



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap

Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Fång hos häst och dess association till grovtarmsstörningar

Julia Strandberg

*Uppsala
2018*

Fång hos häst och dess association till grovtarmsstörningar

Laminitis in the horse and its association to disturbances in the hindgut

Julia Strandberg

Handledare: *Cecilia Müller, Institutionen för husdjurens utfodring och vård*

Examinator: *Maria Löfgren, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2018

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2018:76

Elektronisk publicering: <https://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: *aminer, bete, endotoxiner, exotoxiner, icke-strukturella kolhydrater, inflammatoriska cytokiner, kolhydrater, lameller, matrix metalloproteinaser, fruktaner, spannmål, stärkelse, vallfoder*

Keywords: *amines, carbohydrates, endotoxins, exotoxins, forage, fructans, grain, inflammatory cytokines, lamellae, matrix metalloproteinases, non-structural carbohydrates, pasture, starch*

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för husdjurens utfodring och vård

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning	3
Material och metoder	3
Litteraturoversikt.....	3
Fång hos häst.....	3
Kolhydrater i hästens foder	4
Hästens digestionsorgan och normala grovtarmsfunktion	4
<i>Hästens digestion och nedbrytning av kolhydrater.....</i>	<i>4</i>
<i>Grovtarmens digestion.....</i>	<i>5</i>
Hästhoven.....	5
<i>Hovens lamellära lager.....</i>	<i>6</i>
<i>Vad händer i hoven vid fång?</i>	<i>7</i>
Fång associerad med grovtarmsstörningar	7
<i>Fång associerad med överintag av stärkelse</i>	<i>8</i>
<i>Betesassocierad fång och fruktaner</i>	<i>8</i>
<i>Grovtarmens mikrobiota och laktatproduktion vid grovtarmsstörningar.....</i>	<i>9</i>
<i>Möjliga orsaker till fång associerad med grovtarmsstörningar</i>	<i>9</i>
<i>Aminer.....</i>	<i>10</i>
<i>Endotoxiner.....</i>	<i>10</i>
<i>Exotoxiner och matrix metalloproteinaser (MMPs).....</i>	<i>11</i>
<i>Inflammatoriska cytokiner</i>	<i>11</i>
Diskussion	12
Litteraturförteckning	15

SAMMANFATTNING

Fång är ett systemiskt tillstånd som uppenbarar sig i hoven och innebär en inflammation av hovens lameller. Vid fång kommer förbindelsen mellan hovbenet och hovväggen att upphöra och den drabbade hästen utvecklar olika symptom, bl.a. hälla, och kan drabbas av hovbenssänkning eller hovbensrotation. Fång kan orsakas av olika faktorer, och har bland annat associerats till grovtarmsstörningar. Syftet med denna uppsats är att ta reda på sambandet mellan grovtarmsstörningar och fång.

Normalt kommer hydrolyserbara kolhydrater som stärkelse att smältas i tunntarmen, och fermenterbara kolhydrater som fruktaner att jäsas i grovtarmen. Vid överintag av dessa icke-strukturella kolhydrater kan störningar i grovtarmen uppkomma, som i sin tur ökar risken för fång. Fång kan induceras genom att administrera hästar med höga doser av stärkelse eller fruktantypen inulin.

Vid fång associerad till grovtarmsstörningar kommer grovtarmens mikrobiota förändras, grampositiva bakterier som *Streptococcus* spp. proliferera, mjölksyra ansamlas och tarmepitelet skadas. Detta leder till ökad absorption av laktat och triggerfaktorer från tarmlumen till blodet. Olika faktorer har undersökts i flertalet studier för att klarlägga sambandet mellan störningar i grovtarmen och fång, och olika ämnen verkar kunna ha betydelse som triggerfaktorer i sjukdomsutvecklingen. Aminer är potentiella sådana faktorer vid utvecklingen av fång, då koncentrationen av dessa i hästens grovtarm kan öka till följd av överintag av icke-strukturella kolhydrater, och de verkar ha en effekt på den vaskulära funktionen. Andra möjliga faktorer är endotoxiner frisatta från lyserade gramnegativa bakterier i grovtarmen, där en del verkar ha förmågan att separera lamellerna i hoven. Däremot verkar inte administrering av endotoxiner i sig ha förmågan att inducera fång. Vissa bakteriella exotoxiner kan aktivera matrix metalloproteinaser (MMPs) som bryter ner lamellernas basalmembran i hoven, och aktiviteten av vissa MMPs har påvisats vara högre i hovar påverkade av fång. Ytterligare en möjlig triggerfaktor är inflammatoriska cytokiner som i en studie har påvisats öka frisättningen av pro-MMP-9 från lamellerna i hoven.

Slutsatsen är att grovtarmsstörningar orsakade av överkonsumtion av icke-strukturella kolhydrater kan öka risken för fång, och att det sker en ändring i grovtarmens mikrobiota som kan leda till att olika triggerfaktorer frisätts från tarmen vilka kan bidra till sjukdomsutvecklingen i hoven. Det finns olika teorier kring vilka triggerfaktorerna är, och möjligtvis kan flera triggerfaktorer verka parallellt vid sjukdomsutvecklingen. För att ta reda på huruvida det är en faktor eller flera som är viktiga för patogenesen vid fång associerad till grovtarmsstörningar, och vilka dessa är, krävs mer forskning.

SUMMARY

Laminitis is a systemic disease that affects the hoof with inflammation of the hoof lamellae. The connection between the coffin bone and the hoof wall fails and the horse develops different symptoms, e.g. lameness. The coffin bone can also rotate or sink inside the hoof capsule. Different factors can cause laminitis, amongst them disturbances in the hindgut. The aim of this paper is therefore to investigate the relationship between laminitis and disturbances in the hindgut.

In the horse, hydrolyzable carbohydrate such as starch will be degraded in the small intestine, while fermentable carbohydrates such as fructans will ferment in the large intestine. However, overload of these non-structural carbohydrates can result in disturbances in the hindgut, thereby increasing the risk of laminitis in the horse. Laminitis can be induced in the horse by administration of high doses of inulin-type fructans or by starch.

When laminitis caused by disturbances in the hindgut occurs, the microbiota in the large intestine will change, gram-positive bacteria such as *Streptococcus* spp. will proliferate, lactate accumulate and the intestinal epithelium will be damaged. This leads to an increased absorption of lactate and most probably also of different trigger factors. These trigger factors have been studied in order to elucidate the link between disturbances in the hindgut and laminitis, and it seems as different substances might have a role as trigger factors in the development of the disease. Amines are potential trigger factors in the pathogenesis as their concentration in the large intestine may increase as a result of over-ingestion of non-structural carbohydrates. Amines appear to have an effect on the vascular function. A second possible trigger factor are endotoxins released from gram-negative bacteria that have undergone lysis in the hindgut. Some of them seem to be able to separate the hoof lamellae. However, administration of endotoxins alone doesn't appear to be capable of inducing laminitis. A third possible trigger factor are bacterial exotoxins, with various capability to activate matrix metalloproteinases (MMPs) which degrade the basal membrane in the lamellae. The activity of some MMPs have been demonstrated to increase in hooves affected by laminitis. A fourth studied trigger factor are inflammatory cytokines which increase the release of pro-MMP-9 from the hoof lamellae.

As a conclusion of this study, ingestion of large amounts of non-structural carbohydrates can cause disturbances in the hindgut, which then increase the risk of laminitis in the horse. A change in the hindgut microbiota can result in the release of different trigger factors that potentially contribute to the pathogenesis in the hoof in laminitis. There are different theories on which these trigger factors are, and possibly more than one trigger factor act in parallel in the development of the disease. To investigate whether one or many trigger factors are responsible for the pathogenesis more research is needed.

INLEDNING

Fång är en smärtsam sjukdom hos häst som kan leda till lång konvalescens, nedsatt brukbarhet och avlivning av den drabbade hästen. Vid fång kommer förbindelsen mellan hovbenet och hovväggen att upphöra (Geor & Harris, 2013) och den drabbade hästen utvecklar varierande grad av hälta (Pollitt, 2008).

Fång kan uppkomma av flera orsaker, bland annat felaktig utfodring som leder till grovtarmsstörningar (Hargis & Myers, 2017). Hästens digestionskanal har anpassats till en diet bestående av gräs som till stor andel består av strukturella kolhydrater, men många av dagens hästar utfodras med stora mängder icke-strukturella kolhydrater som exempelvis socker och stärkelse (Frape, 2010). Normalt kommer vissa icke-strukturella kolhydrater hydrolyseras i tunntarmen medan andra fermenteras i grovtarmen (Hoffman, 2009), men vid ett överintag av dessa kan de ge upphov till grovtarmsstörningar hos hästen (Hoffman *et al.*, 2001).

Att förhindra uppkomsten av fång är av intresse för att öka hästens välfärd och hållbarhet. Anledningen till att denna typ av fång är intressant att studera är för att den bör kunna förhindras med korrekt utfodring, samt att det finns olika teorier kring patogenesen som ännu inte är klarlagd (Hargis & Myers, 2017). Frågeställningen i denna uppsats är därför vilket samband som finns mellan grovtarmsstörningar och fång.

MATERIAL OCH METODER

För att hitta information till litteraturstudien har databaserna PubMed, ScienceDirect, Web of Science och CAB använts, samt litteratur med koppling till frågeställningen. Sökorden som använts är laminitis, founder, horse, grazing, concentrate, roughage, forage, carbohydrates, non-structural carbohydrates, sugar, fructan, starch, endotoxin, exotoxin och amine. Till sökordens kombinerades olika ändelser för att utöka sökresultatet.

LITTERATURÖVERSIKT

Fång hos häst

Fång är ett systemiskt tillstånd som uppenbarar sig i hoven (Geor & Harris, 2013) och innebär en inflammation i hovens lameller (Hargis & Myers, 2017). Vid fång kommer förbindelsen mellan hovbenet och hovväggen att upphöra, vilket medför att hästens vikt och rörelse leder till strukturell kollaps i hoven. Det kan även ske en hovbenssänkning eller hovbensrotation (Geor & Harris, 2013). Fång kan drabba en eller fler hovar hos hästen. Oftast drabbas framhovarna, vilket kan bero på att de bär mer av hästens vikt (Hargis & Myers, 2017).

Allvarlighetsgraden av fång bedöms ofta enligt Obels skala. Obelgrad 1 innebär att hästen oavbrutet lyfter hovarna omväxlande, hästen är inte halt i skritt men rör sig med kort steg i trav. Obelgrad 2 innebär att hästen rör sig karaktäristiskt för fång och att en framhov kan lyftas utan svårighet. Obelgrad 3 innebär att hästen rör sig motvilligt och inte vill lyfta framhoven. Obelgrad 4 innebär att hästen rör sig endast när den tvingas göra det (Frape, 2010).

Fång kan orsakas av många olika faktorer, som felaktig utfodring, trauma, hormonell obalans, förgiftning av svart valnöt och administrering av kortikosteroider (Hargis & Myers, 2017). Utfodringsrelaterad fång kan delas in i två huvudgrupper; fång relaterad till grovtarmsstörningar och fång relaterad till insulinresistens, men en häst med fång kan också uppvisa både insulinresistens och grovtarmsstörning samtidigt.

Kolhydrater i hästens foder

Hästens föda består främst av kolhydrater vilka utgör två tredjedelar av fodrets torra vikt. Kolhydraterna i födan utgör den största energikällan (Frape, 2010), och de bryts ner på olika sätt i hästen beroende på bindningarna mellan de molekyler som bygger upp kolhydratkedjorna. Det finns hydrolyserbara kolhydrater och fermenterbara kolhydrater, där kolhydrater med α -1,4-bindningar hydrolyseras enzymatiskt i tunntarmen, medan kolhydrater med β -1,4-bindningar fermenteras mikrobiellt i grovtarmen. Vissa typer av stärkelse är hydrolyserbara kolhydrater, medan fibrer, fruktaner och andra typer av stärkelse är fermenterbara kolhydrater (Hoffman, 2009). Kolhydrater kan även delas in i strukturella kolhydrater, som cellulosa och hemicellulosa, och icke-strukturella kolhydrater, som stärkelse, socker och fruktan (McDonalds *et al.*, 2011).

Under växters fotosyntes kommer glukos och andra enkla sockerarter att bildas, vilka omvandlas till lagringskolhydrater som stärkelse och fruktan om produktionen överstiger växtens energibehov. Stärkelse är en kolhydrat som är vanlig i foder, och förekommer i stor mängd i spannmål (Frape, 2010). I kalla klimat ansamlas fruktan i växter och gräs, medan gräs i varma klimat ansamlar stärkelse (Hoffman, 2009). Fruktaner delas upp i huvudgrupperna inulin, levan och grenade fruktaner (McDonalds *et al.*, 2011). Inulin förekommer ofta i växter tillhörande asterordningen, som cikoriarot och jordärtskocka, medan levan huvudsakligen finns i en del gräsarter (Vijn & Smeekens, 1999). Oligofruktos är en undergrupp av inulin med upp till tio fruktosenheter (Niness, 1999).

Fruktaninnehållet i gräs varierar kraftigt med väder-, ljus-, temperatur- och klimatfaktorer. När växten har ett stort energibehov, som vid tillväxt, är koncentrationen av fruktaner låg. Koncentrationen är generellt högst på våren, lägst på sommaren och måttlig på hösten (Frape, 2010).

Hästens digestionsorgan och normala grovtarmsfunktion

Vid fång associerad till grovtarmsstörningar är hästens digestionsorgan och hov primärt involverade, och för att förstå patogenesen vid fång är det viktigt att ha kännedom om normal funktion och fysiologi i dessa organ.

Hästens digestion och nedbrytning av kolhydrater

Via nedbrytning och fermentation i digestionskanalen omvandlas kolhydrater till glukos och flyktiga fettsyror (VFA, volatile fatty acids), främst acetat, propionat och butyrat (Frape, 2010), men även laktat och valerat (Hoffman, 2009).

I tunntarmen sker kemisk sönderdelning och absorption av kolhydrater (Sjaastad *et al.*, 2010). För att kunna absorberas över tunntarmsväggen måste kolhydrater brytas ner till monomerer. Enzymer vid tunntarmens villi och i lumen hydrolyserar icke-strukturella kolhydrater som stärkelse och socker (Sjaastad *et al.*, 2010). Stärkelse bryts ner av α -amylas och α -glukosidas till glukos (Frape, 2010). Glukos absorberas från tunntarmen med natrium/glukos-transportörer (Sjaastad *et al.*, 2010). En kort uppehållstid för födan i tunntarmen bidrar till att en del stärkelse inte bryts ner där (Sjaastad *et al.*, 2010). Vid ett stort intag av stärkelse kommer en del stärkelse att fermenteras i grovtarmen istället för att hydrolyseras i tunntarmen. Detta leder till ökad produktion av VFA och laktat, vilket bidrar till en pH-sänkning. Detta främjar proliferation av mjölksyraproducerande bakterier som ytterligare sänker pH (Al Jassim & Andrews, 2009).

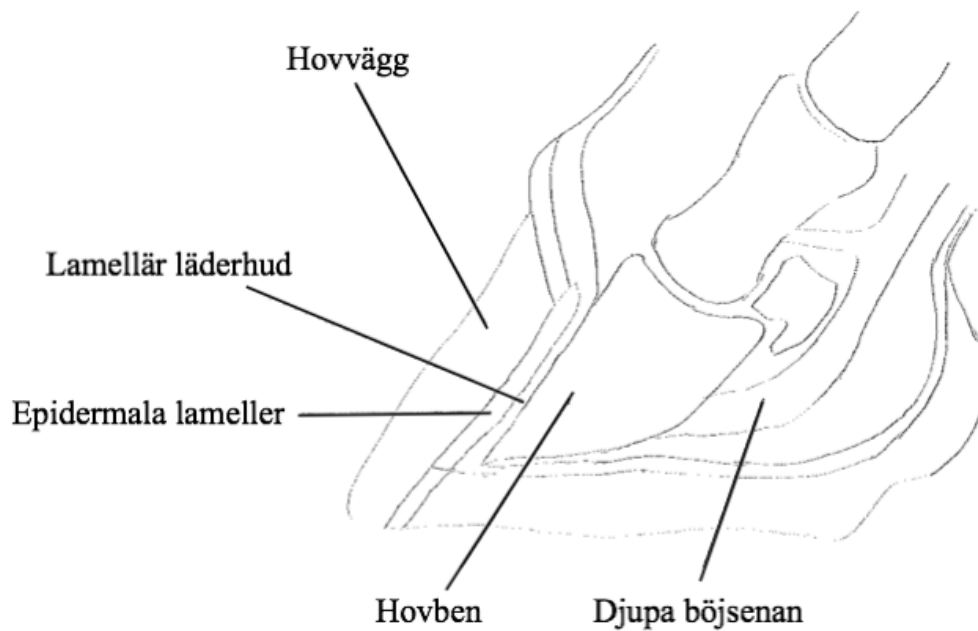
Grovtarmens digestion

I grovtarmen är miljön anaerob och mikrober fermenterar strukturella kolhydrater som cellulosa och pektin samt icke-strukturella kolhydrater som inte hydrolyserats i tunntarmen, till VFA. De flyktiga fettsyrorerna kommer sedan diffundera ut från mikroberna och vara tillgängliga för absorption och används som energikälla i hästens kropp (Sjaastad *et al.*, 2010). För att upprätthålla optimal miljö för mikroberna i grovtarmen måste den sura miljön som följer produktionen av VFA neutraliseras. Körtlar i grovtarmsväggen bildar bikarbonat och slem som neutraliserar den sura miljön och skyddar epitelcellerna (Sjaastad *et al.*, 2010), och aktiviteten av basiskt fosfat är hög i grovtarmen (Frape, 2010). Normalt domineras grovtarmens mikrobiota av gramnegativa bakterier (Milinovich *et al.*, 2007).

Vid mikrobiell jäsning av stärkelse eller fruktaner i grovtarmen bildas bland annat laktat. Hästar uttrycker inte enzymet D-laktat dehydrogenas som omvandlar pyruvat eller L-laktat till D-laktat, så D-laktat kommer från bakterier med denna förmåga (Al Jassim & Andrews, 2009). L-laktat och D-laktat produceras i lika stora mängder vid bakteriell fermentation i grovtarmen, men D-laktat kommer enbart från bakteriell fermentation, medan L-laktat även produceras endogent via metabola aktiviteter (Pollitt & Visser, 2010).

Hästhoven

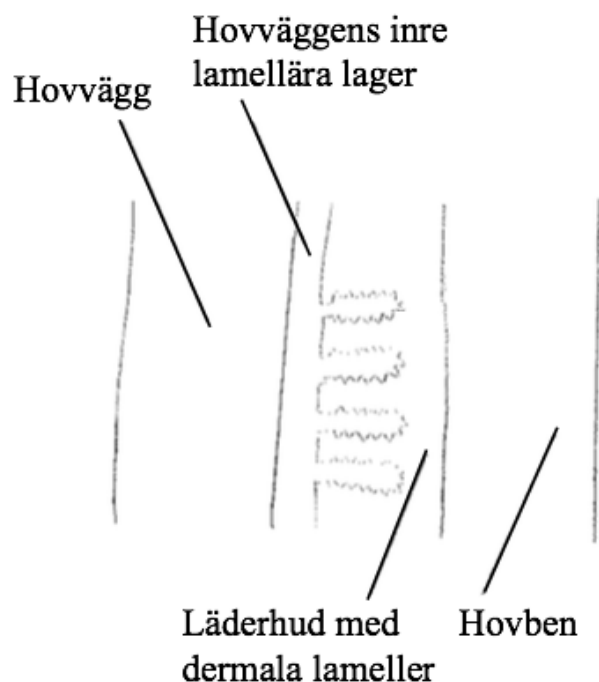
Hoven är en förlängning av huden vid de distala extremiteterna, och består ytterst av vägghorn, alltså keratiniserat epidermis (figur 1). Hovväggen består av ett yttre lager, ett intermediärt lager med amorft och tubulärt horn, samt ett inre lamellärt lager (Sjaastad *et al.*, 2010). Hos en frisk häst är hovbenet fäst till hovens insida genom *apparatus suspensorius*. Ytan på den inre delen av hovväggen består av lameller som ökar ytan på *apparatus suspensorius* (Pollitt, 2008).



Figur 1: Hovens anatomi. Hovbenet och hovväggen är fästa till varandra via dermala och epidermala lameller. Till hovbenet fäster även djupa böjsenan (efter Pollitt, 2008).

Hovens lamellära lager

Under hovväggen finns dermis, läderhuden, som består av bindväv, artärer, vener, kapillärer och nerver (figur 2). Den lamellära läderhuden har dermala lameller som flätar samman med epidermala lameller i hovväggen. Läderhuden förser hoven med näringsämnen och binder samman de epidermala lamellernas basalmembran och hovbenets yta, och hovbenet och hovkapseln är på så vis fästa till varandra (Pollitt, 2008). Varje hovs inre lamellära lager utgörs av 550-600 epidermala lameller, även kallade primära epidermala lameller (PEL), vilka saknar kärlförsörjning och är beroende av kapillärer i den lamellära läderhuden som levererar näringsämnen. På varje primär epidermal lamell finns 150-200 sekundära epidermala lameller (SEL), vilka får kontaktytan att öka. De epidermala celler i lamellerna som ligger närmast dermis utgör ett basalcellslager och det är viktigt att dessa basalceller är fästa till hovbenets bindväv. Vid förbindelsen mellan lameller och dermis finns ett basalmembran av fibrillärt kollagen typ IV och glykoproteinet laminin. Det finns även hemidesmosomer som förbinder basalmembranet till lamellernas basalceller, samt filament av laminin-5 och proteinet BP-180 som ytterligare förankrar basalmembranet med basalcellerna. Både laminin-5 och BP-180 kan brytas ner av matrix metalloproteinaser (MMPs) (Pollitt, 2008).



Figur 2: Läderhudens dermala lameller flätar samman med hovväggens epidermala lameller (efter Pollitt, 2008).

Vad händer i hoven vid fång?

Vid ett fånganfall kommer en ischemi och näringsbrist uppstå i lamellerna, som leder till att förbindelsen mellan hovvägg och hovben bryts ner. Hovbenet kommer sedan rotera eller sjunka inuti hovkapseln, och den kroniska fasen inleds (Hargis & Myers, 2017). En hovbensrotation sker då lamellerna i främre delen av hoven påverkas, hovbenet och hovkapseln separeras i denna del och hovbenet rör sig nedåt och bakåt inuti hoven (Eustace, 1992). Hovbenet förstör blodkärl då det rör sig i hoven, och kan i vissa fall penetrera sulan (Eustace, 1992). Att djupa böjsenan fäster till hovbenet (Dyce *et al.*, 2010) har betydelse för att en hovbensrotation skall kunna ske. En hovbenssänkning är den allvarligaste formen av fång, och sker då lamellerna runt hela hoven påverkas (Eustace, 1992). Då hoven blir varm under ett fånganfall verkar det finnas en aktiv vaskulär komponent som möjligtvis kan härröra från jäsning av icke-strukturella kolhydrater i grovtarmen. Det finns olika teorier kring huruvida blodflödet till hoven ökar eller minskar vid ett fånganfall. Skadan i hovens lameller verkar både kunna bero på ischemin och den reperfusion som uppstår när blodflödet återgår till en vävnad som under en period utsatts för blodbrist (Hood *et al.*, 1993).

Fång associerad med grovtarmsstörningar

Grovtarmsstörningar är associerade med intag av foder rikt på icke-strukturella kolhydrater (Al Jassim & Andrews, 2009). Fång som associeras till grovtarmsstörningar beror troligtvis på överintag av hydrolyserbara kolhydrater i spannmål som då inte bryts ned i tunntarmen utan fermenteras i grovtarmen, eller av både hydrolyserbara och fermenterbara kolhydrater i vallfoder (Hoffman *et al.*, 2001).

Fång associerad med överintag av stärkelse

Genom att administrera hästar med höga doser av stärkelse kan man inducera fång (Garner *et al.*, 1977; Sprouse *et al.*, 1987; Pawlak *et al.*, 2011). I en studie (Pawlak *et al.*, 2011) inducerades akut fång hos hästar efter administrering av stärkelsevälling, och prov från hovarna samlades in vid fång graderad till Obelgrad 1 och Obelgrad 3. Lamellernas struktur vid fång av Obelgrad 1 hade ett fåtal eller inga skillnader jämfört med friska hästars hovlameller, medan fång av Obelgrad 3 gav mycket förändrad lamellstruktur jämfört med lamellerna hos friska hästar (Pawlak *et al.*, 2011).

Stora mängder stärkelse som når grovtarmen kommer påverka mikrobiotan och orsaka pH-sänkning (Harris *et al.*, 2006). För att undvika att stärkelse skall passera icke-hydrolyserat från tunntarmen till grovtarmen, rekommenderas att inte överskrida en mängd om 0,4% stärkelse av individens kroppsvikt vid varje utfodringstillfälle (Potter *et al.*, 1992). I en studie (Potter *et al.*, 1992) utfodrades olika individer med olika stor mängd stärkelse i foderstaten. Vid utfodring av stärkelse överskridande 0,4% av kroppsvikten var koncentrationen av odigererad stärkelse i *ileum* högre jämfört med vid utfodring med mindre än 0,4% stärkelse av kroppsvikten, vilket tydde på att tunntarmens kapacitet att bryta ned stärkelse då var överskriden (Potter *et al.*, 1992).

Genom att långsamt öka andelen stärkelse i fodret kommer bakterier som fermenterar mjölksyra och protozoer som förbrukar stärkelse i grovtarmen att öka, vilka fungerar som en buffert mot sänkt pH. För att undvika spannmålsinducerad fång är det därför viktigt att inte öka en spannmåls-giva för snabbt (Frape, 2010).

Betesassocierad fång och fruktaner

Ett samband mellan betesgång och fång har antagits, och anledningen till det har misstänkts vara högt fruktaninnehåll i betesgräs. I några studier har kopplingen mellan intag av fruktaner och förekomsten av fång undersökts (van Eps & Pollitt, 2006; Milinovich *et al.*, 2007; Kalck *et al.*, 2009). Fem friska hästar som i en studie administrerades med en bolusdos av 10 g oligofruktos per kg kroppsvikt, efter att de administrerats med 1 g oligofruktos per kg kroppsvikt i tre dagar, utvecklade fång. Samtliga hästar i studien hade typiska fångförändringar i hoven och kliniska symptom som hälta (Milinovich *et al.*, 2007).

Ett möjligt samband mellan fruktaninnehåll i bete och uppkomst av fång undersöktes i en studie av Van Eps & Pollitt (2006). I denna studie användes oligofruktos, en kommersiellt producerad fruktan extraherad från cikoriarötter som inulinlika fruktospolymerer. Oligofruktos administrerades i olika doser för att inducera fång, 7,5, 10 och 12,5 g/kg kroppsvikt. En kontrollgrupp fanns också med, där hästarna administrerades med vatten via sond. Hästarna i studien utfodrades med lucernhackelse, mikroniserat korn och ett kommersiellt kraftfoder under fyra veckor inför testet. Hos samtliga tolv hästar som administrerats med oligofruktos sågs hälta, diarré, depression och inappetenz. En ökad digitalpuls kunde kännas hos alla oligofruktosadministrerade hästar förutom en. Plasmakoncentrationen av både D-laktat och L-laktat var förhöjd hos de tolv hästarna som administrerats med oligofruktos jämfört med hos hästarna i kontrollgruppen (Van Eps & Pollitt, 2006).

För att undvika grovtarmsstörningar och minska risken för fång associerad till dessa, är det viktigt att låta mikroberna i grovtarmen anpassas genom att gradvis introducera hästen till bete (Frape, 2010).

Grovtarmens mikrobiota och laktatproduktion vid grovtarmsstörningar

Vid ett överintag av icke-strukturella kolhydrater kan buffertkapaciteten i grovtarmen överskridas. Detta resulterar i en pH-sänkning då fibernedbrytande bakterier avdödas och mjölksyraproducerande bakterier tillväxer. Mjölksyra ansamlas i grovtarmen och epitelet kan då skadas (Sjaastad *et al.*, 2010).

Olika bakterier i grovtarmen hos hästar kan producera mjölksyra, t.ex. *Lactobacillus* och *Streptococcus* (Frape, 2010). Blodprov från 31 hästar som administrerats med stärkelse samlades in med avseende på att mäta L-laktat i plasma (Garner *et al.*, 1977). I studien observerades att stora öknings i L-laktat föregick cirkulatorisk kollaps med eller utan fång, mindre öknings i L-laktat verkade ha ett samband med fång, medan små öknings i L-laktat saknade sådana effekter. Ett samband mellan förhöjd koncentration L-laktat i plasma och uppkomst av fång hos hästarna verkade alltså finnas i studien (Garner *et al.*, 1977). En ökad produktion av laktat från laktatproducerande bakterier sänkte pH i *caecum* från 7 till 4 inom 24 timmar (Garner *et al.*, 1978). Laktat kan absorberas från grovtarmen och ge upphov till en generell acidosis, vilket indikerar ökad permeabilitet över tarmslemhinnan vid en sådan störning i grovtarmens funktion. Den ökade permeabiliteten kan även främja absorption av andra ämnen, t.ex. endotoxiner (Garner *et al.*, 1978).

Under ett kolhydratinducerat fånganfall kommer sammansättningen av grovtarmens mikrobiota ändras från att domineras av gramnegativa bakterier, till att främst utgöras av grampositiva bakteriestammar (Milinovich *et al.*, 2007). Det påvisades i ett försök där fång inducerades genom tillförsel av en bolusdos oligofruktos. Innan hästarna administrerats med oligofruktos utgjorde grampositiva bakterier mindre än 20% av den totala mikrobiotan i *caecum*, medan populationen fyra och åtta timmar efter administrering utgjorde över 50% av mikrobiotan i *caecum*. Mellan 12 och 32 timmar efter administrering var andelen grampositiva stammar i *caecum* fortfarande ökad. Grampositiva stammar utgjorde minde än 10% av mikrobiotan i träcken innan administrering av oligofruktos, men dominerade (>50%) efter 12 och 20 timmar. Andelen streptokocker, främst *Streptococcus bovis* och *Streptococcus equinus*, ökade i både *caecum* och träck direkt innan histologiska förändringar i hoven kunde ses. Dessa bakterier utgjorde 16 timmar efter administrering av oligofruktos över 50% av mikroorganismerna i samtliga prover. Efter 32 timmar minskade dessa bakterier och laktobaciller dominerade istället mikrobiotans sammansättning i *caecum* och träck. *Enterobacteriaceae* förekom i låg andel fram till 16 timmar efter administrering av oligofruktos varefter dessa ökade i både *caecum* och träck (Milinovich *et al.*, 2007).

Möjliga orsaker till fång associerad med grovtarmsstörningar

Störningar i grovtarmen vid överutfodring med icke-strukturella kolhydrater kan ge upphov till substanser som diskuterats kunna skada hovens lameller och orsaka fång på olika sätt. Det finns

en vaskulär teori, i vilken störningar i blodflödet till hoven som t.ex. ger upphov till näringsbrist i lamellerna anses kunna orsaka fång. Dessa störningar i blodflödet misstänks kunna orsakas av t.ex. aminer eller endotoxiner från grovtarmen. Det finns även en enzymatisk teori, där enzymer som MMPs i neutrofiler och vävnader som epidermis anses ha förmågan att separera lamellära epidermala celler från basalmembranet i lamellerna. En tredje teori är en inflammatorisk sådan, med vilken menas att genuttrycket av lokala cytokiner i hoven, t.ex. IL-1 β och IL-6, och adhesionsmolekylerna E-selektin och ICAM-1, har en koppling till leukocytinfiltration i lamellerna. Leukocyterna kommer sedan bidra till inflammation och vävnadsskada i lamellerna (Hargis & Myers, 2017).

Aminer

Naturlig förekomst av aminer i hästens grovtarm, och ökad koncentration av dessa till följd av jäsning av icke-strukturella kolhydrater har påvisats i flera studier (Elliott *et al.*, 2003; Bailey *et al.*, 2004). Grampositiva bakterier i *caecum*, vilka producerar mjölksyra, prolifererar till följd av överintag av icke-strukturella kolhydrater. I sura miljöer kommer aktiviteten av bakteriella dekarboxylasenzymmer uppregleras, vilka producerar aminer genom dekarboxylering av aminosyror (Bearson *et al.*, 1997). De aminer, t.ex. tryptamin och fenyletylamin, som produceras i hästens *caecum* verkar kunna ha betydelse vid patogenesen för fång, då de har strukturella likheter med endogena aminer som katekolaminer och 5-HT och verkar ha effekt på den vaskulära funktionen (Bailey *et al.*, 2002).

De potentiellt vasoaktiva aminerna tryptamin och fenyletylamin har undersökts med avseende på deras möjliga selektiva digitala vasokonstriktiva effekt (Bailey *et al.*, 2004). I en studie administrerades hästar med tryptamin, fenyletylamin eller saltlösning. Blodflödet i hoven mättes med Doppler ultraljud och temperatur i kronrand och hovvägg mättes med termometer. Studien visade att både tryptamin och fenyletylamin orsakade en minskning av arteriellt blodflöde och temperatur i hoven. Aminer verkade kunna orsaka vasokonstriktion i hoven utan att ha systemisk effekt, men blodflödet i andra organ mättes inte i studien och därför kunde denna teori inte bekräftas (Bailey *et al.*, 2004). Eftersom aminer finns i hästens grovtarm borde de kunna orsaka en minskning i den digitala perfusionen om de får tillgång till systemcirkulationen, t.ex. via ett skadat tarmepitel vid en grovtarmsstörning (Bailey *et al.*, 2004).

Aminerna tryptamin, tyramin, fenyletylamin, isoamylamin och isobutylamin har undersökts i en *in vitro*-studie (Elliott *et al.*, 2003) för sin vasoaktiva potens. I studien testades aminernas vasokonstriktiva potens i vener och artärer från hästar. Tryptamin, tyramin och fenyletylamin i låga koncentrationer orsakade vasokonstriktion. Tryptamin och tyramin var mer potenta vasokonstriktorer i hovens vener än i dess artärer, medan fenyletylamin hade samma potens i vener och artärer i hoven. Alla testade aminer frisatte 5-HT från blodplättar, där tyramin var den mest potenta (Elliott *et al.*, 2003).

Endotoxiner

Endotoxiner frisatta från lyserade gramnegativa bakterier i grovtarmen kan ha en betydelse för patogenesen vid fång associerad till störningar i grovtarmen. En pH-sänkning i grovtarmen

främjar lysering av gramnegativa bakterier som *Enterobacteriaceae* spp. som då kan frisätta vasoaktiva lipopolysackarider (LPS) (Garner *et al.*, 1978). Lipopolysackarider verkar ha förmågan att separera lamellerna i hoven, något som upptäcktes i en studie utförd *ex vivo* (Reisinger *et al.*, 1999). Däremot verkar inte administrering av endotoxiner i sig ha förmågan att inducera fång, och fång kan utvecklas trots administrering av läkemedel som minskar mängden endotoxiner i blodet (Pollitt & Visser, 2010). I en studie där hästar administrerades med stärkelse och utvecklade fång (Obelgrad 3) inom 56 h ökade koncentrationen av endotoxin i plasma hos 11 av 13 hästar (Sprouse *et al.*, 1987). Hos dessa elva hästar var plasmakoncentrationen av endotoxiner vid första mätningen <0,1 ng/liter, medan den vid andra mätningen eller vid inträde av fång hade ökat till 2,4-81,5 ng/liter. Däremot utvecklade två hästar i studien fång trots utebliven ökning i plasmakoncentrationen av endotoxiner, och en häst utvecklade inte fång enligt Obelgrad 3 trots ökning i plasmakoncentrationen till 30,5 ng/liter. Resterande hästar utvecklade inte fång och saknade ökning i plasmakoncentrationen av endotoxiner trots administrering av stärkelse (Sprouse *et al.*, 1987).

Exotoxiner och matrix metalloproteinaser (MMPs)

Matrix metalloproteinaser är enzymer med förmågan att bryta ner basalmembranet i hovens lameller genom nedbrytning av proteiner som kollagen IV, kollagen VII och laminin (Pollitt & Daradka, 1998). Aktiviteten av MMP-2 och MMP-9 har påvisats vara högre i hovar påverkade av fång (Pollitt *et al.*, 1998). Lamellära explantat kan separeras av bakteriella proteaser (exotoxiner) som SpeB (Streptococcal pyrogenic exotoxin B) och thermolysin, något som presenterades i en studie av Mungall *et al.* (2001). Både SpeB och thermolysin kan verka som virulensfaktorer som underlättar invasion i värden, i detta fall genom att aktivera MMPs. I studien separerade SpeB lamellerna via direkt proteolys av komponenter i basalmembranet, medan thermolysin separerade lamellerna via aktivering av MMPs. Streptokocker och gramnegativa bakteriestammar, som normalt förekommer i hästens grovtarm, orsakade också separation av lameller genom att aktivera pro-MMP-2 och bryta ner pro-MMP-9 på samma sätt som thermolysin (Mungall *et al.*, 2001).

Inflammatoriska cytokiner

Tidigare har det diskuterats att fång inducerad vid överdosering av icke-strukturella kolhydrater inte är en inflammatorisk sjukdom (Hunt, 1991), men i en studie (Faleiros *et al.*, 2011) ökade antalet leukocyter i hoven innan lamellernas struktur förändrades. IL-6 är en inflammatorisk cytokin som uppregleras vid oligofruktosinducerad fång (Visser & Pollitt, 2011). I studien (Visser & Pollitt, 2011) ökade uttrycket av IL-6 hos fem hästar tolv timmar efter administration av oligofruktos, och infiltration av monocyter och neutrofiler i lamellerna sågs 18-24 timmar efter oligofruktosadministrering. Dessa resultat jämfördes med resultaten från tre hästar i en kontrollgrupp som administrerades med en bolusdos med vatten. IL-6 verkade själv inte orsaka skada på basalmembranet men ökade frisättningen av pro-MMP-9 från lamellerna (Visser & Pollitt, 2011).

DISKUSSION

Grovtarmsstörningar är en bidragande faktor till utveckling av fång hos häst (Hargis & Myers, 2017). I några studier har fång inducerats med stärkelse (Garner *et al.*, 1977; Sprouse *et al.*, 1987; Pawlak *et al.*, 2011) och i olika studier har ett möjligt samband mellan intag av höga doser fruktaner och fång undersökts (van Eps & Pollitt, 2006; Milinovich *et al.*, 2007; Kalck *et al.*, 2009).

Akut fång inducerades genom administrering av stärkelsevälling i en studie av Pawlak *et al.* (2011), hos hästar med fång graderad till Obelgrad 3 var lamellernas struktur kraftigt förändrade jämfört med lamellerna hos friska hästar. Detta resultat stärker teorin att hydrolyserbara kolhydrater som stärkelse kan ge upphov till grovtarmsstörningar som i sin tur har en bidragande roll i utvecklingen av fång. Det rekommenderas att inte utfodra stärkelse i en mängd som överskrider 0,4% av hästens kroppsvikt vid varje utfodringstillfälle, då tunntarmens kapacitet att hydrolysera stärkelse då anses vara överskriden (Potter *et al.*, 1992). Eftersom det verkar finnas ett samband mellan fång och stort intag av stärkelse, som p.g.a. överintag inte kan hydrolyseras i tunntarmen, borde man kunna minska risken för fång associerad med grovtarmsstörningar genom att hålla mängden stärkelse i fodret lågt, samt öka en kraftfodergiva rik på stärkelse långsamt för att mikroberna i grovtarmen skall hinna anpassas till en ökad mängd stärkelse (Frape, 2010).

Fruktaner som inulin och levan återfinns som lagringskolhydrater i växter i kalla klimat (Hoffman, 2009). Inulin har i studier administrerats för att inducera fång. Fem hästar utvecklade fång efter att de administrerats med en bolusdos oligofruktos (en typ av inulin) i en studie av Milinovich *et al.* (2007), vilket tyder på en koppling mellan höga doser oligofruktos och uppkomst av fång. I en annan studie administrerades tolv hästar med kommersiellt producerad inulin i olika doser, där samtliga utvecklade symptom typiska för fång (Van Eps & Pollitt, 2006). En gemensam kritik riktad till dessa studier är att det inte är helt klart om fång som inducerats med inulin är representativ för fång som uppkommer på bete. Inulin förekommer i en del växter som cikoriarot och jordärtskocka och kan extraheras från dessa, medan gräsarter främst innehåller levan (Vijn & Smeekens, 1999). Industriellt framtagna fruktaner är inte nödvändigtvis samma sak som naturligt förekommande fruktaner i gräs, och betesinducerad fång kan egentligen bara induceras av bete. Däremot verkar fruktaner kunna inducera fång i försök, och har sannolikt en bidragande roll vid fång associerad till bete. Genom att gradvis introducera hästar till bete tillåts mikrobiotan anpassas (Frape, 2010) och risken för fång associerad till grovtarmsstörningar bör så kunna minskas.

Gällande patogenesen vid fång och vilket samband som finns mellan grovtarmsstörningar och fång finns olika teorier, och möjliga triggerfaktorer har undersökts i olika studier. I en studie (Milinovich *et al.*, 2007) ändrades sammansättningen av grovtarmens mikrobiota till att domineras av grampositiva bakteriestammar efter induktion av fång via administrering av oligofruktos. I samma studie förekom *Streptococcus bovis* och *Streptococcus equinus* i höga antal i *caecum* och träck innan histologiska förändringar i hoven kunde ses, samt dominerade i samtliga prover från *caecum* och träck upp till 32 timmar efter administrering av oligofruktos.

Därefter dominerades proverna istället av laktobaciller (Milinovich *et al.*, 2007). Det är möjligt att en förändring i grovtarmens mikrobiota har en stor betydelse vid patogenesen för fång, och att *Streptococcus* spp. är viktig för sjukdomens utveckling, möjligtvis genom att frisätta en eller flera triggerfaktorer. Det är mindre troligt att laktobaciller frisätter triggerfaktorerna då andelen av dessa bakterier ökade först efter det att streptokockerna redan prolifererat och fång inträtt. I en annan studie observerades att öknings i koncentrationen av L-laktat i plasma härrörande från grovtarmen verkade ha ett samband med utveckling av fång (Garner *et al.*, 1977). Denna studie stödjer teorin att produktionen av mjölksyra i grovtarmen, till följd av ändrad mikrobiota, är viktig vid patogenesen. Ökade nivåer av L-laktat i blodplasma tydde även på upptag över tarmslemhinnan av både L-laktat och, möjligtvis även av potentiella triggerfaktorer för fång.

Aminer är en av flera tänkbara triggerfaktorer som studerats. I sura miljöer, t.ex. vid en grovtarmsacidosis, produceras mer aminer än vid neutrala pH (Bearson *et al.*, 1997). Aminer som tryptamin och fenyletylamin finns i hästens *caecum*, och har i en studie påvisats kunna minska arteriellt blodflöde och temperatur i hoven (Bailey *et al.*, 2004). Kritik riktad mot denna studie är att blodflöde i andra organ inte mättes, varför en specifik vasokonstriktiv effekt inte kunde bekräftas. Resultaten från studierna styrker dock teorin att aminer producerade av bakterier i hästens grovtarm har en viktig funktion i sjukdomsutvecklingen.

Sänkt pH i grovtarmen kan även främja lysering av gramnegativa bakterier vilka kan frisätta potentiella triggerfaktorer, t.ex. vasoaktiva LPS (Garner *et al.*, 1978), vissa med förmågan att separera hovens lameller *ex vivo* (Reisinger *et al.*, 1999). En nackdel med denna studie är att den utfördes *ex vivo* och är möjligtvis inte helt överförbar till den levande hästen, då det i denna kan finnas fler faktorer i kroppen som påverkar resultatet. Hos majoriteten av de hästar som i en studie administrerades med höga doser stärkelse och utvecklade fång iaktogs öknings i endotoxinnivåer i plasman (Sprouse *et al.*, 1987). Däremot fanns det hästar i studien som utvecklade fång utebliven ökning av endotoxinnivåer i plasman, och en häst som förblev frisk trots ökade nivåer endotoxiner i plasman. Dessa resultat tyder på att endotoxiner i sig inte är en ensamt agerande triggerfaktor, men utesluter inte att de kan ha en potentiell inverkan i patogenesen.

Hos hästar med fång verkade aktiviteten av MMPs som kan bryta ner basalmembranet i lamellerna vara högre än hos friska hästar (Pollitt & Daradka, 1998; Pollitt *et al.*, 1998). En del bakteriella exotoxiner och bakterier, bl.a. streptokocker, verkade kunna aktivera MMPs eller bryta ner komponenter i basalmembranet via proteolys (Mungall *et al.*, 2001). Resultatet styrker teorin att bakteriella exotoxiner har en betydelse vid utvecklingen av fång. Vid grovtarmsstörningar kommer *Streptococcus* spp. proliferera (Milinovich *et al.*, 2007), och det är möjligt att de producerar exotoxiner som fungerar som triggerfaktorer genom att aktivera MMPs i lamellerna och ge upphov till de kliniska symptomen karakteristiska för sjukdomen.

Antalet leukocyter har också påvisats öka i hoven innan lamellerna bryts ner (Faleiros *et al.*, 2011). Den inflammatoriska cytokinen IL-6 uppregrades vid fång inducerad med oligofruktos, och verkade själv inte skada basalmembranet men ökade frisättningen av pro-MMP-9 från lamellerna i hoven (Visser & Pollitt, 2011). Resultatet tydde på att infiltrationen

av leukocyter föregick nedbrytningen av basalmembranet i hoven, och att inflammatoriska cytokiner skulle kunna ha en roll som triggerfaktor vid patogenesen för fång.

Värt att reflektera över är det faktum att av flera individer som utfodras med samma mängd stärkelse eller betar samma gräs kommer alla inte att utveckla fång. Detta tyder på att det inte bara är de icke-strukturella kolhydraterna i fodret i sig som är den orsakande faktorn, utan att det troligtvis finns andra underliggande faktorer som gör att vissa individer utvecklar fång, medan resterande inte gör det. Min uppfattning är att det kan röra sig om metabola sjukdomar, hormonella obalanser eller hästens individuella mikrobiota i grovtarmen som kanske gör den mer benägen att drabbas av fång orsakad av grovtarmsstörningar. Olika streptokockarter verkar enligt en studie (Milinovich *et al.*, 2007) ha en stor betydelse vid patogenesen, och hästar med en normalflora bestående av en större andel av dessa kan hypotetiskt vara i riskzonen för att utveckla fång, jämfört med individer med en mindre andel av dessa bakterier i mikrobiotan. Huruvida hästen utvecklar fång eller inte skulle även kunna bero på andra mikrobers kapacitet att anpassa sig till de förändringar en ändrad foderstat innebär för grovtarmens miljö. Med det sagt borde hästar med mikrober mindre kapabla att anpassa sig till en förändrad miljö vara i riskzonen för att utveckla fång, eftersom mjölksyraproducerande bakterier som klarar den förändrade miljön då får möjlighet att proliferera och fång utvecklas.

Slutsatsen är att såväl stärkelse och fruktaner i höga doser kan orsaka grovtarmsstörningar som ökar risken för fång. Vid grovtarmsstörningar kommer mikrobiotan i grovtarmen att förändras, grampositiva bakterier proliferera, mjölksyra produceras och epitelet i tarmen skadas. Detta ökar permeabiliteten över slemhinnan och möjliggör sannolikt absorption av triggerfaktorer. Det finns däremot olika teorier kring vilka triggerfaktorer som är viktiga vid patogenesen av fång, som aminer, endotoxiner, exotoxiner och cytokiner, och olika studier har producerat resultat som styrker de olika teorierna. Min uppfattning är därför att det inte är endast en utan flera av dessa faktorer som samverkar och agerar parallellt i utvecklingen av fång, och för att besvara min frågeställning med fokus på de enskilda triggerfaktorerna krävs vidare forskning.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Al Jassim, R. A. M. & Andrews, F. M. (2009). The Bacterial Community of the Horse Gastrointestinal Tract and Its Relation to Fermentative Acidosis, Laminitis, Colic, and Stomach Ulcers. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 25(2): 199-215.
- Bailey, S. R., Menzies-Gow, N. J., Marr, C. M. & Elliott, J. (2004). The effects of vasoactive amines found in the equine hindgut on digital blood flow in the normal horse. *Equine Veterinary Journal*, 36(3): 267-272.
- Bailey, S. R., Rycroft, A. & Elliott, J. (2002). Production of amines in equine cecal overload in an in vitro model of carbohydrate overload. *Journal of Animal Science*, 80(10): 2556-2662.
- Bearson, S., Bearson, B. & Foster, J. W. (1997). Acid stress responses in enterobacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 147(2): 173-180.
- Dyce, K. M., Sack, W. O. & Wensing, C. J. G. (2010). *Textbook of Veterinary Anatomy*. 4. uppl. Missouri: W B Saunders Co Ltd, pp. 606.
- Elliott, J., Berhane, Y. & Bailey, S. R. (2003). Effects of monoamines formed in the *caecum* of horses on equine digital blood vessel and platelets. *American Journal of Veterinary Research*, 64(9): 1124-1131.
- Eustace, R. A. (1992). *Explaining Laminitis and its Prevention*. Bristol: Arrowsmith, Ltd, pp. 12, 15.
- Faleiros, R. R., Johnson, P. J., Nuovo, G. J., Messer, N. T., Black, S. J. & Belknap, J. K. (2011). Lamellar Leukocyte Accumulation in Horses with Carbohydrate Overload-Induced Laminitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(1): 107-115.
- Frape, D. (2010). *Equine Nutrition and Feeding*. 4. uppl. New Jersey: Wiley-Blackwell, pp. 1, 7, 9, 14, 17, 21, 34, 314, 316-317.
- Garner, H. E., Hutcheson, D. P., Coffman, J. R., Hahn, A. W. & Salem, C. (1977). Lactic acidosis: A factor associated with equine laminitis. *Journal of Animal Science*, 45(5): 1037-1041.
- Garner, H. E., Moore, J. N., Johnson, J. H., Clark, L., Amend, J. F., Tritschler, L. G., Coffman, J. R., Sprouse, R. F., Hutcheson, D. P. & Salem, C. A. (1978). Changes in the Caecal Flora associated with the Onset of Laminitis. *Equine Veterinary Journal*, 10(4): 249-252.
- Geor, R. J. & Harris, P. A. (2013). Laminitis. I: Geor, R. J., Coenen, M. & Harris, P. A. (red), *Equine Applied and Clinical Nutrition*. Philadelphia: Saunders, pp. 469.
- Hargis, A. M. & Myers, S. (2017). The Integument. I: Zachary, J.F. (red), *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 6. uppl. Missouri: Elsevier, pp. 1111-1113, 1115.
- Harris, P. A., Coenen, M., Frape, D., Jeffcott, L. B. & Meyer, H. (2006). Equine nutrition and metabolic diseases. I: Higgins, A. J. & Snyder, J. R. (red). *The Equine Manual*. 2. uppl. Philadelphia: Saunders, pp. 169, 216.
- Hoffman, R. M. (2009). Carbohydrate metabolism and metabolic disorders in horses. *Brazilian Journal of Animal Science*, 38: 270-276.
- Hoffman, R. M., Wilson, J. A., Kronfeld, D. S., Cooper, W. L., Lawrence, L. A., Sklan, D. & Harris, P. A. (2001). Hydrolyzable carbohydrates in pasture, hay, and horse feeds: Direct assay and seasonal variation. *Journal of Animal Science*, 79: 500-506.

- Hood, D. M., Grosenbaugh, D. A., Mostafa, M. B., Morgan, S. J. & Thomas, B. C. (1993). The Role of Vascular Mechanisms in the Development of Acute Equine Laminitis. *Journal of Veterinary Medicine*, 7(4): 228-234.
- Hunt, R. J. (1991). The pathophysiology of acute laminitis. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 13: 1003-1011.
- Kalck, K. A., Frank, N., Elliott, S. B. & Boston, R. C. (2009). Effects of low-dose oligofructose treatment administered via nasogastric intubation on induction of laminitis and associated alterations in glucose and insulin dynamics in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 70(5): 624-632.
- McDonalds, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A. & Wilkinson, R. G. (2011). *Animal Nutrition*. 7. uppl. London: Pearson Education Limited, pp. 8, 28.
- Milunovich, G. J., Trott, D. J., Burrell, P. C., Croser, E. L., Al Jassim, R. A. M., Morton, J. M., Van Eps, A. W. & Pollitt, C. C. (2007). Fluorescence in situ hybridization analysis of hindgut bacteria associated with the development of equine laminitis. *Environmental Microbiology*, 9(8): 2090-2100.
- Mungall, B. A., Kyaw-Tanner, M. & Pollitt, C. C. (2001). In vitro evidence for a bacterial pathogenesis of equine laminitis. *Veterinary Microbiology*, 79(3): 209-223.
- Niness, K. R. (1999). Inulin and Oligofructose: What Are They? *The Journal of Nutrition*, 129(7): 1402-1406.
- Pawlak, E. A., Wang, L., Johnson, P. J., Belknap, J. K., Alfandari, D. & Black, S. J. (2011). Structural changes in the dermal and epidermal laminae of horses with starch gruel-induced laminitis. *Journal of Equine Veterinary Science*, 31: 10, 567.
- Pollitt, C. C. (2008). *Equine Laminitis Current Concepts*. RIRDC 08/062, pp. 1, 4, 7-12.
- Pollitt, C. C. & Daradka, M. (1998). Equine laminitis basement membrane pathology: loss of *type IV collagen*, *type VI collagen* and laminin immunostaining. *Equine Veterinary Journal*, 30(S26): 139-144.
- Pollitt, C. C., Pass, M. A. & Pollitt, S. (1998). Batimastat (BB-94) inhibits matrix metalloproteinases of equine laminitis. *Equine Veterinary Journal*, 30(S26): 119-124.
- Pollitt, C. C. & Visser, M. B. (2010). Carbohydrate Alimentary Overload Laminitis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 26(1): 65-78.
- Potter, G. D., Arnold, F. F., Householder, D. D., Hansen, D. H. & Brown, K. M. (1992). Digestion of Starch in the Small or Large Intestine of the Equine. *Pferdeheilkunde*, 8(7): 107-111.
- Reisinger, N., Schaumberger, S. & Schatzmayr, G. (2011). Influence of endotoxins and thermolysin in an *ex vivo* model of equine laminitis. I: Köfer, J. & Schobesberger, H. (red), *Animal hygiene and sustainable livestock production. Proceedings of the XVth International Congress of the International Society for Animal Hygiene, Vienna, Austria, 3-7 July 2011, Volume 3*. Brno: Tribun EU, 1175-1177.
- Sjaastad, Ø. V., Sand, O. & Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. 2. uppl. Oslo: Scandinavian Veterinary Press, pp. 535-536, 596-597, 600, 603, 611, 613-614, 653.
- Sprouse, R. F., Garner, H. E. & Green, E. M. (1987). Plasma endotoxin levels in horses subjected to carbohydrate induced laminitis. *Equine Veterinary Journal*, 19(1): 25-28.
- Van Eps, A. W., & Pollitt, C. C. (2006). Equine laminitis induced with oligofructose. *Equine Veterinary Journal*, 38(3): 203-208.

Vijn, I. & Smeekens, S. (1999). Fructan: More Than a Reserve Carbohydrate? *Plant Physiology*, 120: 351-359.

Visser, M. B. & Pollitt, C. C. (2011). Lamellar leukocyte infiltration and involvement of IL-6 during oligofructose-induced equine laminitis development. *Veterinary immunology and immunopathology*, 144(1-2): 120-128.