



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap**  
Institutionen för Kliniska Vetenskaper

# **Effekten av viktreduktion på insulinresistensen hos hästar med Ekvint metabolt syndrom**

*Mikaela Mårtensson*

*Uppsala  
2017*

*Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet*

*ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2017:46*



# Effekten av viktreduktion på insulinresistensen hos hästar med Ekvint metabolt syndrom

## Effects of weight loss on insulin resistance in horses with Equine metabolic syndrome

Mikaela Mårtensson

*Handledare: Johan Bröjer, institutionen för Kliniska Vetenskaper*

*Biträdande handledare: Katarina Nostell, institutionen för Kliniska Vetenskaper*

*Examinator: Miia Riihimäki, institutionen för Kliniska Vetenskaper*

*Examensarbete i veterinärmedicin*

**Omfattning:** 30 hp

**Nivå och fördjupning:** Avancerad nivå, A2E

**Kurskod:** EX0736

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2017

**Delnummer i serie:** Examensarbete 2017:46

**ISSN:** 1652-8697

**Elektronisk publicering:** <http://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** Hästar, Ekvint metabolt syndrom, EMS, insulinresistens, fång, fetma, viktreduktion

**Key words:** Horses, Equine metabolic syndrome, EMS, insulin resistance, laminitis, obesity, weight loss

Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för Kliniska Vetenskaper



## SAMMANFATTNING

Ekvint metabolt syndrom (EMS) är ett sjukdomskomplex som karaktäriseras av en ökad fettansättning, generell eller regional, insulinresistens och predisposition att utveckla fång. Individer som drabbas är ofta medelålders till äldre och ofta av ponnyras. Idag syftar behandlingen av hästar med EMS till att minska deras insulinresistens, vilket kan göras genom att få hästarna att minska i vikt, dels genom förändrad diet med ett restriktivt energiinnehåll, dels genom ökad motion. För att förhindra att dessa hästar får fång är det viktigt att kunna identifiera högriskindivider samt att behandla hästar med EMS innan de drabbas av följsjukdomar. Syftet med studien var att undersöka hur insulinresistensen hos hästar som är diagnostiserade med EMS påverkas av behandling med viktreduktion. Ett annat syfte var att hitta kliniskt användbara parametrar för att identifiera viktminskning.

Hästarna i studien var privatägda. De har genom oralt glukostoleranstest (OGT) utfört i fält konstaterats insulinresistenta. Andra orsaker till insulinresistens så som hypofysär pars intermedia dysfunktion (PPID) har uteslutits genom analys av ACTH-nivåer. Tjugo hästar av olika ras, varav 16 ston och 4 valacker stallades upp på hästkliniken vid Universitetsdjursjukhuset, Uppsala. Där utfördes OGT och euglykemisk hyperinsulinemisk clamp (EHC). Vid EHC användes glukosflödet vid *steady state* för att kalkylera insulinkänsligheten hos hästarna. Värdet för insulinkänsligheten användes sedan för att beräkna den förväntade insulinpeaken och betacellsresponsen. Hästarna bedömdes avseende deras hull samt regionala fettansättningar. Objektiva mått togs av nacke, mankhöjd, bröst- och bukomfång. Hästarna fick efter provtagningarna återvända hem till sina privata stallar. De fodrades med en foderstat anpassad för viktreduktion med ett lågt innehåll av lättlösliga kolhydrater. Efter 10 till 16 månader gjordes en uppföljning av hästarnas värden och mått. Behandlingseffekten utvärderas genom att hästarna i studien utgjorde sina egna kontroller.

Totalt 11 av 20 hästar fullföljde studien. Nio av dessa hade en sjukdomshistorik som involverade fång. Efter första undersökningen analyserades fodret hos 9 av hästarna som därmed stod på en uträknad foderstat för viktkorrigerad och som hade ett känt värde av lättlösliga kolhydrater. Nio hästar hade minskat i vikt vid den uppföljande undersökningen. Hästarnas totala viktförändring visade i medeltal en minskning med  $20,2 \pm 21,4$  kg ( $p = 0,01$ ) mellan undersökningarna. Åtta hästar hade förbättrat sin insulinkänslighet. Sammantaget hade hästarna i studien ökat sin insulinkänslighet med i medeltal  $0,4 \pm 0,6$  mg/kg/min ( $p = 0,03$ ). Ett hyperbolt samband identifierades mellan insulinkänsligheten och insulinpeak samt betacellsrespons. Minskningen i vikt var associerad till den förbättrade insulinkänsligheten ( $r^2 = 0,45$ ,  $p = 0,02$ ) och till en lägre bedömning av *body condition score* (BCS) ( $r^2 = 0,67$ ,  $p = 0,002$ ), men inte till *cresty neck score* (CNS) ( $r^2 = 0,35$ ,  $p = 0,056$ ). De objektiva mätvärdena korrelerade till viktminskningen med ett minskat bröstomfång ( $r^2 = 0,45$ ,  $p = 0,02$ ), bukomfång ( $r^2 = 0,54$ ,  $p = 0,01$ ), medelvärdet av nackens omkrets vid 3 olika punkter ( $r^2 = 0,69$ ,  $p = 0,002$ ), samt en minskad kvot mellan nackens omkrets mitt på halsen och hästens mankhöjd ( $r^2 = 0,49$ ,  $p = 0,02$ ). Förändringen i insulinkänslighet var korrelerad förutom till vikten, även till skillnaden i CNS ( $r^2 = 0,57$ ,  $p = 0,007$ ), samt till kvoten mellan omkretsen mitt på halsen och hästens mankhöjd ( $r^2 = 0,51$ ,  $p = 0,01$ ).

Resultatet indikerar att det finns ett förhållande mellan viktminskning och en förbättrad insulinkänslighet hos hästar med EMS. Dock är inte den ökade insulinkänsligheten, som erhålls av viktminskningen hos hästar med EMS, tillräcklig för att de ska anses vara friska. Däremot kommer en liten förbättring av insulinkänsligheten leda till en avsevärt mindre postprandiell insulinrespons, vilket minskar risken för att utveckla fång. Studien tyder på att BCS och objektiva mått tagna av olika delar på hästens kropp kan vara en värdefull hjälp för att följa hästens viktminskning i samband med bantning och dietära åtgärder hos hästar med EMS.

## SUMMARY

Equine metabolic syndrome (EMS) is defined as obesity, general or regional, insulin resistance and a predisposition to develop laminitis. It often affects ponies in middle age or older ponies. Treatment for EMS is aimed to increase insulin sensitivity. This can be achieved by weight loss through a diet with restricted energy intake combined with physical exercise. It's important to identify individuals at risk at an early stage and to treat horses with EMS in order to prevent the development of laminitis. The purpose of this study was to investigate how weight reduction affects insulin resistance in horses diagnosed with EMS. A second aim was to identify parameters for weight reduction and can be used in a field situation where a scale is not available.

The horses in this study were privately owned. They had previously been diagnosed with EMS by an oral glucose tolerance test (OGT). Other reasons for insulin resistance such as pituitary pars intermedia dysfunction (PPID) were ruled out by analysis of ACTH levels. In total 20 horses of different breeds, 16 mares and 4 geldings, were included in the study. The horses were housed at the Equine Clinic at the Swedish University of Agricultural Sciences in Uppsala, where both an OGT and an euglycemic hyperinsulinemic clamp (EHC) were performed. The rate of the glucose infusion during steady state of the EHC was used to estimate the insulin sensitivity (M value) of the horses. Using the disposition index, the horses presumed insulinpeak and beta cell response from an OGT were calculated from the M values. Body condition and regional fat deposits were evaluated in each horse. The horses' neck, chest, abdomen and height were measured. After the sampling procedures, the horses returned to their home environment. They were fed a diet calculated to lose weight and with a low content of water soluble carbohydrates (WSC). The horses were brought back after 10 to 16 months to repeat the procedures.

In total 11 out of 20 horses participated throughout the study. Nine of the horses had a medical history involving laminitis. Nine horses were fed a diet with restricted intake of energy and with a known content of WSC. At the time for the second evaluation 9 horses had lost weight. In total all horses had decreased their weight with a mean of  $20,2 \pm 21,4$  kg ( $p = 0,01$ ). Eight had improved their insulin sensitivity, the change in insulin sensitivity considered all horses had a mean of  $0,4 \pm 0,6$  mg/kg/min ( $p = 0,03$ ). The weight loss was correlated with the improvement of insulin sensitivity ( $r^2 = 0,45$ ,  $p = 0,02$ ) and with a decrease in Body Condition Score (BCS) ( $r^2 = 0,67$ ,  $p = 0,002$ ), but not with a decrease in Cresty Neck Score (CNS) ( $r^2 = 0,35$ ,  $p = 0,056$ ). The weight loss was correlated with the decreased circumference of the thorax ( $r^2 = 0,45$ ,  $p = 0,02$ ), abdomen ( $r^2 = 0,54$ ,  $p = 0,01$ ), and the neck ( $r^2 = 0,69$ ,  $p = 0,002$ ) as well as with the ratio between the measurement of the neck and height ( $r^2 = 0,49$ ,  $p = 0,02$ ). The increased insulin sensitivity was correlated with the decrease in CNS ( $r^2 = 0,57$ ,  $p = 0,007$ ) as well as with the ratio between the neck and height ( $r^2 = 0,51$ ,  $p = 0,01$ ).

This study indicates that horses with EMS can improve their insulin sensitivity by weight loss. However, the degree of weight loss was not sufficient to obtain normal insulin sensitivity. Nevertheless, because of the non-linear inverse relationship between insulin sensitivity and the beta cell response, a small increase in insulin sensitivity will result in a much lesser postprandial insulin secretion and reduce the risk of developing laminitis. The study also reveals that BCS and other objective measurements of the neck and abdomen can be used to assess weight loss in the field.

## Innehåll

Inledning.....	1
Material och metoder .....	2
Hästar .....	2
Studiedesign .....	3
Oralt Glukostoleranstest .....	3
Euglykemisk Hyperinsulinemisk Clamp.....	3
Analyser .....	4
Hullbedömning.....	5
Utfodring och uppföljning.....	7
Statistisk analys .....	7
Kalkyleringar.....	7
Statistiska beräkningar .....	8
Litteraturoversikt .....	8
Ekvint metabolt syndrom .....	8
Fetma, generell och regional .....	8
Insulinresistens .....	9
Fång i samband med EMS .....	10
Hantering av hästar med EMS .....	11
Resultat.....	12
Hullbedömning.....	12
Insulinkänslighet .....	14
Diskussion .....	16
Konklusion .....	19
Litteraturförteckning .....	20





## INLEDNING

Välfärdssjukdomar ökar i dagens samhälle. Allt fler djur drabbas av fetma och lider av konsekvenserna detta medför. På senare tid har veterinärer fått upp ögonen för underliggande endokrinologisk sjukdom som orsak till fång. En sjukdom som är mycket smärtsam och påverkar hästars välfärd och användbarhet. Det är också vanligt att djurägaren väljer att avliva hästen till följd av fång.

Det pågår forskning kring patogenesen vid Ekvint metabolt syndrom (EMS) och dess involvering i utvecklingen av fång. Det är först när detta är klarlagt som behandlingen kan riktas och bli framgångsrik. De behandlingsstrategier som tillämpas idag är applicerade från humansidan, även om allt fler studier görs inom området även på häst. Syftet med den här studien var att undersöka hur insulinresistensen hos hästar som är diagnosticerade med EMS påverkas av viktreduktion. Ytterligare ett syfte var att hitta kliniskt användbara parametrar för att identifiera viktminskning. Detta för att undersöka hur vi i en klinisk situation bäst ska kunna hjälpa hästar som diagnosticerats med EMS.

## MATERIAL OCH METODER

### Hästar

För att inkluderas i studien måste hästen diagnosticerats med EMS i fält genom ett oralt glukostoleranstest (OGT) där insulinkoncentrationen varit >1500ng/L 60-90 minuter efter att glukossirapen administrerats (Lindåse *et al.*, 2016). Under senare delen av sommaren och under hösten 2014 kontrollerades inkommande remisser till Klinisk kemiska laboratoriet vid Universitetsdjursjukhuset (UDS), Uppsala. Djurägare till de hästar som uppfyllde ovanstående kriterier och dessutom befann sig inom en radie av 20 mil från Uppsala kontaktades och deras häst erbjöds delta i studien.

Vid studiens start medverkade totalt 20 hästar (tabell 1.). Både hästar som bedömdes vara i normalhull, samt hästar som klassificerades som överviktiga med *body condition score* (BCS)  $\geq 7$  medverkade i studien (Henneke *et al.*, 1983). Med undantag av 2 hästar hade samtliga lokala fettdepåer i nacken med *cresty neck score* (CNS)  $\geq 3$  (Carter *et al.*, 2009a). Hästarna i studien var privatägda och var av raserna fjordhäst (2), highlandponny (1), halvblod (1), islandshäst (10), korsningshäst (1), korsningsponny (1), minishetlandponny (2), svensk ridponny (1) och welshponny (1), varav 16 ston och 4 valacker. Exkluderande faktorer var om hästen visade tecken på smärta, kliniska tecken på akut fång, pågående medicinering för annan sjukdom eller positivt test för hypofysär pars intermedia dysfunktion (PPID) vid analys av ACTH nivåer (>7 mmol/L under november – juli, >11 mmol/L under augusti – oktober).

Figur 1. Patientdata, med hästarnas ras, ålder, kön, body condition score (BCS) och cresty neck score (CNS), n = 20

Häst	Ras	Ålder	Kön	BCS	CNS
B	Halvblod	18	Sto	6	3,5
C	Islandshäst	14	Sto	5,5	5
D	Islandshäst	14	Sto	7	3,5
E	Welshponny	15	Valack	8,5	4
F	Korsningshäst	12	Sto	6	2,5
G	Islandshäst	9	Sto	7	4
H	Islandshäst	14	Sto	8	4
J	Svensk ridponny	15	Sto	8	4
K	Fjordhäst	9	Valack	8	4
L	Minishetlandponny	12	Valack	5,5	2,5
M	Fjordhäst	18	Sto	8	4
N	Islandshäst	22	Valack	7,5	4,5
P	Highlandpponny	13	Sto	7,5	4
S	Islandshäst	22	Sto	5,5	2,5
T	Islandshäst	9	Sto	5,5	3,5
U	Islandshäst	15	Sto	6,5	3,5
V	Korsningsponny	19	Sto	7,5	3,5
X	Islandshäst	15	Sto	6	4
Y	Islandshäst	5	Sto	9	3,5
Z	Minishetlandponny	8	Sto	6	3,5

## Studiedesign

Studien är godkänd av Uppsala djurförsöksetiska nämnd, diarienummer C19/14. Provtagningarna utfördes på Universitetsdjursjukhusets hästklinik i Uppsala från oktober 2014 till april 2015. Vid ankomst till kliniken vägdes hästarna. De stallades upp i en separat avdelning under ett minimum av 4 dagar. Underlaget i boxarna bestod av kutterspån alternativt papper. Under hela vistelsen hade hästarna fri tillgång till vatten. De fodrades med samma foder och foderstat enligt de rutiner som användes i deras privata stall. Hästarna motionerades i skritt vid hand upprepade gånger per dag. De tilläts även att vistas utomhus i sandhagar under dagtid.

Ett minimum av två dagar användes för att låta hästarna aklimatisera sig till miljön. Sedan utförs ett OGT (Lindåse *et al.*, 2016) och efter ytterligare 1–2 dagar utfördes en euglykemisk hyperinsulinemisk clamp (EHC). Hästarna bedömdes avseende BCS (Henneke *et al.*, 1983) och CNS (Carter *et al.*, 2009a). Dessutom utfördes objektiva mätningar av hals, bröstorg och buk. Hästarna gick sedan tillbaka till sin hemmiljö. Hästarnas grovfoder analyserades avseende näringsinnehåll och andel lösliga kolhydrater, *water soluble carbohydrates* (WSC). Varje häst erhöll en individuell foderstat anpassad för viktreduktion eller underhåll, samt med ett lågt innehåll av WSC. Hästarna fick inte gå på bete då det leder till ett okontrollerat intag av fodermängd och WSC. Under tiden för viktminskning fick hästarna motioneras upp till en timme dagligen. Efter cirka ett år upprepades samtliga undersökningar.

## Oralt Glukostoleranstest

Dagen innan OGT förbereddes hästarna genom att en permanentkateter (Intranule, 2.0 x 105mm. Vygon, Ecoen, Frankrike) placerades i en av jugularvenerna. Kanylläggningsen gjordes under aseptiska förhållanden, 30 minuter efter det att topikal lokalanestetika (EMLA, AstraZenica AB, Södertälje, Sverige) innehållande lidokain 25mg/g och prilokain 15 mg/g applicerats på huden. Hästarna undanhölls foder 12 timmar innan provtagningen startade.

OGT utfördes i enlighet med vad som beskrivits tidigare (Lindåse *et al.*, 2016). Fastblodprov avseende glukos och insulin togs 5 minuter innan start av OGT. Glukossirap (Dansukker glukossirap, Nordic Sugar A/S, Köpenhamn, Danmark) administrerades per oralt med en dos av 0,2 ml/kg. Upprepade blodprov togs vid 30, 60, 90, 120, 150 och 180 minuter. Som antikoagulantia används litiumheparin. Blodproven centrifugerades (2700 x g under 10 minuter) och supernatanten överfördes till eppendorfrör för att sedan frysas och förvaras i -80°C fram tills analyserna utfördes.

## Euglykemisk Hyperinsulinemisk Clamp

Hästarna förberedes dagen innan EHC genom att ytterligare en permanentkateter placerades i den andra jugularvenen, enligt samma procedur som beskrivs ovan. Hästarna undanhölls foder 12 timmar innan provtagningen startade.

Under EHC utfördes en 180 minuters kontinuerlig infusion med humant insulin (Humulin Regular, 100IE/ml, Eli Lilly Sweden AB, Solna, Sverige) tillsammans med en kontinuerlig infusion med 50% glukoslösning (Glucose Fresenius Kabi 500 mg/ml, Fresenius Kabi AB, Uppsala, Sverige). Insulinet spädes i steril natriumklorid (0,9% natriumklorid, Fresenius Kabi) tillsammans med 5 ml endogent blod till en volym av 500 ml. Insulinlösningen infunderades

med en konstant hastighet av 3 mU/kg/min, medan glukoslösningen infunderades med en varierad hastighet. Genom att justera hastigheten på glukosinfusionen kunde blodglukoskoncentrationen hållas stabil på en euglykemisk nivå (5 mmol/L). Blodprover togs var 5:e minut för kontroll av blodglukoskoncentrationen med hjälp av två handhållna glukometrar (Accu-Check Aviva, Roche Diagnostics Scandinavia AB, Bromma, Sverige). Om värdet avvek >0,2 mmol från euglykemi justerades hastigheten på glukosinfusionen

Blodproven aspirerades från den permanentkanyl som inte användes till infusionen. Blodprover för analys av insulin och glukos togs (-10, -5 och -1 minut) innan den kontinuerliga infusionen påbörjades. Under testet togs prover för analys av plasmainsulin var 20:e minut samt för plasmaglukos var 10:e minut. Proven centrifugerades (2700 x g under 10 minuter) och supernatanten överfördes till eppendorfrör för att sedan frysas och förvaras i -80°C tills analyser utfördes.

EHC skapar en artificiell hyperinsulinemi med en samtidig euglykemi. De första 120 minuterna anses vara en inställningsperiod. Därefter erhålls ett *steady state*, då det tillförda exogena insulinet hämmat den endogena insulinproduktionen. Den totala mängden infunderad glukos motsvarar då den mängd som kan tas upp av kroppens celler. Detta innebär att värden från glukosflödet kan användas för att kvantifiera insulinkänsligheten hos individen. Det genomsnittliga glukosflödet för de sista 60 minuterna benämns som M värdet.

Muskelbiopsier togs före och omedelbart efter EHC. Biopsierna togs aseptiskt från gluteusmuskulaturen efter det att huden lokalbedövats dels med EMLA topikalt samt genom subcutan injektion med Carbocain (Carbocain, Astra Zeneca, Södertälje, Sverige) innehållande mepivakain 20 mg/ml. Biopsierna frystes omedelbart i flytande kväve och förvarades sedan i -80°C fram till analys. EHC startades 30 minuter efter det att första muskelbiopsin tagits. Resultatet från analyserna av muskelbiopsierna redovisas ej i detta arbete.

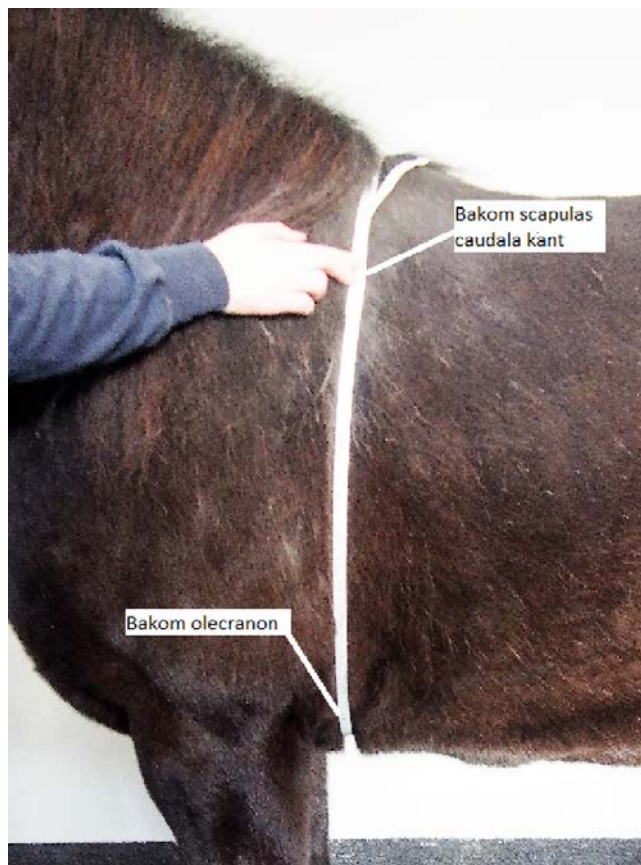
## **Analyser**

Plasmaglukoskoncentrationerna erhållna från både OGT och EHC analyserades med en automatisk klinisk kemi analysapparat (YSI 2300 Stat Plus Analyzer, YSI Incorporated, Yellow Spring, Ohio). Den endogena plasmainsulinkoncentrationen från OGT analyserades med en ELISA (Mercodia Equine Insulin ELISA, Mercodia AB, Uppsala, Sweden) specifik för häst. För kontroll av insulinkoncentrationen användes ett kommersiellt kit (Mercodia Animal Insulin Control (Low, Medium, High), Mercodia AB, Uppsala, Sweden). Plasmainsulinkoncentrationerna från den kontinuerliga infusionen under EHC analyserades med en human ELISA (Mercodia Insulin ELISA, Mercodia AB, Uppsala, Sweden). Ett kommersiellt kit användes som kontroll (Mercodia Diabetes Antigen Control (Low, High)/Human, Mercodia AB, Uppsala, Sweden).

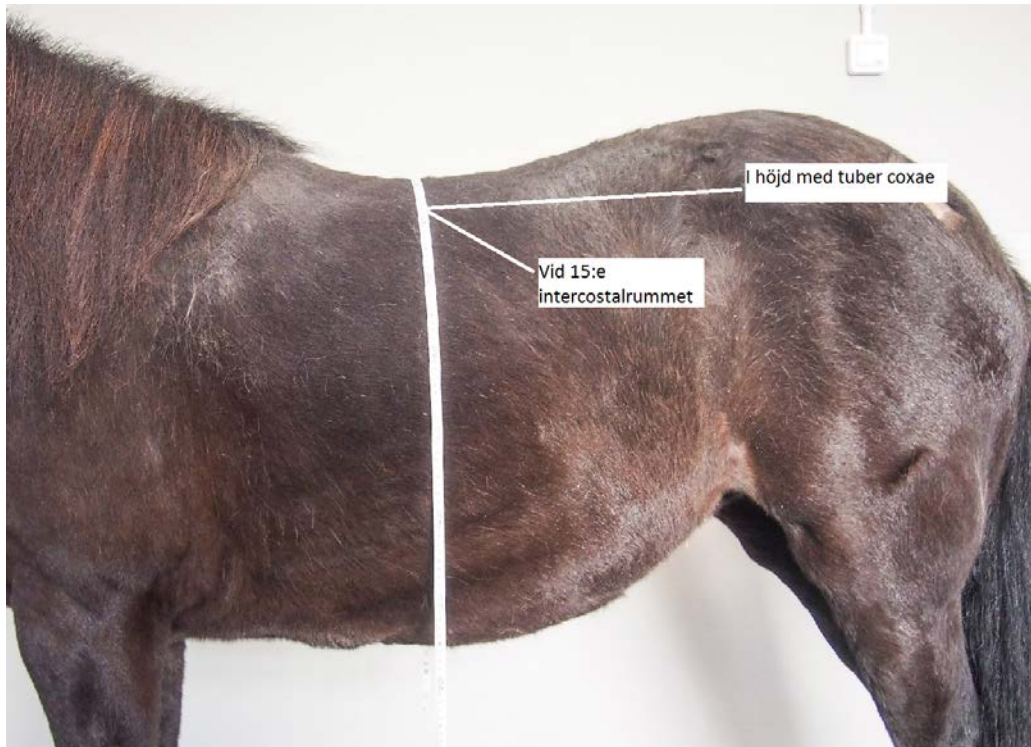
## Hullbedömning

Under vistelsen vägdes hästarna vid ankomst samt inför varje provtagning på en stationär våg. Hullbedömning utfördes enligt BCS (Henneke *et al.*, 1983) som omfattade en bedömning av hästens regionala fettansättningar vid nacken, längs med manke och rygg, över revbenen, bakom bogbladet samt vid svansfästet. Hullbedömningen sammanvägdes och gav en gradering på en skala mellan 1 – 9. Hästens fettdepå längs nackbandsligamentet bedömdes enligt en sexgradig skala (0-5) CNS (Carter *et al.*, 2009a).

Hästen mättes för att få objektiva mått från olika delar på kroppen. Vid mätning av bröstorgens omkrets placerades måttbandet bakom *scapulas caudala* kant samt caudalt om *olecranon*. Vid mätning av bukens omkrets placerades måttbandet vid 15:e *intercostalrummet* i höjd med *tuber coxae*. Måtten togs i slutet av *exspir*. Hästen skulle stå jämt uppställd med vikten fördelad på alla fyra benen.

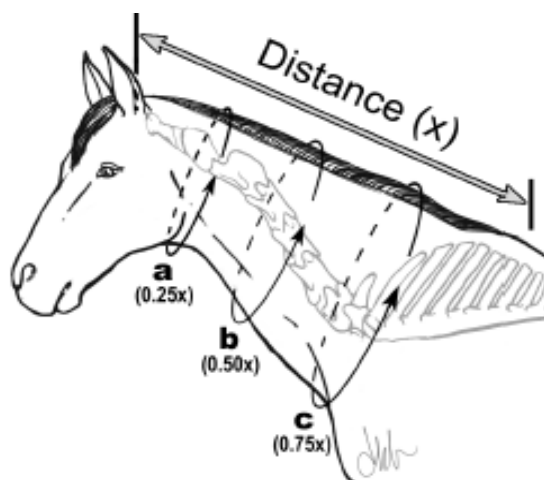


Figur 2. Mått av bröstomfång. Foto: Camilla Anger, 2015.



Figur 3. Mått av bukomfång. Foto: Camilla Anger, 2015.

Då halsen och nacken mättes hölls huvudet i en normal upplyft position. Halsens längd mättes från nackbasen till mankens högsta punkt. Därefter markerades 3 punkter längs halslinjen som motsvarade  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$  och  $\frac{3}{4}$  av halsens längd. Vid dessa tre punkter mättes halsens omkrets (se figur 3). Medelvärdet av måtten beräknades ( $NC_{medel}$ ). Kvoten beräknades mellan det mått på halsens omkrets som uppmättes vid halva halsens längd och hästens mankhöjd ( $0,5NC/mankhöjd$ ). Normalvärden för  $0,5NC/mankhöjd$  klassificerades som  $<0,63$  för häst och  $<0,68$  för ponny (Carter *et al.*, 2009a).



Figur 4. Åskådliggör de olika måtten av halsens omkrets (Carter *et al.*, 2009a).

## Utfodring och uppföljning

Efter provtagningarna återvände hästarna hem till deras privata stallar. Djurägarna skickade in sitt grovfoder för analys av fodrets näringsinnehåll inkluderat värdet av lättlösliga kolhydrater (WSC). Analysen gjordes vid foderlaboratoriet på Sveriges Lantbruksuniversitet, SLU. Med hjälp av agronom Cecilia Muller (institutionen för husdjurens utfodring och vård, SLU) räknades sedan en individuellt anpassad grovfoderbaserad foderstat ut. De hästar som bedömdes vara överviktiga utfodrades för viktreduktion med 75% av det dagliga energibehovet. De hästar som ansågs vara i normalhull erhöll en foderstat anpassad för underhåll men med lågt innehåll av WSC. Under tiden fram till nästa provtagning fick hästarna ej gå på bete för att undvika ett okontrollerat intag av kolhydrater. Djurägarna fick motionera sin häst upp till 1 timme dagligen under viktminskningsperioden. Hästarnas viktminskning följdes upp en gång per månad där djurägarna fick ta mått av hästens bröstorg och buk samt fota hästen från sidan. Måtten noterades i ett specifikt protokoll och skickas tillsammans med fotot via mail till kontaktperson inom forskningsgruppen. Djurägarna fick noggranna skriftliga instruktioner om hur måtten skulle tas. Inom 12 månader erbjöds hästarna att åter komma in till kliniken för ny provtagning. Två månader innan provtagningen stod hästarna på en foderstat för underhåll, för att undvika att undersöka hästarna i ett katabolt tillstånd.

## Statistisk analys

### Kalkyleringar

De första 120 minuterna av EHC användes som en inställningsperiod för att uppnå en stabil blodglukosnivå. När detta uppnåtts, vid *steady state* beräknades arean under kurvan ( $AUC_{\text{glukos}}$ ) för glukosinfusionen över tid under infusionens sista 60 minuter med hjälp av trapezoidmetoden (GraphPad Prism. Version 6,0 för windows, GraphPad Software Inc, San Diego, Kalifornien). Mängden tillförd glukos under *steady state* motsvarar den mängd glukos som tas in i cellerna med hjälp av insulin, och utgör därför ett mått på individens insulinkänslighet. Den genomsnittliga mängden glukos som metaboliseras per minut (M) under *steady state* vid EHC, beräknades enligt följande.

$$M \text{ (mg/kg/min)} = AUC_{\text{glukos}}/60 \text{ minuter}$$

Teoretiskt värde för insulinpeak ( $Insulin_{\text{peak}}$ ) och  $\beta$ -cellsrespons under OGT ( $\beta$ -cellsrespons<sub>OGT</sub>) beräknades genom en nyligen fastställd modell (opublicerade data Lindåse *et al.*, 2016). För beräkningarna användes ett justerat M värde ( $M_{\text{adjusted}}$ ). Värdet tar hänsyn till att det finns ett insulinberoende och ett icke insulinberoende upptag av glukos till cellerna.  $M_{\text{adjusted}}$  är ett värde som enbart anger det insulinberoende upptaget av glukos.

$$M_{\text{adjusted}} = M - 0,57$$

$M_{\text{adjusted}}$  används sedan för att beräkna ett teoretiskt förväntat  $Insulin_{\text{peak}}$  och  $\beta$ -cellsrespons<sub>OGT</sub> (opublicerade data Lindåse *et al.*, 2016).

$$Insulin_{\text{peak}} = 926,7 / M_{\text{adjusted}}$$

$$\beta\text{-cellsrespons}_{\text{OGT}} = 85107,6 / M_{\text{adjusted}}$$

## **Statistiska beräkningar**

Normalhull klassificerades som BCS 4,5 – 5,5, överhull som BCS 6 – 6,5 och fetma som BCS  $\geq 7$ . CNS  $\geq 3$  definierades som förstoraad mankam.

Ett parat t-test användes för att jämföra värden på vikt, M värde, BCS, CNS, bröstomfång, bukomfång,  $NC_{medel}$ , samt kvoten  $0,5NC/mankhöjd$  mellan första och andra undersökningen.

För att studera sambandet mellan olika parametrar användes linjär regression. Sambandet mellan olika mätningar för minskning av fettdepåer (relativ viktneåång samt förändringar i CNS, BCS, bröstomfång, bukomfång,  $NC_{medel}$ ,  $0,5NC/mankhöjd$ ) och förändringen i insulinkänslighet undersöktes. Även sambandet mellan viktneåång och de olika parametrarna för minskning av fettdepåerna studerades.

För statistisk analys användes programmet JMP® Pro 11.0.0. (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA). Värden ansågs statistiskt signifikanta vid P värden  $<0,05$ . Data presenterades som medelvärde  $\pm$  standardavvikelse (SD) och i de fall data inte var normalfördelade som median och interkvartiler.

## **LITTERATURÖVERSIKT**

### **Ekvint metabolt syndrom**

Ekvint metabolt syndrom (EMS) är ett sjukdomskomplex som karaktäriseras av ökad fettansättning, generell eller regional, insulinresistens och predisposition att utveckla fång. (Frank, *et al* 2010). Individer som drabbas är ofta medelålders och äldre hästar. Vissa raser anses predisponerade att utveckla EMS och framförallt ses detta bland ponnyraser (Bamford *et al.*, 2014; Karikoski *et al.*, 2011; Luthersson *et al.*, 2016; Treiber *et al.*, 2006). Misstankar finns även om en genetisk predisposition för sjukdomen (Treiber *et al.*, 2006).

### **Fetma, generell och regional**

Samband mellan övervikt, insulinresistens och utvecklandet av fång har setts i flera studier (Carter *et al.*, 2009a; Hoffman *et al.*, 2003; Treiber *et al.*, 2006). Förekomsten av fetma är vanligt i dagens hästpopulation. Prevalensen överviktiga hästar varierar mellan studier gjorda i olika länder från 24 % (Jensen *et al.*, 2016; Potter *et al.*, 2016) till 51 % (Thatcher *et al.*, 2012). I de studier där djurägaren har fått bedöma sin egen häst har de ofta underskattat hästens hull och gett en lägre hullbedömningspoäng relativt den erfarna bedömaren (Jensen *et al.*, 2016; Potter *et al.*, 2016)

Övervikt ses ofta hos hästar med EMS och anses vara en viktig komponent, dock är den inte alltid närvarande (McCue *et al.*, 2015). Fetma har associerats till utvecklingen av insulinresistens (Hoffman *et al.*, 2003). Hyperinsulinemi, och insulinets anabola förmåga anses kunna inducera fetma hos en individ (Shanik *et al.*, 2008). Dessa hästar är ofta svåra att hålla normalviktiga och refereras ofta till som ”easy keepers”. Foder innehållande mycket stärkelse och socker kan orsaka insulinresistens hos hästar (Hoffman *et al.*, 2003). I studier där fetma inducerats hos hästar genom utfodring baserad på ökad mängd kraftfoder sågs en minskad insulinkänslighet (Carter *et al.*, 2009b). Då de senare utfodrades för att underhålla sin övervikt normaliserades insulinkänsligheten. Däremot hos hästar som utfodrades för att öka i vikt med



hjälp av en grovfoderbaserad diet, innehållande hög fetthalt men låg halt av olika sockerarter förändrades inte insulinkänsligheten hos hästar med måttlig insulinresistens (Lindåse *et al.*, 2016). Viktnedgång med hjälp av träningsprogram och diet (Morgan *et al.*, 2016) alternativt endast genom diet med reducerat energiintag (Van Weyenberg *et al.*, 2008) har associerats med förbättrad insulinkänslighet.

### **Insulinresistens**

Insulin är ett anabolt hormon som normalt medverkar i regleringen av metabolismen av kolhydrater, protein och fett. I samband med en ökad koncentration av glukos i blodet fås en frisättning av insulin från betacellerna i pankreas langherhanska öar, vilket stimulerar upptaget av glukos till cellen. Detta sker med hjälp av vesikelbundna GLUT-4 transportmolekyler till framförallt skelettmuskulatur, fettvävnad och lever (Øystein V. Sjaastad, 2016)

Vid insulinresistens svarar inte vävnaden på det cirkulerande insulinet och upptaget av glukos till cellerna minskar. Detta leder till att glukoskoncentrationen i blodet stiger, vilket stimulerar till ytterligare frisättning av insulin och resulterar i hyperinsulinemi (Morgan *et al.*, 2015). Den kompensatoriska hyperinsulinemi erhålls delvis på grund av den ökade insulinsekretionen från pankreas, men också då nedbrytningen av insulin i levern minskar (Carter *et al.*, 2009b; Hoffman *et al.*, 2003). Hästar med EMS hamnar ofta i detta läge av så kallad kompenserad insulinresistens där det beskrivna förloppet kan fortgå över lång tid. Hos människa ses motsvarande förlopp men utmattningen av betacellerna i pankreas uppstår i ett tidigare skede hos människa (Morgan *et al.*, 2015). När betacellerna i pankreas mattas ut kan insulin ej längre produceras i tillräcklig mängd, vilket leder till utveckling av typ 2 diabetes.

I flertalet studier har det visat sig finnas en säsongsvariation av insulinkoncentrationerna hos häst. Seruminsulinkoncentrationen ökade i övergång från vinter till vår, vilket associerades med den ökade andelen lättlösliga kolhydrater i gräset på betet (Geor, 2010). Ponnyer som ansågs predisponerade att utveckla fång blev insulinresistenta under sommarmånaderna, men då de undersöktes under vintermånaderna erhöles ingen signifikant skillnad i insulinkänslighet mellan dem och kontrollgruppen med friska individer (Bailey *et al.*, 2008). Sommarbetet ansågs leda till metabola förändringar med ökade insulinkoncentrationer och insulinresistens som konsekvens. Intag av annat foder än bete, med hög andel lättlösliga kolhydrater och/eller stärkelse leder till en kraftigare stegring av insulinkoncentrationen hos ponnyer med EMS jämfört med friska individer (Treiber *et al.*, 2008). Hästar med insulinresistens är mer benägna att få hyperinsulinemi och utveckla fång då de står på en diet med högt innehåll av lättlösliga kolhydrater (Bailey *et al.*, 2008; Carter *et al.*, 2009b).

Det finns ett flertal olika test för att diagnosticera insulinresistens hos häst. Det finns dynamiska test som anses vara ”gold standard” i att kvantifiera insulinkänsligheten hos en individ. Dessa är tidskrävande och kostsamma och används därför framförallt inom forskning exempel på dessa är euglykemisk hyperinsulinemisk clamp (EHC) och frekvent provtagning av ett intravenöst glukostoleranstest (FSIGTT) (Johnson *et al.*, 2012). Det finns även enklare dynamiska tester som med fördel kan användas för klinisk diagnostik av insulinresistenta hästar så som kombinerat glukos och insulintest (CGIT) och oralt glukostoleranstest (OGT) (Eiler *et al.*, 2005; Lindåse *et al.*, 2016). Dessa förenklade tester bygger på att insulin och glukos analyseras efter att per oral eller intravenös glukosgiva getts. En enklare variant är ett statistiskt test där fastenivåer av glukos och insulin fastställs. Dessa är enkla att utföra, men mindre känsliga för att detektera insulinresistens.

## **Fång i samband med EMS**

Hästar som är insulinresistenta löper en ökad risk för att utveckla fång (Frank *et al.*, 2010). Ponnyer med EMS har 10 gånger högre risk att drabbas av fång jämfört med friska ponnyer (Treiber *et al.*, 2006). Den vanligaste orsaken till att en häst utreds för EMS är att de nyligen haft fång eller haft återkommande episoder av fång. Då hästar drabbas av fång i fält är den vanligaste orsaken att de lider av underliggande endokrinologisk sjukdom (Mcgowan, 2010). Av 36 hästar som remitterades till ett djursjukhus på grund av fång hade 89% endokrin sjukdom (Karikoski *et al.*, 2011). Två tredjedelar av dessa hade hyperinsulinemi, varav 95% var överviktiga. Intag av hög andel lättlösliga kolhydrater ger en kraftigare stegring av insulin i blodet hos ponnyer med EMS jämfört med friska kontrollponnyer (Carter *et al.*, 2009). Detta är kopplat till en ökad incidens av fång. De högre plasmainsulinkoncentrationerna som ses hos hästar med EMS är också korrelerat till obelgraden av fång (Walsh *et al.*, 2009). I samband med att hästen utvecklar klinisk fång ses en stegrande hyperinsulinemi. Vissa individer klarar ej av att kompensera detta och utvecklar ett diabetesliknande tillstånd (Treiber *et al.*, 2006).

Genom att utsätta friska unga normalviktiga ponnyer respektive varmblodiga travare, för höga koncentrationer av insulin men med bibehållna normala nivåer av glukos under en längre tid (48-72h) har man lyckats inducera fång. Infusionen med insulin resulterade i kliniska tecken på fång (De Laat *et al.*, 2010), som också konfirmerades genom histopatologisk undersökning (Asplin *et al.*, 2007). De nivåer av insulin som dessa hästar utsätts för är högre än vad som uppmätts hos hästar med EMS (Asplin *et al.*, 2007).

Insulin är ett hormon som påverkar kroppen både metabolt och vaskulärt (De Laat *et al.*, 2010). Utvecklingen av fång associeras ofta med ett stort intag av foder med högt sockernehåll. De höga blodsockernivåer som följer ett sådant foderintag är nära kopplat till den efterföljande responsen av höga insulinnivåer. Keratinocyterna i hovens lameller har ett stort behov av glukos (Johnson *et al.*, 2010). Teorier har funnits att insulinresistens har givit upphov till ett påverkat upptag av glukos i keratinocyterna, vilket gett upphov till separation mellan lamellerna. Det är dock visat att den insulinberoende transportmolekylen GLUT-4 inte finns närvarande i hovens keratinocyter (Asplin *et al.*, 2011).

Hyperglykemin som uppstår vid insulinresistens kan direkt påverka de vaskulära endotelcellerna, så kallad glukotoxisk endoteliopati. Över tid kan de höga värdena av glukos påverka endotelcellernas förmåga att reglera blodkärlens diameter och ge en vasokonstriktion. Denna förknippas med den hypertension som observerats hos hästar med insulinresistens (Bailey *et al.*, 2008). Insulinresistensens påverkan på endotelcellerna kan också medföra att röda blodplättar och vita blodkroppar (leukocyter) adhererar till endotelcellernas yta (Johnson *et al.*, 2010). Detta skulle teoretiskt kunna leda till en microvaskulär dysreglering och med ökad risk för fång på grund av de effekter insulinresistensen utövar på den vaskulära kärnbädden.

Fetma har länge kopplats till förekomsten av fång (Johnson *et al.*, 2010). Det direkta sambandet har dock inte kunnat verifieras. Sekretionen av proinflammatoriska cytokiner (adipokiner) från fettväven är en teori som föreslagits ligga till grund. Adipokiner har normalt en autokrin och parakrin effekt, men i samband med fetma har höga nivåer visats ha en endokrin effekt. Högre nivåer av tumörnekrosfaktor -  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) och interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) har observerats hos hästar med fetma (Vick *et al.*, 2007). Dessa har föreslagits bidra till utvecklingen av insulinresistens och därmed en ökad risk att utveckla fång.

## Hantering av hästar med EMS

Medicinsk behandling har visat sig vara verkningslös för att öka insulinkänsligheten hos hästar med EMS (Tinworth *et al.*, 2011). Behandling av hästar med EMS avser att minska insulinresistensen genom viktnedgång och diet innehållande låg andel lättlösliga kolhydrater. Viktnedgång kan uppnås genom att begränsa energiintaget samt genom ökad fysisk aktivitet (Geor & Harris, 2009; Johnson *et al.*, 2004; McGowan, 2008).

Dietåtgärder tillsammans med ökad fysisk aktivitet kan bidra till att hästen minskar i vikt och förbättrar sin insulinkänslighet (Freestone *et al.*, 1992; Morgan *et al.*, 2016; Walsh *et al.*, 2009). Morgan *et al.*, (2016) har visat att ett individuellt anpassat diet- och motionsprogram har kunnat följas av djurägaren med god *compliance* och därigenom genererat en förbättrad insulinkänslighet hos hästarna. I studien gjord av Walsh *et al.*, (2009) fanns individuella skillnader i hur mycket hästarna hade minskat i vikt, vilket diskuterades kunna bero på graden av motion, då hästar med klinisk fång ej kunde motioneras i samma utsträckning. Johnson *et al.*, (2004) påpekar också att hästarna i samband med ett smärtsamt fånganfall ej kan använda sig av fysisk aktivitet för att minska övervikten. Istället kan insulinkänsligheten hos dessa hästar försämrats på grund av den ökade kortisolsekretionen, som uppstår i samband med den stress hästen utsätts för i samband med ett fånganfall.

Viktnedgång endast med hjälp av reducerat energiintag har visats ge förbättrad insulinkänslighet hos ponnyer med hyperinsulinemi (Freestone *et al.*, 1992). Att minska sin vikt med 1% av den totala kroppsvikten per vecka, under en period av 17 veckor, har visats ge förbättrad insulinkänslighet (Van Weyenberg *et al.*, 2008). Denna grad av viktnedgång har inte setts påverka hästens välfärd negativt då den applicerats under en 12-veckorsperiod (Dugdale *et al.*, 2010). För att uppnå en viktreduktion motsvarande 1% av kroppsvikten per vecka kan energiintaget begränsas till 70% av underhållsbehovet. Detta fungerar initialt, men måste senare korrigeras när hästen minskar i vikt för att fortsatt viktreduktion ska erhållas (Van Weyenberg *et al.*, 2008). Det rekommenderas att ge hästarna ett foder med ett lågt innehåll av lättlösliga kolhydrater, samt undvika spannmål och betesgräs (Geor, 2010; Johnson *et al.*, 2004). Att fodra med en WSC-halt under 10–12% av TS-halten har rekommenderats (Frank *et al.*, 2010). Genom att blötlägga fodret i 12 timmar kan ett lägre innehåll av WSC uppnås (Müller *et al.*, 2016). Detta kan dock påverka fodrets hygieniska kvalitet (Müller *et al.*, 2015).

Påverkan och effekten av träning på insulinkänsligheten har varierat mellan studier. Genom att addera träning till ett dietprogram sågs en skillnad och snabbare förbättring av insulinkänsligheten jämfört med de som endast stod på diet (Freestone *et al.*, 1992). Under senare provtagningar sågs dock ingen signifikant skillnad mellan grupperna. Därav tolkades den förbättrade insulinkänsligheten framförallt bero på graden av viktnedgång och inte på träningen i sig. Dock har viktreduktion erhållen av ökad fysisk aktivitet utan dietära åtgärder inte visat ge en förbättrad insulinkänslighet hos hästar med övervikt och insulinresistens (Carter 2010). Författaren påpekar att träningen kan ha en additiv effekt på viktreduktionen och att träning kan användas i kombination med dietära åtgärder. Powell *et al.*, (2002) såg dock en förbättrad insulinkänslighet under en veckas lågintensivt arbete utan förändring i kroppsvikt eller förändrad diet. Även vid jämförelse av olika intensitet vid träning (hagvistelse, lätt respektive måttlig intensitet) sågs en ökad insulinkänslighet i samband med en ökad intensitet vid undersökning av insulinkänsliga hästar (Turner *et al.*, 2011).

Olika resultat har erhållits angående varaktigheten av effekten på insulinkänsligheten som fås med träning. Enligt Powell *et al.*, (2002) sågs en återgång till normaliserade värden inom 9 dagar. Däremot kunde Freestone *et al.*, (1992) se en fortsatt effekt på insulinkänsligheten 6 veckor efter att träningsperioden avslutats. Därför rekommenderas regelbunden motion för att

upprätthålla de goda effekterna på insulinkänsligheten som träning visats ge (de Graaf-Roelfsema *et al.*, 2012). Under och i direkt anslutning till träningspasset kan insulinkänsligheten minska (Gordon *et al.*, 2007; Pratt *et al.*, 2007). Förändringarna tros bero på den ökade koncentrationen av katekolaminer i samband med träning, vilka inhiberar insulinets effekter (McKeever, 2002).

## RESULTAT

Av de 20 hästar som påbörjade studien var det endast 11 som fullföljde. Anledningar till att hästarna inte kom tillbaka för en andra undersökning var exempelvis, dödsfall av annan orsak än EMS (2), sjukdom hos häst eller djurägare (2), att de ej hade följt studiens upplägg eller att de ej valt att fullfölja studien av annan orsak (5). Hästar som inte deltog i andra undersökningen motsvarar bokstäverna D, F, G, K, M, S, U, V, X i tabell 1.

Totalt 11 stycken hästar och ponnyer deltog i den uppföljande undersökningen. Åtta ston och 3 valacker. De raser som representerades var islandshäst (5), minshetlandponny (2), halvblod (1), highlandponny (1), svensk ridponny (1), welshponny (1). Medelåldern på hästarna vid andra undersökningen var 14,5 ( $\pm$  4,7). Nio av hästarna hade tidigare haft fång, men ingen hade kliniska tecken på fång i samband med undersökningarna. Tiden mellan första och andra undersökningen var 428  $\pm$  73 dagar. Nio djurägare har under studien skickat in foder för analys av WSC.

### Hullbedömning

Vid den uppföljande undersökningen hade 9 av 11 hästar minskat i vikt (tabell 2.). En av de hästar som inte hade minskat i vikt betraktades vid första undersökningen vara i normalhull BCS  $\geq$ 5,5 och hade inte haft foderstat anpassad för viktreduktion. Sammantaget hade hästarna en signifikant lägre kroppsvikt som i medeltal minskat med 20,2  $\pm$  21,4 kg ( $p = 0,01$ ) vid den uppföljande undersökningen jämfört med den första undersökningen. Procentuellt minskade hästarna sin vikt i medeltal med 5,8%.

Vid den första undersökningen hade de hästar som medverkade i båda undersökningarna BCS  $\geq$ 5,5. Tre hästar ansågs vara i normalhull, 2 stycken ansågs vara i överhull och 6 bedömdes vara feta. Alla hästar utom en hade CNS  $\geq$ 3. Två av hästarna hade vid den uppföljande undersökningen oförändrad BCS medan övriga 9 hästar hade minskat sina hullbedömningspoäng. Vid den uppföljande undersökningen bedömdes 6 stycken vara i normalhull, en i överhull och resterande 4 ansågs vara feta. Hästarnas BCS sänktes i medeltal med 1  $\pm$  0,9 enheter ( $p = 0,07$ ) (tabell 2.). Åtta av hästarna hade minskat sin fettansättning i nacken medan resterande 3 hade oförändrad bedömning av CNS. Fyra av hästarna hade vid den andra undersökningen ett CNS som var  $<$ 3. Under studien sänktes CNS i medeltal med 0,5  $\pm$  0,4 enheter ( $p = 0,004$ ).

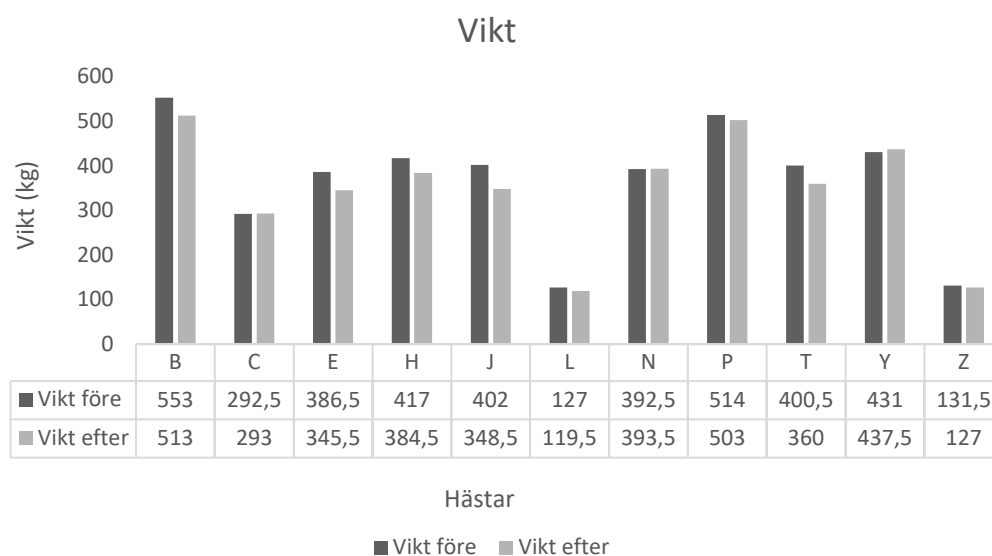
Samtliga hästar förutom 2 hade minskat sin omkrets runt bröstkorgen. I medeltal minskade bröstomkretsen med 4,7  $\pm$  4,1 cm ( $p = 0,004$ ) (tabell 2.). Alla hästar utom en hade minskat sitt bukomfång,  $\Delta$ 7,2  $\pm$  5,4 cm ( $p = 0,001$ ). Alla hästar hade minskat sitt NC<sub>medel</sub>,  $\Delta$ 3,8  $\pm$  3,1 cm ( $p = 0,002$ ). Nio hästar hade fått en lägre kvot NC/mankhöjd,  $\Delta$  0,02  $\pm$  0,02 ( $p = 0,04$ ).

Skillnaden i vikt hos hästarna mellan de båda undersökningarna jämfördes med förändringen av hästarnas fettdepåer uttryckt som BCS och CNS. Viktminskningen var associerad med en minskning av hästarnas hull uttryckt som BCS ( $r^2 = 0,67$ ,  $p = 0,002$ ) men den var däremot inte signifikant associerad till förändringen av CNS ( $r^2 = 0,35$ ,  $p = 0,06$ ).

Viktminskningen korrelerades också till objektiva mått från olika delar av hästarnas kroppar. Skillnaden i vikt mellan första och andra undersökningen var associerad till en minskad omkrets av bröstkorgen ( $r^2 = 0,45$ ,  $p = 0,02$ ), och till en reduktion av bukomfånget ( $r^2 = 0,54$ ,  $p = 0,01$ ). Viktminskningen var också associerade till minskade värden av  $NC_{medel}$  och  $0,5NC/mankhöjd$  ( $r^2 = 0,69$ ,  $p = 0,002$  respektive  $r^2 = 0,49$ ,  $p = 0,02$ ).

Figur 5. Tabell över kliniska data från första och andra undersökningen, medelvärde  $\pm$  standardavvikelse eller medianvärde och interkvartiler

Parameter	Första undersökningen	Andra undersökningen	P - värde
Vikt (kg)	368 $\pm$ 136	348 $\pm$ 129	0,01
M (mg/kg/min)	1,2 $\pm$ 0,3	1,7 $\pm$ 0,5	0,03
Body condition score (BCS)	7 $\pm$ 1,3	6 $\pm$ 1,3	0,007
Cresty neck score (CNS)	3,8 $\pm$ 0,6	3,3 $\pm$ 0,8	0,004
$NC_{medel}$ (cm)	96,2 (86,5 – 101)	90,3 (77,8 – 100)	0,002
Kvoten $0,5NC/mankhöjd$	0,69 $\pm$ 0,05	0,67 $\pm$ 0,07	0,04
Omkrets bröstkorg (cm)	165,1 $\pm$ 27,4	160,5 $\pm$ 25,7	0,004
Omkrets buk (cm)	179,9 $\pm$ 25,3	172,7 $\pm$ 24,6	0,001

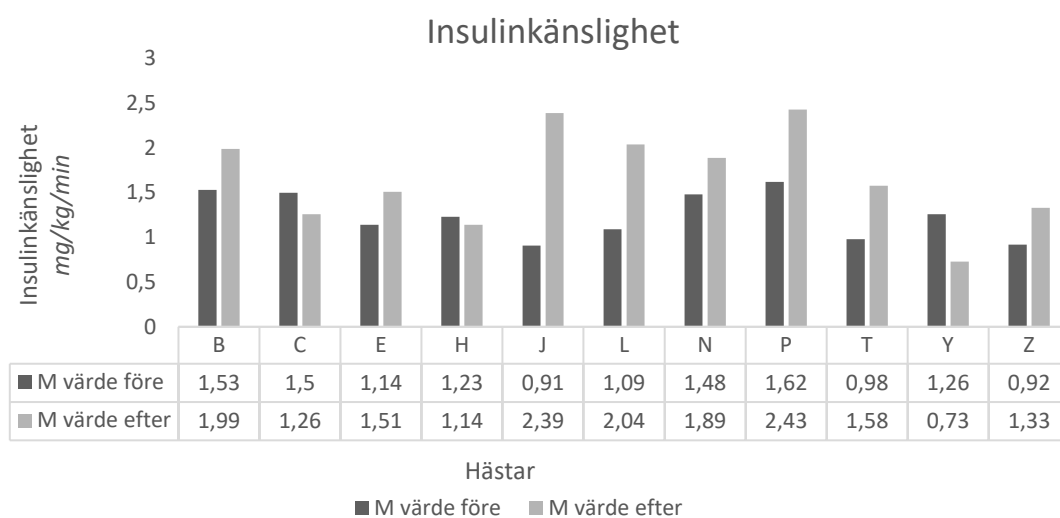


Figur 6. Hästarnas individuella vikt vid första och andra undersökningen.

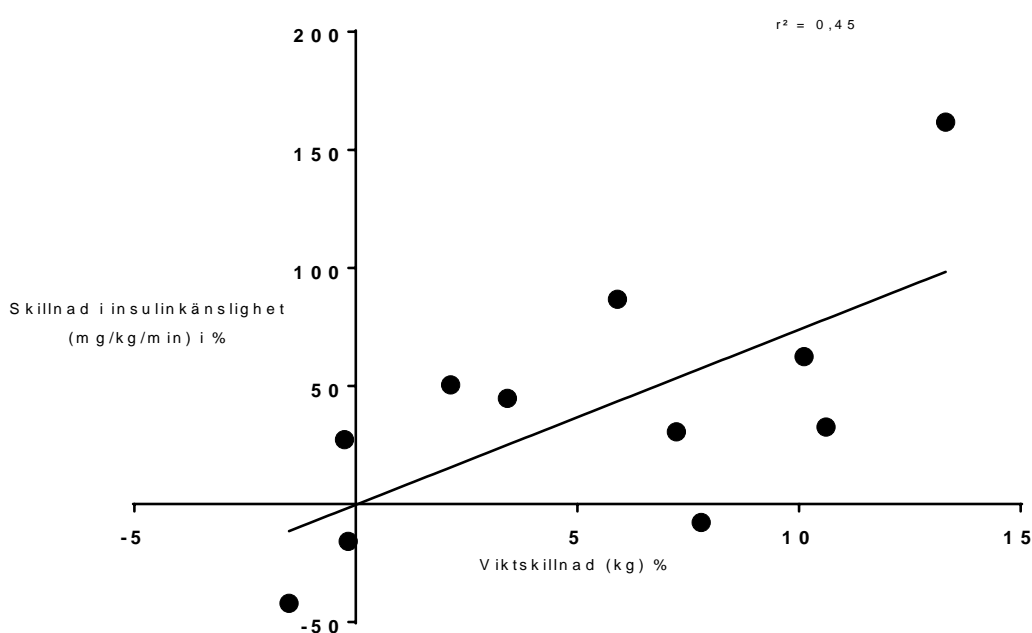
## Insulinkänslighet

Vid första undersökningen hade samtliga hästar ett M värde under 2 mg/kg/min och betraktades som insulinresistenta (opublicerade data Lindåse *et al.*, 2016). Vid andra undersökningen hade 8 av 11 hästar hade ett högre M värde, vilket tyder på att insulinkänsligheten förbättrats. Tre av hästarna hade nu ett värde mellan 2 – 3 mg/kg/min och betraktas som intermediärt insulinresistenta (opublicerade data Lindåse *et al.*, 2016). Insulinkänsligheten hade förbättrades i medeltal med  $0,4 \pm 0,6$  mg/kg/min ( $p = 0,03$ ) (tabell 2.).

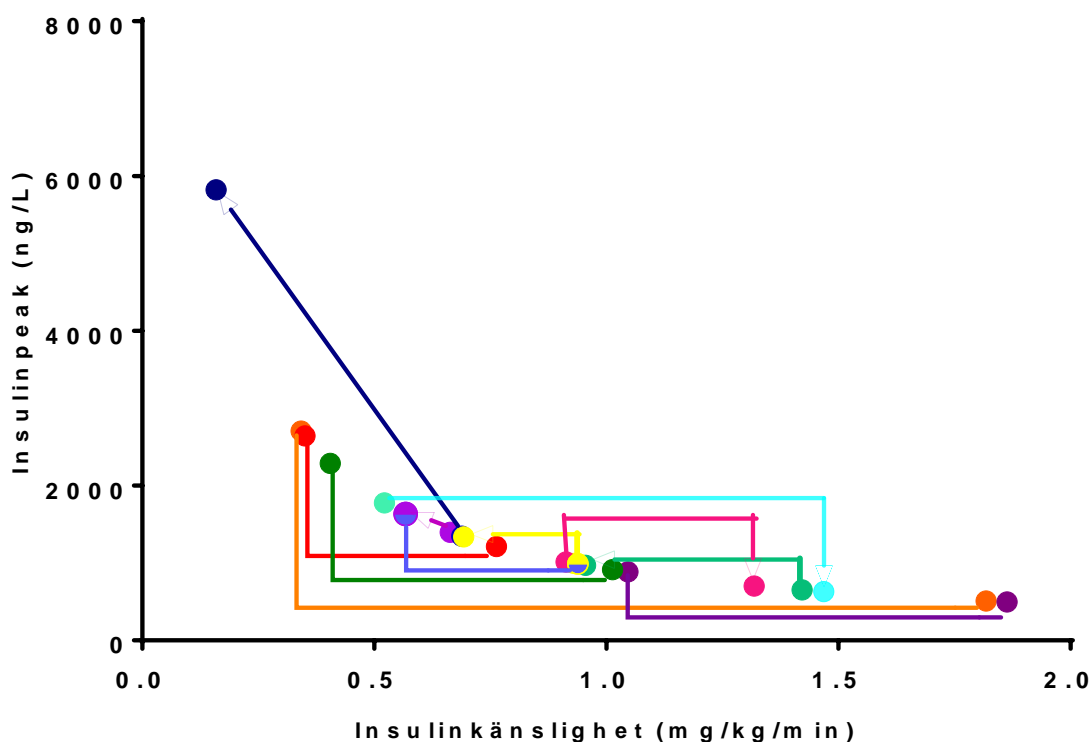
Viktförändringen hos alla hästar uttryckt i procent av ursprungsvikten var korrelerad till den procentuella förändringen av M värdet ( $r^2=0,45$ ,  $p=0,02$ ). Det innebär att 45% av ökningen i insulinkänslighet kunde relateras till effekten av viktminskningen hos hästarna. Förändringen av CNS och av 0,5NC/mankhöjd var signifikant korrelerade till förändringen i insulinkänslighet ( $r^2 = 0,57$ ,  $p=0,007$  respektive  $r^2 = 0,51$ ,  $p = 0,01$ ).



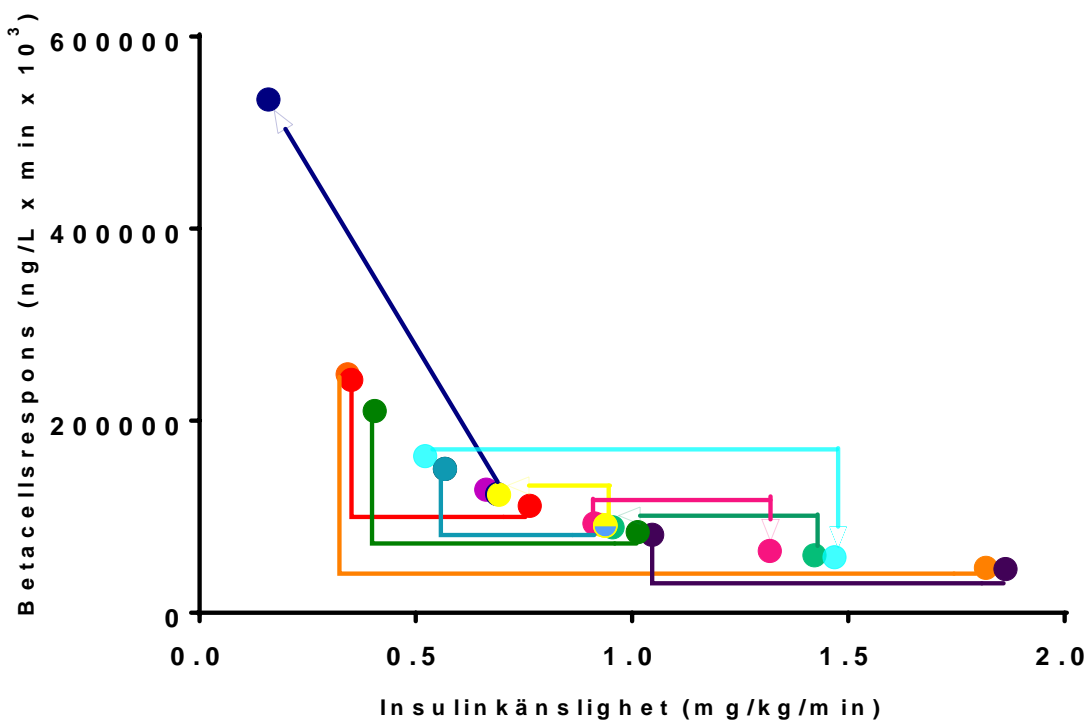
Figur 7. Hästarnas individuella värden för insulinkänslighet (M värde) vid första och andra undersökningen.



Figur 8. Korrelation mellan den procentuella förändringen i vikt och den procentuella förändringen i insulinkänslighet



Figur 9. Grafen illustrerar hästarnas förändring i insulinkänslighet och insulinpeak. Varje häst har en egen färg med en pil i riktning mot den andra undersökningen som gjordes.

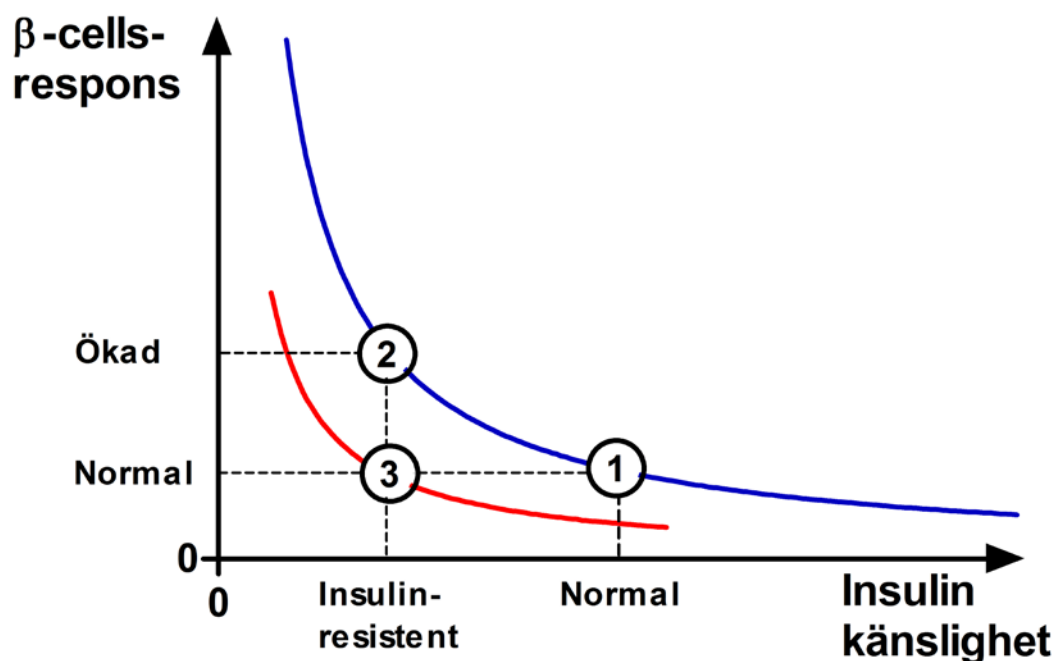


Figur 10. Grafen illustrerar hästarnas förändring i insulinkänslighet och betacellsrespons. Varje häst har en egen färg med en pil i riktning mot den andra undersökningen som gjordes.

## DISKUSSION

Denna studie visar att en signifikant viktminskning går att uppnå genom en individuellt anpassad foderstat med ett restriktivt energiintag. Studiens resultat visar att en erhållen viktreduktion ger en ökad insulinkänslighet hos hästar med EMS. Detta stämmer väl överens med tidigare studier (Morgan *et al.*, 2016; Van Weyenberg *et al.*, 2008). Viktminskningen förklarar delvis den ökade insulinkänsligheten, men troligt är att flertalet faktorer spelar in och påverkar insulinresistensen och att EMS är ett multifaktoriellt sjukdomskomplex. Trots att nästan alla hästar i studien uppnådde en signifikant viktminskning och förbättrad insulinkänslighet så betraktas hästarna fortfarande som insulinresistenta. Ur ett kliniskt perspektiv är det frustrerande att förbättringen av hästarnas insulinkänslighet efter viktreduktionen var så begränsad.

Det är dock inte insulinresistensen i sig som utgör riskfaktorn för att utveckla fång. Det är hur stor den postprandiella hyperinsulinemin är. Den kan beskrivas som insulinpeakvärdet i samband med en OGT och är mått på hur stort det kompensatoriska svaret från betacellerna är. Insulinkänsligheten är kopplad till betacellsresponsen. Genom att förbättra insulinkänsligheten kan det postprandiella insulinsvaret minska.



Figur 11. Den schematiska grafen illustrerar vikten av att uttrycka betacellsresponsen i förhållande till insulinkänsligheten genom att använda disposition index (DI). DI är en konstant, vilken är produkten av betacellsresponsen multiplicerat med insulinkänsligheten. Punkt 1, visar hur en individ reagerar på en minskad insulinkänslighet genom att öka sin betacellsrespons, vilket motsvarar punkt 2. Punkt 3 visar att en individ som har en påverkad glukos tolerans inte ökar sin betacellsrespons. Vid stadie 2 är betacellsresponsen ökad, men DI är oförändrad, och glukostoleransen är normal (kompenserad insulinresistens). Vid punkt 3 är betacellsresponsen normal, men är inte tillräcklig för att kompensera för den minskade insulinkänsligheten. I detta fall har glukosintolerans utvecklats. Försämrade glukostolerans kan uppstå på grund av defekter i betacellsresponsen och/eller genom defekt i insulinkänsligheten.



Utredningar av sambandet mellan insulinkänslighet och insulinsekretion har visat på en hyperbol ekvation där produkten av de båda variablerna är konstant vid en given grad av glukostolerans. Denna produkt kallas disposition index (DI). Ett hyperbolt samband innebär att en förändring av den ena variabeln leder till en inverterad förändring av den andra variabeln. I detta fallet innebär det att en ökad insulinkänslighet leder till en nedreglering av betacellsresponsen, och vice versa. Det inverterade förhållandet mellan insulinkänslighet och insulinsekretion kräver att båda dessa variabler undersöks oberoende av varandra. I studien gjord av Lindåse *et al.*, (opublicerad, 2016) mättes insulinkänsligheten med EHC och insulinsekretionen med OGT. EHC anses vara ”gold standard” för att mäta insulinkänsligheten. Genom att beräkna det justerade M värdet fås ett mått på det insulinberoende upptaget av glukos till kroppens celler. OGT är ett dynamiskt test som mäter betacellsresponsen och insulinpeaken som svar på en glukosgiva. Fördelen med att administrera glukosen peroralt är att det är ett mer fysiologiskt i förhållande till tester där glukos administreras intravenöst. Dock finns det felkällor som påverkar resultatet av en OGT, så som gastrointestinala hormoner, problem relaterade till tömningen av magsäcken och fördröjd absorption av den administrerade dosen glukos. Så länge som kroppen kompenserar den minskade insulinkänsligheten i samband med insulinresistens genom en ökad insulinsekretion från betacellerna så kommer DI förbli konstant. Det är först då den ökade insulinsekretionen inte är tillräcklig i förhållande till den minskade insulinkänsligheten som DI ändras och diabetes typ II utvecklas. Hästar utvecklar sällan diabetes typ II utan förblir i det kompenserade stadiet. På grund av det icke linjära hyperbola sambandet kommer hos hästar med kompenserad insulinresistens, med en i grunden mycket låg insulinkänslighet, få stora förändringar i det postprandiella insulinsvaret efter mycket små förbättringar eller försämringar i insulinkänslighet. Detta innebär att en liten förbättring av insulinkänsligheten hos hästar med EMS leder till en relativt stor minskning av den postprandiella hyperinsulinemin som uppstår efter foderintag. Därmed minskas risken för att utveckla fång. Också det motsatta kan hända. I den här studien var det en häst (Y) som försämrade sin insulinkänslighet och uppnådde det lägsta uppmätta M värdet under hela studien vid den uppföljande undersökningen. Den hästen fick en dramatisk ökning av det postprandiella insulinsvaret. Hästen fick senare fång och avlivades till följd av detta efter att studien fullföljts.

En brist i den här studien är att insulinsekretionen från betacellerna inte har mätts genom den utförda OGT:n. Då laboratoriet ej kunde analysera proverna inom den angivna tiden för publicering fick värdena istället räknas fram. Detta var möjligt på grund av nyligen utförda studier som anger DI för EHC och OGT (opublicerade data Lindåse *et al.*, 2016).

Andra sätt att minska det postprandiella insulinssvaret efter utfodring är att minska innehållet av WSC i fodret. Det kan uppnås genom att köpa specialanpassat foder från leverantörer som har skördat grovfoder med ett lågt innehåll av WSC. Ett lägre innehåll av WSC kan också erhållas genom att blötlägga fodret (Müller *et al.*, 2016). Den metoden har dock visats påverka fodrets hygieniska kvalitet (Müller *et al.*, 2015) och kan vara jobbig att utföra vintertid då vattnet fryser. Dessutom finns det stor variation i hur mycket WSC som reduceras i samband med blötläggning (Müller *et al.*, 2016).

Tyvärr var det många hästar som inte fullföljde studien. Vissa av naturliga orsaker så som sjukdom eller dödsfall av annan orsak än EMS men också på grund av dålig *compliance*. En av framgångsfaktorerna i Morgan *et al.*, (2016) studie ansågs vara att det gjordes täta uppföljningar med återbesök, vilket ansågs öka *compliance*. I den här studien skulle djurägarna mäta och fota sina hästar i deras hemmiljö en gång i månaden för att objektiva data skulle erhållas och

för att hästarnas viktreduktion skulle kunna följas. Flertalet struntade i detta, vissa följde heller inte den uträknade foderstaten och lyckades därmed inte med att banta sin häst. Flertalet valde också att inte komma tillbaka för en uppföljande undersökning. Kanske är det svårare att erhålla en god *compliance* över en längre behandlingsperiod. Ett återkommande problem är att många djurägare anser att deras häst är i normalhull trots att den fortfarande bedöms vara överviktig. Utbildning av djurägare för att kunna utvärdera sin hästs hull och för att förstå fördelarna med att ha en häst i normalhull anses vara en nödvändighet för att uppnå viktreduktion och åstadkomma behandlingsresultat hos hästar som lider av fetma. Att behandla en häst med EMS är ett långsiktigt och krävande arbete för både veterinär och djurägare.

I studien fanns en stor individuell skillnad mellan hästarnas grad av viktminskning. Det har i en tidigare studie setts att hästar med fetma, som utfodrats för viktminskning genom reducerat energiintag, blev refraktära i sitt svar och inte minskade i vikt som förväntat (Argo *et al.*, 2012). I studien utförd av Morgan *et al.*, (2016) gick hästarna ner i medeltal  $43 \pm 39,3$  kg under en tidsperiod på 3 till 6 månader. En så snabb viktminskningen kunde inte uppnås i den här studien. Dock kan en allt för snabb viktminskning inte anses optimal ur fysiologisk synvinkel. En snabbare viktminskning kanske kunde erhållits även i denna studie om ett specifikt motionsprogram tillämpats. Hästarnas individuella träningsintensitet före och mellan undersökningarna har varit svår att kontrollera. Träningsmängd- och intensitet är faktorer som kan påverka grad av viktminskning och förbättra insulinkänsligheten (Freestone *et al.*, 1992; Turner *et al.*, 2011). Dock finns inga entydiga bevis för att träning har en positiv effekt på insulinkänsligheten hos insulinresistent hästar. Då det endast finns ett fåtal studier som visar på en ökad insulinkänslighet i samband med ökad mängd träning kan vi inte avgöra dess relevans för den förändrade grad av insulinkänslighet som hästarna erhållit under studien. Avsaknaden av ett specificerat motionsprogram visar däremot att denna metod är applicerbar även då det är kontraindicerat med motion, exempelvis i samband med fång.

De objektiva mätvärden som använts i studien samt BCS kan användas som kliniska parametrar för att identifiera och följa viktnedgången hos en individ som behandlas med dietära åtgärder vid EMS. Detta kan vara till hjälp för djurägare som har svårt att bedöma sin hästs hull (Jensen *et al.*, 2016; Potter *et al.*, 2016). *Body condition score* var en av de parametrar som bäst kunde förutsäga viktminskningen. *Body condition score* är emellertid ett subjektivt sätt att bedöma hullet på en häst. För att minska felkällan i den här studien gjorde en observatör bedömningen av alla hästarna. Det kan vara svårt för en djurägare att använda sig av BCS då tekniken kräver specifika kunskaper och mycket träning för att användas. Ett annat problem med BCS är att den är framtagen för Quarterhästar och metoden skulle säkerligen behöva anpassas till olika raser. Dugdale med medarbetare (2010) visade i en studie att BCS inte var en bra markör för viktreduktion tidigt i en viktminskningensperiod. Detta stämmer överens med att Argo *et al.*, (2012) identifierade en ökning av subcutana fettdepåer efter 6 veckor på restriktiv diet. Detta kan innebära att BCS är ett bra hjälpmedel för att identifiera viktreduktion i ett längre perspektiv, men att den i det initiala skedet kan vara missvisande. Objektiva mätmetoder som identifierar viktreduktion och kanske kan vara bättre lämpade att utföras av djurägare är exempelvis  $NC_{medel}$  och att mäta bukomfånget på hästen. Dessa mått är enkla att ta och kan dokumenteras, vilket gör att hästens viktreduktion under behandlingsperioden kan följas. På detta sätt kan mer konkret information erhållas i samband med de kontinuerliga återbesöken hos veterinären, där denne kan utvärdera behandlingsresultatet delvis med hjälp av de tagna måtten men även genom att göra en hullbedömning av hästen enligt BCS. I dagsläget vet vi inte om fetma och de regionala fettansättningar som ofta identifieras hos hästar med EMS ger en direkt effekt på insulinkänsligheten och hästens ämnesomsättning eller om de uppstår

till följd av en i grunden störd ämnesomsättning. Däremot vet vi att fetma är associerat till utvecklingen av insulinresistens hos häst (Hoffman *et al.*, 2003) och att denna ger ett ökat postprandiellt insulinsvar och därmed en ökad risk att utveckla fång.

I vår studie har hästarnas insulinresistens förändrats och i ett fåtal fall blivit sämre. En trend kan ses att de hästar som hade en mer uttalad resistens vid första undersökningen hade svårare att förbättra sin insulinkänslighet, vilket kan tyda på att insulinresistensen hos dessa hästar är mer manifest och därför svårare att påverka. Även om de hästar som förbättrat sin insulinkänslighet inte kan betraktas som friska, så kan en liten ökning av insulinkänsligheten genom sitt hyperbola samband medföra att det postprandiella insulinsvaret minskar kraftigt och gör att hästen minskar sin risk för att utveckla fång. Hur mycket insulinkänsligheten måste öka respektive den postprandiella betacellsresponsen måste minska för att erhålla säkra nivåer i samband med utfodring är i dagsläget okänt.

## **KONKLUSION**

Resultatet av den här studien indikerar att det finns ett samband mellan viktminskning och en förbättrad insulinkänslighet hos hästar med EMS. Dock är inte den ökade insulinkänsligheten som erhålls av viktreduktionen tillräcklig för att hästar med EMS efter behandlingsperioden ska kunna betraktas som friska. Det är det kompensatoriska svaret från betacellerna och storleken på den postprandiella hyperinsulinemin som är riskfaktorn för att utveckla fång. På grund av det hyperbola sambandet mellan insulinkänsligheten och insulinsekretionen, kommer hästar med insulinresistens och EMS endast att behöva en liten förbättring av insulinkänsligheten för att få en stor minskning i det postprandiella insulinsvaret mätt som insulinpeakvärdet efter en OGT och därmed minska risken för att utveckla fång. Studien tyder på att BCS är en användbar metod för att bedöma om hästen har minskat i vikt. Även objektiva mått tagna av hästens hals, bröskorg och buk kan vara en värdefull hjälp för att följa hästens viktminskning i samband med bantning hos hästar med EMS.

## LITTERATURFÖRTECKNING

- Argo, C.M., Curtis, G.C., Grove-White, D., Dugdale, A.H.A., Barfoot, C.F., Harris, P.A., 2012. Weight loss resistance: A further consideration for the nutritional management of obese Equidae. *Vet. J.* 194, 179–188. doi:10.1016/j.tvjl.2012.09.020
- Asplin, K.E., Curlewis, J.D., McGowan, C.M., Pollitt, C.C., Sillence, M.N., 2011. Glucose transport in the equine hoof. *Equine Vet. J.* 43, 196–201.
- Asplin, K.E., Sillence, M.N., Pollitt, C.C., McGowan, C.M., 2007. Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies. *Vet. J.* 174, 530–535. doi:10.1016/j.tvjl.2007.07.003
- Bailey, S.R., Habershon-Butcher, J.L., Ransom, K.J., Elliott, J., Menzies-Gow, N.J., 2008. Hypertension and insulin resistance in a mixed-breed population of ponies predisposed to laminitis. *Am. J. Vet. Res.* 69, 122–129. doi:10.2460/ajvr.69.1.122
- Bamford, N.J., Potter, S.J., Harris, P.A., Bailey, S.R., 2014. Breed differences in insulin sensitivity and insulinemic responses to oral glucose in horses and ponies of moderate body condition score. *Domest. Anim. Endocrinol.* 47, 101–107. doi:10.1016/j.domaniend.2013.11.001
- Carter, R.A., Geor, R.J., Burton Staniar, W., Cubitt, T.A., Harris, P.A., 2009a. Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. *Vet. J.* 179, 204–210. doi:10.1016/j.tvjl.2008.02.029
- Carter, R.A., Mccutcheon, L.J., George, L.A., Smith, T.L., Frank, N., Geor, R.J., 2009b. Effects of diet-induced weight gain on insulin sensitivity and plasma hormone and lipid concentrations in horses. *Am. J. Vet. Res.* 70, 1250–1258.
- Carter, R.A., Treiber, K.H., Geor, R.J., Douglass, L., Harris, P.A., 2009. Prediction of incipient pasture-associated laminitis from hyperinsulinaemia, hyperleptinaemia and generalised and localised obesity in a cohort of ponies. *Equine Vet. J.* 41, 171–178. doi:10.2746/042516408X342975
- de Graaf-Roelfsema, E., Keizer, H.A., van Breda, E., Wijnberg, I.D., van der Kolk, J.H., 2012. Effects of intensified training and subsequent reduced training on glucose metabolism rate and peripheral insulin sensitivity in Standardbreds. *Am. J. Vet. Res.* 73, 1386–93.
- De Laat, M.A., McGowan, C.M., Sillence, M.N., Pollitt, C.C., 2010. Equine laminitis: Induced by 48 h hyperinsulinaemia in Standardbred horses. *Equine Vet. J.* 42, 129–135. doi:10.2746/042516409X475779
- Dugdale, A.H.A., Curtis, G.C., Cripps, P., Harris, P.A., Argo, C.M., 2010. Effect of dietary restriction on body condition, composition and welfare of overweight and obese pony mares. *Equine Vet. J.* 42, 600–610. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00110.x
- Eiler, H., Oliver, J.W., Fecteau, K.A., Frank, N., Andrews, F.M., 2005. Physiologic assessment of blood glucose homeostasis via combined intravenous glucose and insulin testing in horses. *Am. J. Vet. Res.* 66, 1598–1604. doi:10.2460/ajvr.2005.66.1598
- Frank, N., Geor, R. j., Bailey, S. r., Durham, A. e., Johnson, P. j., 2010. Equine Metabolic Syndrome. *J. Vet. Intern. Med.* 24, 467–475. doi:10.1111/j.1939-1676.2010.0503.x
- Freestone, J.F., Beadle, R., Shoemaker, K., Bessin, R.T., Wolfsheimer, K.J., Church, C., 1992. Improved insulin sensitivity in hyperinsulinaemic ponies through physical conditioning and controlled feed intake. *Equine Vet. J.* 24, 187–190. doi:10.1111/j.2042-3306.1992.tb02812.x
- Geor, R.J., 2010. Nutrition and Exercise in the Management of Horses and Ponies at High Risk for Laminitis. *J. Equine Vet. Sci., Proceedings of the 2nd Laminitis West Conference, Monterey, California, September 17-18, 2010* 30, 463–470. doi:10.1016/j.jevs.2010.07.011
- Geor, R.J., Harris, P., 2009. Dietary Management of Obesity and Insulin Resistance: Countering Risk for Laminitis. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract., Clinical Nutrition* 25, 51–65. doi:10.1016/j.cveq.2009.02.001

- Gordon, M.E., Mckeever, K.H., Betros, C.L., Manso Filho, H.C., 2007. Exercise-induced alterations in plasma concentrations of ghrelin, adiponectin, leptin, glucose, insulin, and cortisol in horses. *Vet. J.* 173, 532–540. doi:10.1016/j.tvjl.2006.01.003
- Henneke, D.R., Potter, G.D., Kreider, J.L., Yeates, B.F., 1983. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Vet. J.* 15, 371–372. doi:10.1111/j.2042-3306.1983.tb01826.x
- Hoffman, R.M., Boston, R.C., Stefanovski, D., Kronfeld, D.S., Harris, P.A., 2003. Obesity and diet affect glucose dynamics and insulin sensitivity in Thoroughbred geldings. *J. Anim. Sci.* 81, 2333–2342.
- Jensen, R.B., Danielsen, S.H., Tauson, A.-H., 2016. Body condition score, morphometric measurements and estimation of body weight in mature Icelandic horses in Denmark.(Report). *Acta Vet. Scand.* 58. doi:10.1186/s13028-016-0240-5
- Johnson, P.J., Messer, N.T., Ganjam, V.K., 2004. Cushing's syndromes, insulin resistance and endocrinopathic laminitis. *Equine Vet. J.* 36, 194–198. doi:10.2746/0425164044877279
- Johnson, P.J., Wiedmeyer, C.E., Lacarrubba, A., (Seshu) Ganjam, V.K., Messer, N.T., 2010. Laminitis and the Equine Metabolic Syndrome. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 26, 239–255. doi:10.1016/j.cveq.2010.04.004
- Karikoski, N.P., Horn, I., McGowan, T.W., McGowan, C.M., 2011. The prevalence of endocrinopathic laminitis among horses presented for laminitis at a first-opinion/referral equine hospital. *Domest. Anim. Endocrinol.* 41, 111–117. doi:10.1016/j.domaniend.2011.05.004
- Lindåse, S., Nostell, K., Bröjer, J., 2016. A modified oral sugar test for evaluation of insulin and glucose dynamics in horses. *Acta Vet. Scand.* 58. doi:10.1186/s13028-016-0246-z
- Lindåse, S.S., Nostell, K.E., Müller, C.E., Jensen-Waern, M., Bröjer, J.T., 2016. Effects of diet-induced weight gain and turnout to pasture on insulin sensitivity in moderately insulin resistant horses. *Am. J. Vet. Res.* 77, 300–309. doi:10.2460/ajvr.77.3.300
- Lindåse *et al.*, 2016, opublicerade data
- Luthersson, N., Mannfalk, M., Parkin, T.D.H., Harris, P., 2016. Laminitis: Risk Factors and Outcome in a Group of Danish Horses. *J. Equine Vet. Sci.* doi:10.1016/j.jevs.2016.03.006
- Mccue, M.E., Geor, R.J., Schultz, N., 2015. Equine Metabolic Syndrome: A Complex Disease Influenced by Genetics and the Environment. *J. Equine Vet. Sci.* 35, 367–375. doi:10.1016/j.jevs.2015.03.004
- McGowan, C., 2008. The Role of Insulin in Endocrinopathic Laminitis. *J. Equine Vet. Sci.* 28, 603–607. doi:10.1016/j.jevs.2008.08.004
- Mcgowan, C.M., 2010. Endocrinopathic Laminitis. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 26, 233–237. doi:10.1016/j.cveq.2010.04.009
- McKeever, K.H., 2002. The endocrine system and the challenge of exercise. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 18, 321–353. doi:10.1016/S0749-0739(02)00005-6
- Morgan, R., Keen, J., McGowan, C., 2015. Equine metabolic syndrome. *Vet. Rec.* 177, 173–179. doi:10.1136/vr.103226
- Morgan, R.A., Keen, J.A., McGowan, C.M., 2016. Treatment of equine metabolic syndrome: A clinical case series. *Equine Vet. J.* 48, 422–426. doi:10.1111/evj.12445
- Müller, C.E., Nostell, K., Bröjer, J., 2016. Methods for reduction of water soluble carbohydrate content in grass forages for horses. *Livest. Sci.* 186, 46–52. doi:10.1016/j.livsci.2015.06.011
- Potter, S.J., Bamford, N., Harris, P.A., Bailey, S., 2016. Prevalence of obesity and owners' perceptions of body condition in pleasure horses and ponies in south-eastern Australia.(Report). *Aust. Vet. J.* 94, 427. doi:10.1111/avj.12506

- Powell, D.M., Reedy, S.E., Sessions, D.R., Fitzgerald, B.P., 2002. Effect of short-term exercise training on insulin sensitivity in obese and lean mares. *Equine Vet. J.* 34, 81–84. doi:10.1111/j.2042-3306.2002.tb05396.x
- Pratt, S.E., Geor, R.J., Spriet, L.L., Mccutcheon, L.J., 2007. Time course of insulin sensitivity and skeletal muscle glycogen synthase activity after a single bout of exercise in horses. *J. Appl. Physiol.* Bethesda Md 1985 103, 1063–9.
- Schuver, A., Frank, N., Chamero, K.A., Elliott, S.B., 2014. Assessment of Insulin and Glucose Dynamics by Using an Oral Sugar Test in Horses. *J. Equine Vet. Sci.* 34, 465–470. doi:10.1016/j.jevs.2013.09.006
- Shanik, M.H., Xu, Y., Škrha, J., Dankner, R., Zick, Y., Roth, J., 2008. Insulin Resistance and Hyperinsulinemia. *Diabetes Care* 31, S262–S268. doi:10.2337/dc08-s264
- Sjaastad, O.V., Hove, K. & Sand, O. (2003). *Physiology of Domestic Animals*. 1 ed. Scandinavian Veterinary Press, Oslo
- Thatcher, C. d., Pleasant, R. s., Geor, R. j., Elvinger, F., 2012. Prevalence of Overconditioning in Mature Horses in Southwest Virginia during the Summer. *J. Vet. Intern. Med.* 26, 1413–1418. doi:10.1111/j.1939-1676.2012.00995.x
- Tinworth, K.D., Boston, R.C., Harris, P.A., Sillence, M.N., Raidal, S.L., Noble, G.K., 2011. The effect of oral metformin on insulin sensitivity in insulin-resistant ponies. *Vet. J.* doi:10.1016/j.tvjl.2011.01.015
- Treiber, K., Carter, R., Harris, P.A., Geor, R., 2008. Seasonal change in energy metabolism of ponies coincides with changes in pasture carbohydrates: Implications for laminitis. *J. Vet. Intern. Med.* 22, 735–736.
- Treiber, K.H., Kronfeld, D.S., Hess, T.M., Byrd, B.M., Splan, R.K., Staniar, W.B., 2006. Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional risk factors for pasture-associated laminitis in ponies. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 228, 1538–1545. doi:10.2460/javma.228.10.1538
- Turner, S.P., Hess, T.M., Treiber, K., Mello, E.B., Souza, B.G., Almeida, F.Q., 2011. Comparison of Insulin Sensitivity of Horses Adapted to Different Exercise Intensities. *J. Equine Vet. Sci.* 31, 645–649. doi:10.1016/j.jevs.2011.05.006
- Van Weyenberg, S., Hesta, M., Buyse, J., Janssens, G.P.J., 2008. The effect of weight loss by energy restriction on metabolic profile and glucose tolerance in ponies. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 92, 538–545. doi:10.1111/j.1439-0396.2007.00744.x
- Vick, M.M., Adams, A.A., Murphy, B.A., Sessions, D.R., Horohov, D.W., Cook, R.F., Shelton, B.J., Fitzgerald, B.P., 2007. Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. *J. Anim. Sci.* 85, 1144–55.
- Walsh, D.M., McGowan, C.M., McGowan, T., Lamb, S.V., Schanbacher, B.J., Place, N.J., 2009. Correlation of Plasma Insulin Concentration with Laminitis Score in a Field Study of Equine Cushing's Disease and Equine Metabolic Syndrome. *J. Equine Vet. Sci.* 29, 87–94. doi:10.1016/j.jevs.2008.12.006