor del av dessa studier finns sammanfattade i en doktorsavhandling om AEP (24) framlagd i mars 2017.

Resultat:

1) De kliniska symptomen vid AEP reflekteras inte direkt av de histopatologiska nervfiberförändringarna.

Ett gemensamt fynd hos de affekterade hästarna var att de grova myeliniserade nervfibrerna var sjukligt förändrade, påfallande ofta med inklusioner i de Schwannska cellerna.



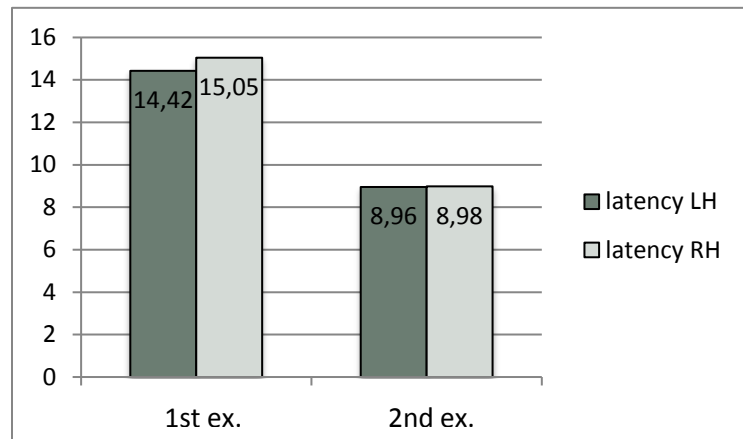
Bilden till vänster visar cirka 175 μm av en "teased nerve fibre", i detta fall en grov myeliniserad nervfiber, från en häst diagnosticerad med AEP. Pilen pekar på en inklusionskropp i cytoplasman till en Schwannsk cell.

De patomorfologiska förändringarna är exceptionellt likartade i nerverna från de olika affekterade hästarna, oberoende av vilken nerv eller var längs nerven man har tagit provet från, och likaså oberoende av graden av kliniska symptom och vilken tid som har förflutit efter symptomdebut. Lesionerna i de perifera nerverna är mycket mer vitt spridda i det perifera nervsystemet än vad den kliniska bilden indikerar. Även hos hästar som har en kort sjukdomstid (1-4 veckors anamnes) visar en del nervfibrer kroniska förändringar, representativa för upprepade episoder av de- och remyelinisering av fibrerna. Nervfiberaffektion ses i både rent sensoriska nerver och i

blandade nerver. Utseendemässigt är det inte möjligt att skilja de motoriska nervfibrerna från de sensoriska, och alla s k motoriska nerver innehåller också sensoriska fibrer. Däremot resulterar som regel en affektion av motoriska nervfibrer i en neurogen atrofi av innerverad muskel. Något oväntat ses ingen uttalad neurogen muskelatrofi vid AEP.

För att med en funktionell metod få en uppfattning om eventuell sjuklig påverkan på motoriska nervfibrer vid AEP, har vi gjort TcMS. Med denna metod har vi kunnat konstatera att även motoriska nervfibrer är involverade i sjukdomsbilden och är dysfunktionella. Latenstiden (d v s tiden från stimulering av motorcortex till

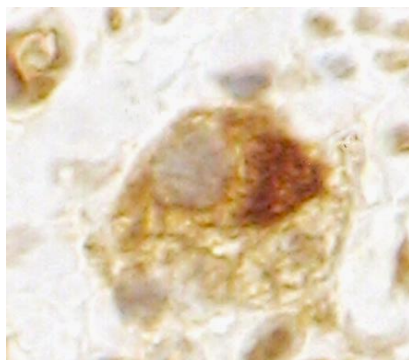
muskelkontraktion) är förlängd vid AEP. Latenstiden är på väg att normaliseras igen 4 månader efter den första undersökningen, när de affekterade hästarna även kliniskt är på väg att normaliseras. På individbasis var det en korrelation mellan grad av symptom och fördröjd latenstid, där de kliniskt mest affekterade hästarna hade de längsta latenstiderna. Figuren till höger visar ett medeltal för latenstiderna till höger respektive vänster m. tibialis cranialis vid första respektive andra undersökningen.



LH = left hind limb, RH= right hind limb, ex. = examination

Den histopatologiska bilden är typisk för diagnosen AEP, men graden av histopatologiska förändringar reflekterar inte vare sig utbredningen av klinisk dysfunktion i nervsystemet eller skede i sjukdomsutvecklingen. Det mikroskopiska utseendet talar för en primär inverkan på metabolismin i de Schwannska cellerna, resulterande i uppbyggnaden av inklusioner och därpå följande inflammatoriska förändringar.

2) Inklusionerna är immunopositiva för markörer för dysfunktionellt endoplasmiskt retikulum (rER), vilket indikerar att inklusionerna består av en ackumulering av felveckat eller oveckat protein. Med LCO har vi påvisat aggregerat protein i affekterad nerv. Via mass-spektrometri har vi kunnat konstatera att nio olika proteiner är uppregrerade i nerverna hos affekterade hästar.

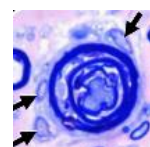


Bilden till vänster visar en inklusionskropp i cytoplasman i en Schwannsk cell, immunopositiv (mörkt brun) för en markör för dysfunktionellt endoplasmiskt retikulum. Bilden till höger visar aggregerat protein i en nerv från AEP-häst med hjälp av LCO-metoden. Färgsammansättningen på spektrat i den ljusa fläcken är entydigt med att detta är aggregerat protein.



Vid mass-spektrometri av nerver från AEP-hästar kunde totalt ungefär 2000 olika proteiner identifieras. Endast nio av dessa proteiner var uppreglerade jämfört med kontroller. Bland dessa nio proteiner finns det några få stycken som i sin uppbyggnad är sådana att de kan ha en tendens att aggregera. Det återstår att med laser capture, immunhistokemi och western blot undersöka aggregaten/inklusionerna specifikt för dessa kandidatproteiner.

3) De inflammatoriska cellerna inne i myelinskidorna har karakteriserats som makrofager. Utseendet av nervfibrer som har invaderats av dessa makrofager talar för att de har kommit dit för att själva aktivt bryta ned myelinet. (D v s de är inte bara där för att städa upp efter någon annan myelinskadande process.) Även T-lymfocyter och ett fåtal B-lymfocyter återfinns inne i nerverna, men utanför själva nervfibrerna (de ligger istället i endoneurium). Vi har också funnit en immunopositivitet för IgG riktad mot nervfibrerna.



I bilden ovan till vänster ses cirka 175 μm av en "teased nerve fibre" utsatt för aktiv demyelinisering. Demyeliniseringen är associerad med en invasion av mononukleära celler (med blåaktigt färgade kärnor) in i myelinskidan, se de svarta pilarna. I bilden till höger ses ett semi-tunt snitt av en motsvarande nervfiber i tvärsnitt. De mörkblå koncentriska ringarna är en myelinskida under nedbrytning.

Trots upprepade försök och modifieringar har de immunhistokemiska analyserna avseende FoxP3-positiva regulatoriska T-celler och komplementfaktorn C1q inte alls fungerat. De immunhistokemiska analyserna av komplementfaktor C5b9-förekomst inne i eller invid nervfibrerna har varit svåra att tolka, och har inte gett några konklusiva resultat hittills.

Inga cirkulerande antikroppar mot *Equine myelin basic protein 2* (MP2) kunde detekteras i serum från AEP-hästar.

Utifrån resultaten i detta projekt bedömer vi att en immunologisk reaktion mot den egna nervvävnaden kan ha betydelse för de kliniska symptomen vid AEP, och att autoimmunitet kan spela en roll. Det är dock mest sannolikt att den immunologiska reaktionen mot myelinet är en följd av någon förändring i sammansättningen av myelinskidan, beroende på att en etiologisk faktor primärt har påverkat de Schwannska cellernas maskineri för proteinsyntes.

4) Serum från AEP-hästar har varit positiva för IgM-antikroppar mot en specifik gangliosid. Vi betraktar det fyndet som preliminärt tills vidare, eftersom det behövs mer data och bearbetning av resultaten innan vi kan dra några konkreta slutsatser av det fyndet.

Vi utesluter inte att dessa cirkulerande anti-gangliosider kan ha en betydelse för sjukdomsutvecklingen vid AEP. Om så är fallet, är de sannolikt en del i den sekundära immunologiska reaktionen mot myelinskidorna, och inte ett primärt fenomen direkt utlöst av en etiologisk faktor.

I vår follow-up studie framgick att prognosen är god för de AEP-hästar som under sjukdomstiden behåller förmågan att resa sig upp och förbli stående av egen kraft. En majoritet av de överlevande hästarna presterar återigen på samma eller högre nivå efter genomgången sjukdom. För många av de överlevande hästarna är sjukdomsperioden dock lång. Det kan ta många månader upp till något år innan

de slutar visa symptom och kan börja tränas igen. För cirka 1/3 av de insjuknade hästarna är AEP tyvärr en fatal sjukdom. De blir avlivade, huvudsakligen på grund av att de har blivit liggande, oförmögna att resa sig upp.

Diskussion:

Den bimodala polyneuropati som ses vid AEP, med en kombination av cytoplasmatiska inklusionskroppar i de Schwannska cellerna och upprepad inflammatorisk demyelinisering med påföljande remyelinisering av nervfibrerna, är unik för AEP. Resultat som framkommit i detta projekt talar för att det primära skeendet i nervsystemet är en negativ inverkan på proteinprocesseringen i de Schwannska cellerna. Därigenom påverkas antagligen funktionen, kompositionen och/eller stabiliteten av kompakt myelin i nervfibrerna negativt. Detta i sin tur ser ut att leda till en autoimmun reaktion mot nervtrådarnas myelinskidor. Från experimentella studier vet man att felveckning och aggregering av proteiner kan förstärka immunogeniciteten av proteiner och framkalla autoimmunitet.

Kända etiologiska faktorer som rent generellt kan interferera direkt eller indirekt med proteinveckning och/eller räddningsmekanismer för felveckat protein i det endoplasmatiska retiklet är oxidativ stress, toxinexponering, åldrande och genetiska sjukdomar. Toxinexponering via fodret är den sannolika etiologin bland dessa potentiella orsaker när det gäller AEP. Det finns dock inget känt toxin som leder till dylika inklusioner i de Schwannska cellerna, eller som resulterar i en bimodal polyneuropati liknande den vid AEP.

Det är en brist på samstämmighet mellan tid från symptomdebut, grad av kliniska symptom och omfattning av patomorfologiska nervförändringar vid provtagning. Man kan därför spekulera i om symptom vid AEP kan uppstå till följd av faktorer som är osynliga med de mikroskopiska tekniker vi har nyttjat. Exempelvis skulle det kunna vara humoral faktorer såsom neutraliserande antikroppar riktade mot jonkanaler i nervtrådarnas cellmembran. Sådana antikroppar finns beskrivna vid likartade sjukdomar hos människor och försöksdjur, och kan interferera med både nervimpulskonduktion och neurotransmission. Den immunopositivitet för immunglobuliner som har påvisats i nervfibrerna är en indikation på att humoral faktorer kan vara inblandade i sjukdomsutvecklingen. Det återstår att studera om dessa immunglobuliner har något gemensamt med anti-gangliosider i serum.

Analys av anti-gangliosider i serum kan möjligtvis bli ett diagnostiskt verktyg för AEP i framtiden, men vi behöver bearbeta vårt material ytterligare innan vi är där. Vi ser framför oss att serum-anti-gangliosider kan komma att bli en värdefull biomarkör både för affekterade hästar och för icke-affekterade /subkliniska/presymptomatiska hästar i en besättning med AEP. Om så är fallet, kan någon specifik immunmodulerande behandling bli aktuell som en konsekvens av det. Det kan möjligtvis också användas för att få en insikt i om hästar i en besättning utan öppet affekterade djur har varit i kontakt med den etiologiska faktorn innan någon visar några symptom. Därigenom skulle man förhoppningsvis kunna vidta åtgärder och helt förebygga sjukdomsutbrott. Även TcMS, som är en icke-invasiv och relativt enkel diagnostisk metod, kan användas på motsvarande sätt.

Kvantitativa RT-PCR analyser av immunologiska regulatorer (cytokiner, kemokiner) ingick i planerna för projektet, och material till detta har förberetts, men analyserna har inte gjorts. För att få en helhetsbild av vilken typ av immunkaskad och sekvens av reaktioner som förekommer under sjukdomsförloppet har vi önskat att med semikvantitativ metod (immunhistokemi) först lyckas identifiera komplementfaktorer och FoxP3-positiva regulatoriska T-celler. Detta har vi inte lyckats med ännu.

Våra framtidsplaner innefattar att slutföra studierna av anti-gangliosider samt proteinalyser av inklusionerna. De kommande åren önskar vi sedan gå vidare med att mer målinriktat leta efter sjukdomsframkallande faktorer i vallfoder genom att utsätta odlade Schwannska celler för bland annat extrakt från misstänkt foder och konkreta toxin-kandidater.

Publikationer och presentationer 2015-2017:

1. Polyneuropati - mystisk nervsjukdom. Gröndahl G. Faktasidor på webben, HästSverige 2015-01-04 <http://www.hastsverige.se/polyneuropati-hos-hastar.html> samt <http://www.hastsverige.se/polyneuropati-hos-hastar.html#vetamest>
2. Polyneuropati hos häst ojämnt fördelad. Gröndahl G. Pressmeddelande, SVA 2015-01-13 <http://www.sva.se/djurhalsa/hast/nervsjukdomar/polyneuropati/polyneuropati-hos-hast-ojamnt-fordelad>
3. Nervsjukdomen polyneuropati hos häst slår olika i olika regioner. Wolff C, Egenvall A, Hanche-Olsen S, Gröndahl G. Forskningsnytt, Framtidens djurhälsa och djurvälstånd, SLU 2015-01-13 <http://www.slu.se/polyneuropatihast>
4. Besättningsrelaterad polyneuropati på häst - med fokus på fall, fallbesättningar samt förekomst av mögelsvampar och neurotoxiska substanser i inplastat vallfoder. Forskningsprojektinformation på webben, SVA 2015-03-16 <http://www.sva.se/forskning-och-utveckling/aktuella-forskningsprojekt/besattningsrelaterad-polyneuropati-pa-hast---med-fokus-pa-fall-fallbesattningar-samt-forekomst-av-mogelsvampar-och-neurotoxiska-substanser-i-inplastat-vallfoder1>
5. Polyneuropati hos häst. Gröndahl G. Faktasida på webben, SVA 2015-03-17. <http://www.sva.se/djurhalsa/hast/nervsjukdomar/polyneuropati>
6. Besättningsrelaterad polyneuropati på häst - med fokus på fall, fallbesättningar samt förekomst av mögelsvampar och neurotoxiska substanser i inplastat vallfoder (V0747001). Gröndahl G. Slutrapport, Stiftelsen Hästforskning 2015
7. AEP hos hest. Hanche-Olsen S, Hultin Jäderlund K. Websida, NMBU, 2015, uppdaterad 2017. <https://www.nmbu.no/tjenester/uds/hest/forskning/node/22790>
8. Förvärvad polyneuropati på häst - Gröndahl G. Kompendium Hippocampusdagarna 2015, SLU/SVA
9. Föredrag för hästägare, Hästägarmöte, Täby Galopp, Täby 2015: Gröndahl G. Polyneuropati hos hästar
10. Föredrag för hästägare och hästnäringen, Hippocampusdagen, SLU och SVA, okt 2015: Gröndahl G. Förvärvad Polyneuropati
11. Seminar, NMBU, 2015: Hanche-Olsen S. Acquired Equine Polyneuropathy (AEP) 1995-2015. Hva har vi lært i løpet av 20 år?
12. Föredrag för veterinärer, Evidensia Hästkliniken Täby, Täby, november 2015: Gröndahl G. Polyneuropati hos hästar
13. Föredrag för PhD-kandidater, 2015: Hanche-Olsen S. Acquired Equine Polyneuropathy (AEP) 1995-2015. Hva har vi lært i løpet av 20 år?

14. Föredrag, Nordiske hund- og hestemassasjeskolen, jan 2016: Hanche-Olsen S. Hestenevrologi inkl. AEP
15. Seminar on neurology and neuropathology, SVA, föreläsningar, 1 dag, 2016: Gröndahl G., Hultin Jäderlund K, Hanche-Olsen S, Mohseni S., Matiasek K.
16. Muntlig presentation och abstract vid 10th International Conference on Equine Infectious Diseases, Buenos Aires, Argentina, 2016: Are any microbes involved in the riddle of acquired equine polyneuropathy? Gröndahl G, Hultin Jäderlund K, Hanche-Olsen S. Journal of Equine Veterinary Science, 2016, 39, S27
17. Föredrag för hästägare och hästgymnasieelever, Stiernhööksgymnasiet, Rättvik 2016: Gröndahl G. Förvärvad Polyneuropati på häst ("Acquired Equine Polyneuropathy")
18. Föredrag för Svenska Djurskyddsföreningen, juni 2016: Gröndahl G. Förvärvad Polyneuropati på häst ("Acquired Equine Polyneuropathy")
19. Föredrag för travtränare, Stig H Johansson Akademin, augusti 2016: Gröndahl G. Förvärvad Polyneuropati på häst ("Acquired Equine Polyneuropathy")
20. Föredrag för forskare, SVA oktober 2016: Gröndahl G. Transkraniel magnetstimulering- en ny metod för att mäta perifer nervfunktion
21. Muntlig presentation vid International Veterinary Chiropractic Association Conference, Oslo, nov 2016: Hanche-Olsen S. Acquired Equine Polyneuropathy (AEP) 1995-2015. What do we know after 20 years with the disease?
22. Muntlig presentation vid ECEIM congress, Helsinki, 2016: Transcranial magnetic stimulation unravels motor impairment in knuckling horses affected by Acquired Equine Polyneuropathy. May A, Hanche-Olsen S, Gröndahl G, Walendy L, Hultin Jäderlund K, Matiasek K, Goehring L.
23. Hanche-Olsen S, Kielland C, Ihler CF, Hultin Jäderlund K.: Long-term follow-up of Norwegian horses affected with acquired equine polyneuropathy. Equine Veterinary Journal, 2017. DOI:10.1111/evj.12674.
24. Hanche-Olsen S. Acquired Equine Polyneuropathy - clinical, pathological and epidemiological aspects. Ervervet polyneuropati hos hest – kliniske, patologiske og epidemiologiske aspekter. Philosophie Doctor (PhD) Thesis NMBU 2017:15. ISBN 978-82-575-1988-9
25. Muntlig presentation vid Nordic Veterinary Neurology Meeting, Oslo, april 2017: Hanche-Olsen S. Acquired Equine Polyneuropathy - clinical, pathological and epidemiological aspects.
26. Hanche-Olsen S, Matiasek K, Rosati M, Molin J, Hahn C, Hultin Jäderlund K, Gröndahl G.: Acquired equine polyneuropathy of Nordic horses - a conspicuous inclusion body Schwannopathy. Neuromuscular Disorders, (2017), <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.nmd.2017.06.005>

Tack:

Stort tack till samtliga medförfattare, laboratoriepersonal och andra medarbetare på NMBU, SVA, SLU, Linköpings Universitet och Ludwig Maximilians Universität i Munchen, alla hestagare som vi har samarbetat med för att samla data till projektet, och till Stiftelsen Hestforskning samt Norges Forskningsråd med medverkan från Norsk Hestesenter och Jordbruksavtalen för ekonomiskt bidrag.

Slutsatser (gällande nytta med råd till näringen):

Detta forskningsprojekt om den allvarliga nervsjukdomen polyneuropati (AEP) hos häst har gett en mer detaljerad bild av sjukdomsmekanismerna i nerverna under pågående sjukdom. Vi vet fortfarande inte exakt vad som förorsakar AEP, men misstankarna om att det är något toxin i inplastat grovfoder (hösilage) står kvar. Genom att kartlägga skeendena i de sjuka nervfibrerna har vi nått viktiga kunskaper för att kunna gå vidare med forskning runt den exakta grundorsaken till sjukdomen. Vi har fått fram att det är de Schwannska cellerna, den celltyp som bildar myelinskidan kring en nervfiber, som drabbas först i den kedja av händelser som resulterar i nedbrytning och dålig funktion av nervfibrerna. Vi har också sett hur dessa cellers struktur primärt förändras genom att inklusionskroppar ackumuleras i det endoplasmatiska retiklet.

Vi vill kunna testa olika substansers inverkan på dessa celler utan att behöva utsätta friska hästar eller andra försöksdjur för potentiellt giftiga ämnen. Vi är nu redo att odla Schwannska celler i cellkulturer. Därefter kan vi «mata» de odlade cellerna med olika suspekta ämnen, till exempel extrakt från misstänkt foder eller konkreta toxin-kandidater, och studera hur de odlade cellerna reagerar.

Vi har dessutom kunnat visa att den icke-invasiva diagnostiska metoden TcMS är användbar för att bedöma graden av dysfunktion i nervsystemet hos hästar med AEP. Vi har också anpassat en ELISA-metod för analys av anti-gangliosider i hästserum, och vi har med den metoden hittat att affekterade hästar är sero-positiva för IgM-antikroppar mot en specifik gangliosid. Det betyder att ett enkelt blodprov i framtiden kanske kan användas i diagnostiskt syfte.

AEP är i grunden en sjukdom som går över med tiden. Vad gäller prognosen för insjuknade hästar, är den god för de AEP-hästar som under sjukdomstiden behåller förmågan att resa sig upp och förbli stående av egen kraft. En majoritet av de överlevande hästarna presterar återigen på samma eller högre nivå efter genomgången sjukdom. För många av de överlevande hästarna är sjukdomsperioden dock flera månader till något år lång. För cirka 1/3 av de insjuknade hästarna är AEP tyvärr en fatal sjukdom. De blir avlivade, huvudsakligen på grund av att de har blivit liggande, oförmögna att resa sig upp.

Resultatförmedling till näringen:

Information om det aktuella kunskapsläget för sjukdomen AEP har fortlöpande förmedlats till hästnärings, allmänheten, veterinärer och forskare i ett antal populärvetenskapliga och vetenskapliga publikationer som getts ut i tryckt skrift och på internet, samt presenterats vid flera möten, se lista ovan.

Till detta kommer ett antal intervjuer av deltagare i projektgruppen i facktidningar inom hästnärings, dagspress, samt radio och TV, både i Sverige och Norge under dessa år. Projektet har också legat till grund för Siv Hanche-Olsens doktorsavhandling om polyneuropati.

Nedan anges ett urval av länkar till aktuella websidor, reportage i media m m.

<http://sverigesradio.se/sida/artikel.aspx?programid=161&artikel=6535994>

https://issuu.com/cheval2/docs/cheval_1-2017/64

<http://sverigesradio.se/sida/artikel.aspx?programid=161&artikel=6405807>

http://www.tv4play.se/program/trav-och-galopp?video_id=3046585

<http://www.sva.se/djurhalsa/hast/nervsjukdomar-hast/polyneuropati-hast>

<http://www.agria.se/hast/artiklar/sjukdomar-och-skador/nervsjukdom-ger-snubbliga-hastar/>

<http://www.hippson.se/artikelarkivet/veterinar/manga-fragetecken-kring-fruktad-nervsjukdom-dar.htm>

<https://www.travronden.se/amnen/polyneuropati>

<http://www.universitetsdjursjukhuset.se/nyheter-pa-universitetsdjursjukhuset/2015/1/polyneuropati-mystisk-nervsjukdom/>

<https://www.svenskgalopp.se/artikel;jsessionid=71BLXsFWGyyvcY1JQhQ524hWnS2pyM9bTDhfv7CnZw4pcrvnMTq!-491169252?article=1.427077&defaultMenuId=true>

<http://www.vare dyr.no/sykdommer/jobber-for-a-finne-grunnen-til-mystisk-hestesykdom>

