



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap**  
Institutionen för biomedicin och veterinär  
folkhälsvetenskap

# **Insulinresistens hos hästar**

## **Koppling till inflammation, fetma och fång?**

*Hannah Jacobson*

*Uppsala  
2017*

*Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen*

*Delnummer i serien: 2017:39*



# **Insulinresistens hos hästar: koppling till inflammation, fetma och fång?**

## **Insulin resistance in equine: correlation to inflammation, obesity and laminitis?**

*Hannah Jacobson*

**Handledare:** *Caroline Fossum & Magnus Åbrink, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

**Examinator:** *Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

**Omfattning:** *15 hp*

**Nivå och fördjupning:** *grund nivå, G2E*

**Kurstitel:** *Självständigt arbete i veterinärmedicin*

**Kurskod:** *EX0700*

**Program:** *Veterinärprogrammet*

**Utgivningsort:** *Uppsala*

**Utgivningsår:** *2017*

**Serienamn:** *Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen*

**Delnummer i serie:** *2017:39*

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

**Nyckelord:** *Insulinresistans, IR, hyperinsulinemi, EMS, fång, fetma, inflammation*

**Key words:** *Insulin resistance, IR, hyperinsulinaemia, EMS, laminitis, obesity, inflammation*

**Sveriges lantbruksuniversitet**  
**Swedish University of Agricultural Sciences**

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap



## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING .....	1
SUMMARY .....	2
INLEDNING .....	3
MATERIAL OCH METODER .....	3
LITTERATURÖVERSIKT .....	3
Bakgrund till insulinresistens .....	3
Insulin.....	3
Insulinresistens (IR) .....	4
Ekvint Metabolt Syndrom (EMS) .....	4
Hyperinsulinemi.....	4
Relation mellan olika sjukdomstillstånd och IR.....	5
Inflammation .....	5
Fetma.....	6
Fång.....	7
Insulinresistensens inverkan på immunförsvaret.....	8
Behandling och förebyggande åtgärder .....	10
DISKUSSION .....	11
LITTERATURFÖRTECKNING .....	14



## **SAMMANFATTNING**

Insulinresistens (IR) innebär att celler och vävnader får en minskad känslighet för hormonet trots normal insulinproduktion från pancreas, d.v.s insulinberoende vävnader svarar inte normalt på insulinet. Den minskade insulinkänsligheten är en viktig del i Ekvint Metabolt Syndrom (EMS) som bland annat innefattar insulin-dysreglering, hyperleptinemi, fetma och hypertriglyceridemi hos hästar, samt utveckling av fång.

Insulin är ett anabolt hormon som utgör en viktig funktion vid regleringen av glukos-, fett- och proteinmetabolismen. Hormonets främsta effekt är att stimulera cellernas upptag av glukos vilket sker genom ett GLUT-transportprotein. Vid defekter på transportproteiner eller insulinreceptorer kan vävnader och celler drabbas av minskad insulinkänslighet, vilket kan leda till en systemisk insulinresistens som är huvudsakliga kopplingen mellan metabolt syndrom, typ 2 diabetes (T2D), fetma, inflammation och fång. Eftersom insulinproduktionen fortfarande fungerar drabbas individerna av hyperinsulinemi och hyperglykemi (p.g.a. icke-fungerande glukosupptag) som kan predisponera för framförallt fång och andra sjukdomstillstånd.

Det är väl konstaterat att en lågradig inflammation har en viktig roll i fetma, insulinresistens och typ 2 diabetes. Insulin anses vara involverat i produktionen av pro-inflammatoriska cytokiner, till exempel interleukin-6 (IL-6) och tumörnekrosfaktor alfa (TNF- $\alpha$ ) vars koncentrationer ökar enligt vissa studier med förhöjda nivåer av insulin i blodet. Denna ökning kan vara grund till de bakomliggande mekanismerna för höga insulinnivåer och risk för fång. Ökade nivåer av triglycerider i cirkulationen, hos framförallt överviktiga individer, är också ofta kopplat till ökad insulinresistens hos både människor och hästar. Förutom överdriven fetma kan aktivering av olika stressrelaterade kinaser som JNK och IKK också driva inflammationen framåt och predisponera för insulinresistens. Immunologiska mekanismer, så som makrofager och toll-liknande receptorer, betydelse och koppling till inflammation och fetma kan ha avgörande roll i utveckling av de olika sjukdomstillstånden. Med mer information och förståelse kring området möjliggörs därmed nya metoder för effektivare behandling än endast modifiering av diet och fysisk aktivitet hos hästar som drabbats av exempelvis EMS och fång.

Några deskriptiva studier har påvisat både ökade nivåer av cytokiner och ökat antal immunceller eller andra mediatorer vid ökat insulin i blodet. Trots att mycket är bevisat är de underliggande mekanismerna till insulinresistens fortfarande inte helt klarlagda och IR med dess koppling till inflammation, fetma och fång fortsätter att diskuteras. På grund av ökat intresse och förståelse upptäcks allt fler korrelationer kring mekanismerna och deras påverkan som möjliggör fler sätt att förebygga IR, T2D och fång. Sambanden mellan de olika tillstånden är komplexa och området kräver fler studier.

## **SUMMARY**

Insulin resistance (IR) refers to cells and tissues that develop a decreased sensitivity for the hormone despite having normal insulin production from the pancreas; a failure of insulin sensitive tissues to respond to insulin. The decreased insulin sensitivity plays an important part in Equine Metabolic Syndrome (EMS), which includes insulin dysregulation, hyperleptinaemia, obesity and hypertriglyceridaemia in horses, as well as the development of laminitis.

Insulin is an anabolic hormone with an important function in the regulation of the metabolism of glucose, fat and protein. The hormone's main effect is to stimulate the cell's uptake of glucose through a GLUT-transport protein. Defects in transport proteins or the insulin receptors can decrease the tissues' insulin sensitivity. This condition can develop into a systemic insulin resistance that is the main link between metabolic syndrome, type 2 diabetes (T2D), obesity, inflammation and laminitis. Since insulin production still works, the individuals develop hyperinsulinaemia and hyperglycemia (because of the impaired glucose uptake) that could predispose to laminitis and other medical conditions.

It is well established that low-grade inflammation has an important role in obesity, insulin resistance and type 2 diabetes. Insulin is considered to be involved in the production of pro-inflammatory cytokines such as interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ). Both of these cytokines appear to increase in concentration according to some studies of increased blood insulin, which could be the underlying mechanism of high insulin levels and risk for laminitis. Increased levels of triglycerides in the circulation, particularly in obese individuals, are often associated with increases in insulin resistance in both humans and horses. In addition to obesity, activation of various stress related kinases such as JNK and IKK also promote inflammation and predispose to insulin resistance. The importance and correlation of inflammation and obesity to immunological parameters, such as macrophages and toll-like receptors, have a crucial role in the development of the different medical conditions. Therefore, more information and understanding about the subject could enable new methods for more effective treatment than mere modification of diet and physical activity in horses affected by, for example, EMS and laminitis.

Some descriptive studies have shown both increased levels of cytokines and increased numbers of immune cells or other mediators in subjects with increased blood insulin. Although much is proven, the underlying mechanism of insulin resistance is not fully understood and IR with its connection to inflammation, obesity and laminitis is still being discussed. Because of the increasing interest and understanding about the correlations of the mechanisms and their impact, new methods to prevent IR, T2D and laminitis are being discovered. The relationships between the different states are complicated and the area requires more investigation.



## INLEDNING

Intresset för utvecklandet av insulinresistens hos hästar ökar i takt med att fetma och fång blir allt vanligare problem. Vävnader och celler svarar inte på insulinet som i sin tur ackumuleras i blodcirkulationen och orsakar olika besvär. Tidigare har fokus huvudsakligen legat på diet och fysisk aktivitet tills man upptäckte andra bakomliggande mekanismer (Carter et al., 2009a; Frank & Tadros, 2014). Förutom fång och fetma associeras även insulinresistens med Ekvint Metabolt Syndrom, hyperinsulinemi, hyperglykemi och inflammation. De olika mekanismerna kan i sin tur stimulera andra faktorer som driver på utvecklingen av de olika sjukdomstillstånden (Treiber et al., 2006).

Kopplingarna är inte helt klarlagda och diskussioner ifrågasätter de olika immunologiska mekanismerna och deras inverkan hos överviktiga individer som ofta har minskad insulinkänslighet (McLaughlin et al., 2017). Många frågor kretsar kring hyperinsulinemi, om det kan vara orsaken till uppkomsten av insulinresistens, eller om det snarare är en del av symtomen (Shanik et al., 2008). Dessa oklarheter har sin grund i att många studier redovisar olika resultat. Bland annat visar inte alla studier samma koppling och ökning av pro-inflammatoriska cytokiner och andra mediatorer vid ökad fetma och insulinresistens (Vick et al. 2007; Holbrook, Tipton & McFarlane, 2012).

För att kunna behandla och förhindra utveckling av insulinresistens krävs information kring de bakomliggande mekanismerna och förståelse av hur de olika faktorerna hänger ihop. På så sätt kan man effektivare förhindra andra påföljande sjukdomar som Ekvint Metabolt Syndrom, typ 2 diabetes och fång. Syftet med denna litteraturstudie är att sammanställa och redovisa dagens kunskap om vad insulinresistens innebär och hur inflammation, fetma och fång eventuellt hänger ihop med varandra, samt hur de faktorerna påverkar insulinkänsligheten hos hästar.

## MATERIAL OCH METODER

Vid litteraturundersökningen användes sökorden: "Insuline resistance" AND (equine OR horse\*), innate AND "metabolic syndrome" AND "inflammatory bowel disease", IR AND EMS AND "insulin dysregulation" AND obesity AND laminitis. Sökorden kombinerades på olika sätt och sökningarna gjordes i databaserna Pubmed, Web of Science och Scopus. Referenslistor från andra artiklar användes också för att effektivare hitta information kring området.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Bakgrund till insulinresistens

#### *Insulin*

Insulin är ett anabolt hormon i kroppen som utsöndras från endokrina pankreas efter födointag när koncentrationen av glukos och aminosyror ökar. Hormonet produceras i pankreas beta-celler och har en viktig roll vid reglering av glukos-, fett- och proteinmetabolismen, vilket gör insulin till kroppens viktigaste anabola hormon. Den anabola effekten utgörs främst av insulinets förmåga att stimulera protein- och triglyceridsyntesen. Efter att ha utfört sin effekt metaboliseras insulin främst i levern och i njurarna där de bryts ner till inaktiva peptider.

Förutom glukos, insulinets främsta stimulator, stimuleras insulinsekretionen även av hormoner (bl.a. Gastric inhibitory polypeptide, GIP) i tunntarmen när föda passerar GI-kanalen. Likaså stimuleras utsöndringen av insulin via det parasympatiska nervsystemet. Fenomenet förklarar varför det sker ett insulinsvar redan innan mängden glukos och aminosyror hunnit absorberas och koncentrationen i plasman höjts, liksom varför insulinkoncentrationer är högre vid oral administration av glukos än intravenöst. Glukos transporteras via ett GLUT-transportprotein (Glut-4) som transporterar glukos genom cellmembranet och regleras främst av insulin. Uppreglering av Glut-4 i membranet sker när insulinkoncentrationen stiger, vilket ökar transportkapaciteten av glukos in i cellen. Insulin stimulerar glukosupptaget i de flesta vävnader, framförallt i fettvävnad och skelettmuskulatur (insulinberoende), till skillnad från bl.a. hjärnan och levern som tar upp glukos utan att vara insulinberoende.

### ***Insulinresistens (IR)***

Insulinresistens, även kallat typ 2 diabetes i förenklade fall, innebär att cellernas förmåga att svara på insulin är försämrade, dvs. minskad insulinkänslighet. Insulinproduktionen fungerar fortfarande, vilket leder till förhöjda nivåer av insulin i cirkulationen, hyperinsulinemi. Eftersom insulin stimulerar cellernas upptag av glukos, amino- och fettsyror, kommer molekylernas nivåer stiga i blodplasman. Bortsett från de förhöjda nivåerna i blodet associeras insulinresistens (IR) även med ett icke-fungerande eller minskat antal aktiverade Glut-4 transportprotein. Detta är insulinberoende och påverkar främst skelettmuskulatur och fettvävnad, men även levern påverkas (Waller et al., 2011; Frank & Tadros, 2014). Förutom av en defekt hos Glut-4 kan IR även orsakas av för få eller en defekt i insulinreceptorerna (Frank, 2009). Trots att mycket är bevisat är de underliggande mekanismerna till insulinresistens fortfarande inte helt klarlagda (Waller et al., 2011).

### ***Ekvint Metabolt Syndrom (EMS)***

Insulin-dysreglering är en viktig del i Ekvint Metabolt Syndrom (EMS) som utgörs av en samling endokrina och metabola förändringar vilka kan leda till fäng. Patienter med EMS är överviktiga samt karaktäriseras av fettinlagring i mankammen och vid svansroten. I stort sett innefattar EMS insulin-dysreglering, hyperleptinemi, fetma och hypertriglyceridemi (Frank & Tadros, 2014). Förutom IR associeras även hyperinsulinemi och hyperglykemi till hästar med EMS som kan leda till fäng (Frank et al., 2006). Andra delar av EMS inkluderar förhöjda adipokin-koncentrationer (cytokiner som bildas av adipocyter), systemisk inflammation och arteriell hypertension. Till skillnad från metabolt syndrom hos människa har arterioskleros och hjärtsjukdomar inte påvisats hos hästar med EMS. Troligtvis förklaras det av hästarnas diet, eftersom de är herbivorer, eller av lipoprotein-sammansättningen i hästens blod (Frank, 2011).

### ***Hyperinsulinemi***

Fetma, systemisk inflammation och ”concurrent endocrinopathies” som exempelvis ”Pituitary *pars intermedia* dysfunction” (PPID) orsakas av insulinresistens som kan förvärra hyperinsulinemin genom att minska nedbrytningen av insulin. Hyperinsulinemi fås genom ökad insulinsekretion eller minskad clearance, vilket kan leda till eller vara en konsekvens av insulinresistens. Något annat viktigt som utgör en grund i associationen till hyperinsulinemi är

överdriven fetma och höga koncentrationer av fria fettsyror i cirkulationen hos insulinresistenta hästar. Förutom det, kan betacellshyperplasi också orsaka hyperinsulinemi. (Frank & Tadros, 2014).

Kompenserad IR karaktäriseras av hyperinsulinemi p.g.a. minskad insulinkänslighet i vävnader. Studier med kombinerat glukos-insulin test (CGIT), som används för att testa insulinkänsligheten, har beskrivit hästar och ponnys med hyperinsulinemi trots normala glukosnivåer och insulinsvar (Frank & Tadros, 2014). Hyperinsulinemi kan i sig även inducera IR när vävnadens känslighet för insulin minskar medan insulinkoncentrationen i plasman stiger, en process kallad ”homologous desensitisation”. Hyperinsulinemi är ofta både ett utfall av och en framåt drivande faktor till insulinresistens (Shanik et al., 2008). Akut ökning av insulinkoncentrationen stimulerar nämligen glukosupptaget, medan kronisk hyperinsulinemi nedreglerar insulinreceptorerna och sänker signaleringen (Frank & Tadros, 2014). Flera studier på möss har kunnat bevisa detta fenomen, att hyperinsulinemi inducerar IR. I en studie drabbades mössen av överdriven fetma och IR från en fettrik diet där IR detekterades endast i mössen som utvecklade hyperinsulinemi (Ning et al., 2011).

## **Relation mellan olika sjukdomstillstånd och IR**

### ***Inflammation***

Kopplingen mellan fetma och inflammatoriska cytokiner är väl beskriven i studier av människa och gnagare, medan resultaten hos hästar har varit olika och omdiskuterade (Vick et al. 2007; Frank & Tadros et al., 2014). De bakomliggande faktorerna till IR hos överviktiga hästar är okända. Hos människan har man kunnat bevisa att förhöjda nivåer av proinflammatoriska cytokiner som ”tumor necrosis factor alfa” (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 (IL-1) och interleukin-6 (IL-6) har en direkt koppling till utveckling av fetma-associerad IR. Hos ”light breed mares” hittades också en positiv korrelation mellan ”body condition score” (mått på överhull), förhöjda nivåer av TNF- $\alpha$  och IL-1 i en studie där de tittade på möjliga relationer mellan fetma, inflammation och insulinkänslighet hos häst. Författaren beskriver att inflammation kan vara nyckeln till kopplingen mellan fetma och IR hos hästar, men fler studier behövs för att kunna klargöra de bakomliggande mekanismerna om hur de hänger hop. Resultaten från denna studie var första beviset att det kan finnas en koppling mellan fetma, inflammatoriska cytokiner och insulinkänslighet hos häst (Vick et al., 2007).

Alla studier visar dock inte på samma koppling av pro-inflammatoriskt tillstånd hos hästar med överhull och hyperinsulinemi. Holbrooks studie (Holbrook, Tipton and McFarlane, 2012) av kopplingen mellan inflammatoriska markörer och hästar med EMS visade på ett lägre genuttryck för IL-1 och IL-6 i mononukleära celler i blodet hos hästar med överhull och hyperinsulinemi jämfört med hästarna i kontrollgruppen. Däremot gav resultaten en signifikant högre ”neutrophil oxidative burst” aktivitet och stimulering av neutrofil chemotaxi, vilket tyder på förhöjd nivå av denna del av immunförsvarets aktivitet hos hästar med EMS som drabbats av hyperinsulinemi och fetma. Ökad neutrofilaktivitet hos hästar med hyperinsulinemi kan nämligen predisponera hästar med EMS för fång. Till skillnad från människan ökar inte produktionen av pro-inflammatoriska cytokiner i samband med fetma eller IR hos hästar. De art-specifika skillnaderna i metabolismen och patologiska följder kan förklara de olika resultaten beträffande mekanismerna bakom fetma och insulinkänslighet.

Studien visade dock att insulin kan vara viktigt vid reglering av neutrofilfunktionen hos hästar (Holbrook et al., 2012).

I en annan studie med ett större antal hästar kunde inte någon koppling mellan fetma och förhöjda nivåer av TNF- $\alpha$  i koncentrationen bevisas (Suagee et al., 2013). Däremot påvisade Adams et al. (2009) att fetma associerat med inflammation kan vara relaterat till åldern. I denna studie fick överviktiga, äldre hästar ett ökat uttryck av IL-6, medan yngre fick ett minskat uttryck (Adams et al., 2009). När insulinresistenta och insulinkänsliga hästar jämfördes i en annan studie (Burns et al., 2010) sågs inte heller några skillnader mellan de pro-inflammatoriska cytokinerna eller makrofagkemotaxiska proteiner i fettvävnaden. I samma studie upptäcktes dock högre uttryck av IL-1 $\beta$  och IL-6 i fettvävnaden kring nackligamentet än i andra fettdepåer vilket tyder på att en regional fettansamling kan leda till en ökad risk för fång hos IR-hästar. Trots de olika resultaten från de enskilda studierna är det svårt att separera effekterna av fetma, hyperinsulinemi och IR från kopplingen till den pro-inflammatoriska cytokinproduktionen hos hästar (Frank & Tadros, 2014). Det är bland annat väl konstaterat att en låg grad av inflammation har en viktig roll i fetma, IR och typ 2 diabetes (Gossens et al., 2009). En ökad nivå av triglycerider i cirkulationen är ofta kopplat till IR hos människor och hästar eftersom ökad koncentration av triglycerider och fria fettsyror tenderar att öka insulinresistensen (Kronfeld, Treiber and Geor ,2005); Treiber et al., 2006). Studier av inflammatoriska markörer under utveckling av hyperinsulinemisk fång är dock begränsade (de Laat et al., 2014).

### **Fetma**

Fetma kopplas ofta till IR och inflammation. När adipocyterna når sin maximala kapacitet att lagra fett drabbas de av cellulär stress och inflammation induceras i vävnaden. Vid cellulär stress eller hypoxi stimuleras produktion av pro-inflammatoriska cytokiner som ökar infiltrationen av makrofager i fettvävnaden (Goossens, 2008). Adipocyterna klarar inte av att lagra mer fettsyror och påverkar kroppens balans av upptag, därmed kommer fett lagras på andra ställen i kroppen, så som i lever och muskulatur. Fetma har varit en del av EMS sedan syndromet beskrevs år 2002, dock har hyperinsulinemi även funnits hos normalhulliga hästar och överviktiga djur kan ha normala insulinkoncentrationer (Carter et al., 2009a; Carter et al., 2010). I detta fall kan fetma ses som en modifierbar genetisk faktor, vilket utgör skillnader mellan individer som kan vara avgörande för insulin-dysregleringens nivå. Hyperinsulinemi kan även bidra till överhull genom insulinets anabola effekter på lipidmetabolismen (Treiber et al. 2006; Frank & Tadros, 2014).

I människan kan lokal fettansamling intra-abdominalt påverka endokrina signaler som stör glukos och insulinregleringen. Hos ponnyer som diagnostiserats med fång har lokala fettdepåer, t.ex. i nacken visats kunna påverka metaboliska aktiviteten i fettvävnaden på liknande sätt som i människa. Karaktäriserade fettdepåer, tillsammans med koncentrationen av triglycerider och IR kan därför kopplas till en genetisk predisposition för fång (Treiber et al., 2006). För att bestämma effekterna av diet-inducerad viktuppgång av glukos, insulindynamik och plasmahormoner samt lipidkoncentrationen hos hästar gjordes en studie med 13 hästar. Djuren fick äta 200 % av deras dagliga energibehov under 16 veckor för att inducera en viktuppgång. Genom olika bedömningsmetoder av överhullet och mätningar av

diverse plasmakoncentrationer fann man att fetma inducerade hyperinsulinemi och hyperleptinemi, däremot visade resultatet inga förändringar i fettsyrakoncentrationen. Författarna ansåg därmed att undvika fetma kan vara en potentiell strategi för att kunna förhindra uppkomsten av insulinresistens, hyperinsulinemi och hyperleptinemi hos hästar (Carter et al., 2009). Enligt en annan studie Carter medverkade i påstods att måttlig motion, utan restriktioner av dieten, inte kan dämpa insulinresistensen hos hästar med överhull. För att det skulle ske en förbättring i hästarnas insulinresistens påstod författarna att det krävdes en kraftigare fettminskning och eller mer intensiv träning än vad som utfördes i studien (Carter et al., 2010).

### *Leptin och Adiponektin*

Både leptin och adiponektin är viktiga adipokiner (cytokiner som bildas av adipocyter) vid EMS och fång eftersom de påverkar endotel i kärl och har en indirekt effekt via modulering av insulinkänslighet och inflammation (Frank & Tadros et al., 2014).

Leptin är ett hormon som utsöndras från adipocyter i vit fettvävnad och ökar i koncentration hos hästar med överhull och insulinresistens (Carter et al., 2009b). Hormonet fungerar som en signal för att hålla balans mellan de olika fettdepåerna i kroppen. Därför fungerar koncentrationerna av leptin i plasman som en indikator av hur mycket triglycerider som lagrats i fettvävnad och kan därmed även reglera aptiten. Leptin kan därför också användas som en indikator vid diagnostik av EMS som ofta är kopplat till hyperleptinemi p.g.a. den ökade fettmassan (Frank & Tadros, 2014).

Adiponektin är ett insulinkänsligt hormon som motverkar leptinets effekt. Hormonet verkar antiinflammatoriskt genom att minska produktionen av pro-inflammatoriska cytokiner och öka produktionen av antiinflammatoriska cytokiner, t.ex. IL-10, och därmed motverka IR. (Frank & Tadros, 2014). Adiponektin reglerar även glukos- och fettmetabolismen. Hos överviktiga individer minskar produktionen av adiponektin och makrofager i fettvävnaden börjar producera resistin (pro-inflammatoriskt adipokin) som ökar insulinresistensen (Gossens et al., 2009).

### **Fång**

Fång är en sjukdom som främst drabbar hästens hovar och som oftast är diet- eller hyperinsulinemi-inducerad. Lamellagret blir ofta inflammerat och hovväggen separeras från hovbenet. Skada på lamellerna kan resultera i strukturella förändringar, vilket karaktäriseras av fång (de Laat et al., 2014). Utveckling av fång är en stor risk för hästar med EMS eftersom IR anses vara en stor metabol och hormonell predisponering för fång (Treiber et al., 2006; Carter et al., 2009a). Individer med EMS drabbas av hyperglykemi eftersom cellernas förmåga att ta upp glukos minskas (Xu et al., 2003). Glukos spelar en stor roll i utvecklingen av akut fång genom att stimulera insulinsekretionen eller förändra endotels funktion. Hyperglykemi stimulerar nämligen diacylglycerol syntesen och aktivering av proteinkinase C, vilket leder till förändringar i endotelet. Därmed kan hyperglykemi stimulera utvecklingen av fång (Frank & Tadros 2014). Detta prövades i två studier, där den ena studien visade på förändringar i hästens hov-lameller vid infusion av glukos under en längre tid. Den andra studien visade däremot inga skillnader i hästens hovar (de Laat et al., 2012a; de Laat et al.,

2012b). Hyperinsulinemi kan stimulera andra faktorer som resulterar i vasokonstriktion eller endotelskada. Keratinocyter i lamellerna i hästens hovar innehåller glukotransportörer som kan vara delvis reglerade av insulin (Treiber et al., 2006).

Vid experimentella försök har fång inducerats hos friska hästar när de fått hyperinsulinemi genom infusion av exogent insulin med glukos intravenöst. Hästar behöver inte vara överviktiga för att drabbas av fång, även om det är en vanlig predisponerande faktor. Även hästar med EMS som inte är överviktiga men har en insulin-dysreglering kan drabbas av fång (Treiber et al., 2006; Frank and Tadros, 2014). Längre perioder med hyperinsulinemi kan nämligen inducera fång hos hästar som inte är insulinresistenta, vilket bevisades i en studie där hästar utan tidigare fångbesvär eller IR administrerades insulin under en längre period medan glukosnivåerna hölls normala. Studien visar att insulin har en viktig roll i utvecklandet av fång utan tecken på hyperglykemi (Asplin et al., 2007). Hos hästar och ponnyer som tidigare haft fång har påvisats ha högre plasmakoncentration av TNF- $\alpha$  påvisats än hos hästar som inte drabbats av fång. Detta indikerar att cirkulerande pro-inflammatoriska cytokiner kan ha en koppling till fång (Carter et al., 2009b); Treiber et al., 2009). I artikeln av M.A. de Laat (de Laat et al., 2014) nämner författarna att inte samma slutsats har dragits i andra studier eftersom resultaten är komplicerade att tolka p.g.a. att ökad fettinlagring är kopplad till kronisk inflammation hos både människor och djur.

### **Insulinresistensens inverkan på immunförsvaret**

Leptin fungerar som en aktivator för makrofager, vilket underlättar NK-cellers utveckling och aktivering. Hormonet stimulerar även Th1 cellers produktion av IFN-gamma, TNF- $\alpha$  och leptin genom autokrin feedback reglering. Makrofagernas och de dendritiska cellernas produktion av TNF- $\alpha$ , IL-6 och IL-1 ökar, liksom uttrycket av MHC klass II. Den ökade IL-6 produktionen hos makrofager i fettvävnaden stimulerar ett Th17-medierat svar. Hos överviktiga individer dominerar aktiverade M1 makrofager som utsöndrar pro-inflammatoriska cytokiner vilket minskar insulinkänsligheten hos andra celler. Hos normalviktiga djur är leptinnivåerna låga, aktiveringen av makrofager är dämpad och nivåerna av inflammatoriska reaktioner är minskade. Normalviktiga djur har en fungerande övergång från Th1 till Th2 svar med ökat antal Treg celler, vilket skiljer sig från djur med överdriven fetma. Makrofagaktivering hos överviktiga djur predisponerar för inflammatoriska sjukdomar. Det finns alltså en tydlig koppling mellan fetma och inflammation. Enligt litteraturen har normalviktiga människor ca 10% makrofager i fettvävnaden medan överviktiga har ca 50%.

Histologiskt ses en signifikant infiltration av makrofager i vit fettvävnad hos feta möss. Många studier har bevisat att TNF- $\alpha$  kan mediera IR hos överviktiga gnagare och att det överuttrycks i vit fettvävnad. När adipocyterna når en viss gräns för sin fettinlagringskapacitet frigörs faktorer som aktiverar makrofager och deras infiltration. Aktiverade makrofager utsöndrar cytokiner som i sin tur inhiberar insulinkänsligheten och stimulerar fortsatt aktivering och infiltration av monocyter och makrofager i den vita fettvävnaden. Även minskning av adiponektiner stimulerar makrofagernas infiltration och aktivering, eftersom adiponektin inhiberar adhesionen mellan makrofager och endotel. Makrofager utsöndrar flera olika cytokiner och kemokiner vid aktivering, bl.a. TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 och MCP-1 som orsakar

IR i adipocyter. Cytokinerna och kemokinerna ökar produktion och utsöndring av lymfokiner från lymfocyter, vilket kan driva utvecklingen av systemiskt IR hos individen. Troligtvis drivs systemisk IR även av den ökade lipolysen som leder till fler fria fettsyror i cirkulationen som kan resultera i IR i skelettmuskulaturen och levern. Därför anses fria fettsyror vara en viktig koppling mellan inflammation och systemisk insulinresistens (Xu et al., 2003).

Bortsett från makrofagerna har man hittat en koppling till andra medfödda immunceller som mastceller, neutrofiler och dendritiska celler som kan bidra till utvecklandet av IR. Antalet närvarande mastceller är större hos överviktiga möss än hos normalviktiga. Neutrofiler har påvisats driva fram utvecklingen av IR framförallt genom elastasproduktion och som tidigare nämnts verkar insulin vara viktigt vid reglering av neutrofilfunktionen hos hästar (Holbrook, Tipton & McFarlane et al., 2012). Aktiverade dendritiska celler som är specialiserade antigenpresenterande celler kopplar ihop det medfödda och adaptiva immunsvaret och finns i högre koncentrationer i fettvävnad hos icke-diabetiker och individer med T2D jämfört med normala människor. Även celler från det adaptiva immunsvaret som B- och T-lymfocyter tycks ha en roll i pådrivandet av inflammation hos överviktiga individer. Till exempel verkar CD8+ T-celler förändra insulinkänsligheten och öka i antal. Även IL-17, som utsöndras från CD4+ T-celler, ökar vid IR hos människan. Detta cytokin tycks inhibera insulinberoende glukosupptag i skelettmuskulatur och hepatocyter, samt skada adipocytdifferentieringen (McLaughlin et al., 2017).

Toll-likareceptorer (TLR) är essentiella vid reglering av det ospecifika/medfödda immunsvaret. Aktivering av TLR uppreglerar inflammatoriska signalvägar och utsöndring av pro-inflammatoriska cytokiner som IL-6 och TNF- $\alpha$  samt SOCS (suppressors of cytokine signalling proteins). TLR kan aktiveras av fria fettsyror och utgör en viktig roll i kopplingen mellan metabolism och inflammation (Konner and Bruning, 2011). Huruvida TLR och dess påföljande cytokinproduktion är kopplat till fäng är fortfarande okänt. En relativt ny studie (de Laat et al., 2014) genomfördes med syfte att bestämma ifall uttryck av TLR4 och påföljande produktion av pro-inflammatoriska cytokiner ökade i lamellerna och skelettmuskulaturen vid ekvin hyperinsulinemi. Hästarna administrerades glukos under en längre period genom glukosinfusion (p-GI) eller euglykemisk-hyperinsulinemisk clampteknik (p-EHC) för att inducera hyperinsulinemi. Vävnad från lamellagren och skelettmuskulaturen analyserades från de två olika grupperna. Vid EHC infuseras insulin systemiskt med en konstant hastighet samtidigt som glukos ges för att upprätthålla en viss nivå av glukoskoncentration i blodplasman. FSIGTT är en annan metod som används på hästar, där glukos och insulindynamiken undersöks genom att en bolusdos av glukos ges intravenöst, därefter tas regelbundna blodprover. Bägge metoderna används ofta vid ekvina undersökningar, framförallt för att dokumentera IR hos överviktiga hästar, men används även på humansidan (Kronfeld et al. 2005; Pratt-Phillips, Geor and McCutcheon 2015). Oralt glukostoleranstest (OGTT) är en enklare metod som används, men den är inte lika exakt som de andra två metoderna. Kontrollhästarna i studien (de Laat et al., 2014), som behandlades med en balanserad elektrolytlösning, fick inga förändringar i insulin, inte heller utvecklade de några förändringar i lamellagren i hovarna. Studien visade att TLR4 uttrycks i lamellvävnaden i hovarna på friska hästar (TLR4 protein påvisades utan skillnad i uttryck i båda vävnaderna hos kontrollhästarna). TLR signalering i lamellagren kan vara viktigt vid

endotoxinemi och ge perioder av septisk fång när ökad nivå av cirkulerande fria fettsyror aktiverar TLR4 och leder till inflammation i lamellvävnaden. Sammantaget tyder resultaten från studien på att inflammation snarare är ett symptom snarare än en faktor vid fång. Däremot tycks inflammation ha en roll i senare stadier vid läkning och remodulering av sjukdomen, eftersom uttryck av TLR4 och TNF- $\alpha$  ökade hos p-EHC hästarna. Ökad neutrofilinfiltration lokalt ansågs som en konsekvens vid försök till reparation av lamellvävnaden.

SOCS har en viktig roll vid reglering av inflammation. SOCS3 inhiberar andra signalvägar som aktiveras av insulin och leder till IR genom "serine" fosforylering av insulin receptor substrat-1 (IRS-1) hos olika arter. Hos hästar ökar uttryck av SOCS3 och var signifikant kopplat till TLR4 förekomsten i skelettmuskulaturen hos hästar med kompenserad IR. Resultatet tyder på att aktivering av SOCS3, sekundärt till TLR4 signalering, kan leda till metabol dysfunktion. Det tycks finnas ett negativt regleringssystem för TLR i lamellvävnaden hos hästar. Fler studier kring SOCS koppling till fång och inflammation krävs (de Laat et al., 2014). I övrigt kan olika kinaser som JNK, NF- $\kappa$ B, IKK och PKC aktiveras av inflammatoriskt eller stressrelaterat stimuli, men även vid förhöjda nivåer av fria fettsyror och hyperglykemi, vilket kan leda till inhibering av insulin. Kinaserna driver inflammationen genom att aktivera AP-1 komplex och NF- $\kappa$ B, som i sin tur stimulerar pro-inflammatoriska genuttryck och dess mediatorer (Konner and Bruning, 2011).

## **Behandling och förebyggande åtgärder**

Resultaten från studien i Vicks artikel från 2007 visar hur viktigt det är att behandling och förebyggande åtgärder utvecklas. Intresset för utredningar om hur viktigt relationerna mellan fetma, inflammation och insulinkänslighet är i koppling till olika tillstånd hos hästar ökar. Därmed finns möjlighet att komma på bättre och effektivare riktlinjer för att undvika oönskade tillstånd, t.ex. fång (Vick et al., 2007). Genom att tidigt upptäcka och kontrollera hyperinsulinemi kan behandling och förebyggande av fång underlättas. Olika strategier kan rekommenderas och användas för att hålla insulinnivåerna nere och återfå insulinkänsligheten hos hästar som löper större risk att drabbas av fång (Asplin et al., 2007).

Fetma, diet och fysisk aktivitet påverkar insulinkänsligheten och är relativt lätta parametrar att modifiera för att minska risken för IR och andra sjukdomar (Pratt-Philips, Geor & McCutcheon et al., 2015). Viktnedgång resulterar i minskad storlek hos adipocyterna och därmed minska deras sekretion av pro-inflammatoriska cytokiner (Gossens et al., 2009). Regelbunden och måttlig motion stärker immunförsvaret, vilket resulterar i en friskare häst. Potentiella faktorer som kan förvärra tillståndet måste beaktas innan möjliga åtgärder vidtas. Sådana faktorer kan vara: hyperinsulinemi, fetma, diet, otillräcklig motion, insulinkänslighet och PPID (Frank & Tadros et al., 2014). Genom att minska risken för överhull hos hästar, t.ex. genom minskat intag av energirik föda och ökad fysisk aktivitet minskas även risken för påföljande tillstånd och sjukdomar (Carter et al., 2009a). Intag av stora mängder kolhydrater kan trigga igång olika faktorer som kan leda till IR och fång. Genom att utgå från ett måttligt intag av kolhydrater föda och undvika ett flertal faktorer som kan leda till IR kan även utveckling av fång och andra metabola störningar vid insulinregleringen undvikas (Treiber et al., 2006). Suagee et al. utförde en studie som undersökte insulinkänslighet i vävnader och blodplasman vid inflammation under hyperinsulinemiskt tillstånd hos insulinkänsliga hästar,



men tittade inte på lamellagren. Däremot kom även dessa författare fram till att förhöjda insulinnivåer påverkar inflammatoriska komponenter hos överviktiga, hyperinsulinemiska djur, samt cytokinernas (framförallt TNF- $\alpha$  och IL-6) roll i utvecklandet av fång. Kopplingen mellan fetma och hyperinsulinemi är mycket viktig inom området hos både människor och djur. Genom att minska överhullet minskas även risk för utvecklingen av metabola syndrom, som EMS hos hästar (Suagee et al., 2011).

Behandling med metformin har gett olika resultat hos hästar, endast få studier har påvisat en verksam effekt. Metformin är ett läkemedel som administreras för att kontrollera hyperglykemi och öka insulinkänsligheten i vävnader hos människor med diabetes mellitus. Det rekommenderas fortfarande som behandling av IR hos hästar, men det krävs ytterligare studier för att få fram en lämplig dos för önskad effekt. Levothyroxin kan användas för att accelerera viktnedgång hos hästar med insulin-dysreglering och som inte kan motioneras p.g.a. svår fång, eller vid uteblivet resultat efter dietförändringar och träning, vilket i sin tur kan förbättra insulinkänsligheten (Frank, 2011; Frank and Tadros, 2014).

## **DISKUSSION**

De bakomliggande mekanismerna till vävnadernas och cellernas minskade insulinkänslighet hos hästar har många oklarheter. Dessa oklarheter har sin grund i många vars diskussioner och resultat som skiljer sig åt, troligen p.g.a. olika mätningmetoderna samt skillnader mellan individer. Kopplingen mellan inflammation, fetma och fång, samt deras samband med IR förblir därför komplext. För att lösa detta pussel krävs fler studier som kan klargöra hur de bakomliggande mekanismerna hänger ihop och påverkar varandra. På olika sätt bör man kunna isolera andra faktorer som skiljer individerna åt för att bättre komma underfund med vilka koncentrationer av vilka ämnen som spelar roll i de olika tillstånden. Är det själva insulin-, cytokin- eller glukoskoncentrationer som ligger bakom utvecklandet av sjukdomstillstånden EMS, fång och T2D? De olika tillstånden, tillsammans med sambanden mellan fetma och inflammation går in och driver varandra framåt genom olika processer. Likt Shanik diskuterar i sin artikel (Shanik et al., 2008) där bland annat många frågor kretsar kring hyperinsulinemi, om det kan vara orsaken till uppkomsten av insulinresistens, eller om det är en del av symtomen.

Även om det är väl konstaterat att en låggradig inflammation har en viktig roll i fetma, insulinresistens och typ 2 diabetes börjar man ifrågasätta sambandet allt mer och vad som ger upphov till vad, exempelvis inflammationen. Kopplingen mellan fetma och inflammatoriska cytokiner är väl beskriven i studier hos människa och gnagare, medan resultaten från hästar har varit olika och omdiskuterade (Vick et al., 2007; Frank & Tadros, 2014). Den ökade fettinlagringen som är kopplad till kronisk inflammation hos både människor och djur gör resultaten mer komplicerade att tolka och svåra att jämföra med varandra (de Laat et al., 2014). Andra faktorer som exempelvis stress gör inte undersökningarna enklare men kan ge oss mer förståelse och bättre tolkningar. Under stress eller illamående (sjukdom) kan insulinsekretionen minska, vilket kan leda till sepsisassocierad hyperglykemi som stimulerar stresshormoner, bland annat epinephrin och kortisol som stimulerar glukoneogenesen och inducerar IR genom att öka glukoskoncentrationen (Treiber et al., 2006). Toxiner får möjlighet att binda till TLR och försämrar insulinsignaleringen ytterligare, samt aktiverar

olika immunceller (Frank & Tadros, 2014). Djur med hög immunologisk aktivitet svarar starkare på oxidativ stress, som i sin tur initierar inflammationen (Holbrook, Tipton & McFarlane et al., 2012). Dessa metaboliska förändringar kopplade till fetma stör cellulära signalvägar, aktiverar ER stressrelaterat svar och leder till aktivering av JNK och IKK (stressinducerade kinaser). På så sätt inhiberas insulinets funktion genom blockering av hormonets signaleringsväg. Vid fetma ökar t.ex. glukosmetabolismen, vilket kan leda till ökad produktion av ROS i mitokondrierna och därmed orsaka oxidativ stress som skadar cellulära strukturer och triggar igång inflammatoriska svar. Fler studier kring TLRs mekanismer vid fetma, IR och inflammation krävs innan man eventuellt kan ingripa i TLRs signalering för behandling vid metabolt syndrom (Konner and Bruning, 2011).

Vilka är sambanden hos människa och hur skiljer de sig från de hos hästar? Flera studier hos människan har påvisat att kronisk inflammation medföljs av fetma från diabetes. Inflammationen och dess höga koncentrationer av cirkulerande inflammatoriska mediatorer som IL-6 tycks vara den huvudsakliga länken mellan övervikt och utveckling av typ 2 diabetes mellitus och hjärt-kärlsjukdomar. Nya studier påstår att en lokal inflammation som tarminflammation kan utgöra en viktig roll i utveckling av fetma-relaterad IR. Detta sker genom förändringar i tarmfloran (dysbios) som kan påverka kroppsfett, systemisk inflammation och IR. Dysbios tror man orsakar en lågradig inflammation både systemiskt och lokalt; systemiskt via läckage av bakteriella produkter och lokalt genom att påverka intilliggande vävnad. I en del studier har man kunnat påvisa en pro-inflammatorisk förändring i lamina propria immunceller hos feta möss, en koppling mellan det adaptiva och tarmens immunreaktion, samt deras association till reducerad tarmpermeabilitet, endoxinemi och minskad inflammation i fettvävnad. Dessvärre har inte studier på människan eller häst kunnat påvisa samma koppling som hos de feta mössen i studien. Likaså finns många oklarheter kring makrofagernas dominerande fenotyp hos mus och människa. Makrofagerna klassificeras ofta som M1 (klassiska makrofager, induceras av pro-inflammatoriska mediatorer) och M2 (alternativa makrofager, viktig vid reparation av vävnad och efter inflammation). Studier har visat en dominerande fenotyp av M2 hos normala möss och M1 hos överviktiga möss. Medan hos människan har en blandning av M1/M2 i fettvävnaden visat att det kan vara mer komplex vid olika tillstånd in vivo. Generellt är de flesta överens om att makrofagerna har en viktig roll och ackumuleras vid inflammation i fettvävnad (McLaughlin et al., 2017). Jämförelser mellan häst, människa och mus är dock väldigt användbara eftersom det finns många skillnader men även likheter mellan de olika arterna som kan användas för att öka förståelsen inom området. Bland annat har EMS många likheter till människans metabola syndrom: samling av riskfaktorer för hjärt-kärlsjukdomar (CVD) och T2D, speciellt hos överviktiga och insulinresitenta individer men också hypertension och dyslipidemi förekommer (Alberti, Zimmet and Shaw 2006; Geor and Frank 2009). Hästar drabbas däremot inte av samma hjärt-kärlsjukdomar som människor gör, men någon form av hypertension har påvisats. IR-associerad vaskulär endoteldysfunktion är en grund för hypertensionen som drabbar människor med metabolt syndrom. I en studie (Bailey et al., 2008) observerades hypertension hos insulinresitenta hästar som gick på sommarbete (större risk för utveckling av fång m.m.). Observationen visade att vaskulär endoteldysfunktion är en komponent vid EMS i hästar. Hästar med EMS kan därmed vara mottagliga för vasokonstriktion, trombocytaktivering, neutrofil adhesion och emigration på grund av faktorer som driver på utvecklingen av fång.

Studier på människa och laboratoriedjur tyder på mikrovaskulär dysfunktion (trombocyt och leukocyt adhesion och migration) associerat med sepsis eller andra inflammatoriska stimuli som förvärras av överhull. Samma som för hästar med EMS, ett pro-inflammatoriskt tillstånd orsakat genom intag av för mycket kolhydrater eller påverkan av sepsis, kan förstärka skadorna på lamellvävnaden eller den vaskulära funktionen lokalt i hoven och på så sätt lättare ge upphov till fång (Geor & Frank, 2009).

Som tidigare konstaterats stimuleras insulinproduktionen i människan av pro-inflammatoriska cytokiner i skelettmuskulatur och fettvävnad, vilket även förvärras vid övervikt (Suagee et al. 2013, Asplin et al., 2007). Mycket forskning tyder på att samma princip gäller hos hästar medan annan forskning tyder på det motsatta. De olika resultaten av de enskilda studierna på häst gör det svårt att separera effekterna av fetma, hyperinsulinemi och IR till kopplingen av den pro-inflammatoriska cytokinproduktionen (Frank & Tadros, 2014). Vissa studier hittar inget bevis för att kronisk inflammation är närvarande hos hästar med överdriven fetma och/eller IR (Carter et al., 2009). Andra studier har dock visat att pro-inflammatoriska cytokiner är korrelerade till fetma och insulinkänslighet (Vick et al., 2007), på liknande sätt som det gör hos överviktiga människor med IR och metabolt syndrom (Tanti et al., 2012). Fria fettsyror ökar uttryck av pro-inflammatoriska cytokiner och minskar insulinkänsligheten hos hästar (de Laat et al., 2014), vilket stöds av studien som visade att insulinkänslighet kan kopplas till ökad koncentration av TNF- $\alpha$  i cirkulationen hos överhulliga ston (Vick et al., 2007).

Vad som krånglar till det ännu mer är att kroppen kan ha hyperinsulinemi trots normala glukosnivåer och normalt insulinsvar. Hästar med EMS och insulindysreglering kan drabbas av fång trots att de är normalhulliga. Så insulin har alltså en viktig roll i dessa tillstånd utan tecken på hyperglykemi eller fetma, d.v.s insulinet kan i sig ha en enskild betydelse utan påverkan av andra faktorer. Hyperinsulinemi kan finnas hos normalhulliga hästar och överviktiga djur kan ha normala insulinkoncentrationer. Vad som ligger bakom det ena eller det andra är uppenbarligen ett mycket komplext samband, man är till och med osäker på hur IR predisponerar för fång, om det beror på glukosnivåerna, hyperinsulinemin eller något annat. Framförallt det medfödda immunsystemet tycks ha en viktig roll i utvecklingen av fång, men det är oklart om det bidrar till utveckling av hyperinsulinemisk fång. För att klargöra immunsystemets roll i metabola tillstånd som hyperinsulinemi och IR krävs vidare forskning (de Laat et al., 2014). Dessa undersökningar är svåra att göra eftersom många faktorer spelar roll i de olika sambanden och individskillnader försvårar tolkningarna ytterligare. Därför kan kartläggning av grundläggande skillnader mellan människa, mus och häst som spelar roll i inflammation vid IR och T2D vara till stor hjälp för att öka förståelsen. Det behövs alltså fler studier inom området för att enklare och effektivare kunna behandla eller förebygga IR, T2D och/eller fång. Ökad kunskap kring kopplingen mellan inflammation, fetma och fång till IR kan klargöra effekten av olika immunologiska mekanismer vid dessa tillstånd.

## LITTERATURFÖRTECKNING

- Adams, A. A., M. P. Katepalli, K. Kohler, S. E. Reedy, J. P. Stilz, M. M. Vick, B. P. Fitzgerald, L. M. Lawrence & D. W. Horohov (2009) Effect of body condition, body weight and adiposity on inflammatory cytokine responses in old horses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 127, 286-294.
- Alberti, K., P. Zimmet & J. Shaw (2006) Metabolic syndrome - a new world-wide definition. A consensus statement from the international diabetes federation. *Diabetic Medicine*, 23, 469-480.
- Asplin, K. E., M. N. Sillence, C. C. Pollitt & C. M. McGowan (2007) Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies. *Veterinary Journal*, 174, 530-535.
- Bailey, S. R., J. L. Habershon-Butcher, K. J. Ransom, J. Elliott & N. J. Menzies-Gow (2008) Hypertension and insulin resistance in a mixed-breed population of ponies predisposed to laminitis. *American Journal of Veterinary Research*, 69, 122-129.
- Burns, T. A., R. J. Geor, M. C. Mudge, L. J. McCutcheon, K. W. Hinchcliff & J. K. Belknap (2010) Proinflammatory Cytokine and Chemokine Gene Expression Profiles in Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue Depots of Insulin-Resistant and Insulin-Sensitive Light Breed Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24, 932-939.
- Carter, R. A., L. J. McCutcheon, L. A. George, T. L. Smith, N. Frank & R. J. Geor (2009a) Effects of diet-induced weight gain on insulin sensitivity and plasma hormone and lipid concentrations in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 70, 1250-1258.
- Carter, R. A., L. J. McCutcheon, E. Valle, E. N. Meilahn & R. J. Geor (2010) Effects of exercise training on adiposity, insulin sensitivity, and plasma hormone and lipid concentrations in overweight or obese, insulin-resistant horses. *American Journal of Veterinary Research*, 71, 314-321.
- Carter, R. A., K. H. Treiber, R. J. Geor, L. Douglass & P. A. Harris (2009b) Prediction of incipient pasture-associated laminitis from hyperinsulinaemia, hyperleptinaemia and generalised and localised obesity in a cohort of ponies. *Equine Veterinary Journal*, 41, 171-178.
- de Laat, M. A., C. K. Clement, C. M. McGowan, M. N. Sillence, C. C. Pollitt & V. A. Lacombe (2014) Toll-like receptor and pro-inflammatory cytokine expression during prolonged hyperinsulinaemia in horses: Implications for laminitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 157, 78-86.
- de Laat, M. A., M. T. Kyaw-Tanner, M. N. Sillence, C. M. McGowan & C. C. Pollitt (2012a) Advanced glycation endproducts in horses with insulin-induced laminitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 145, 395-401.
- de Laat, M. A., M. N. Sillence, C. M. McGowan & C. C. Pollitt (2012b) Continuous intravenous infusion of glucose induces endogenous hyperinsulinaemia and lamellar histopathology in Standardbred horses. *Veterinary Journal*, 191, 317-322.
- Frank, N. (2009) Equine Metabolic Syndrome. *Journal of Equine Veterinary Science*, 29, 259-267.
- (2011) Equine Metabolic Syndrome. *Veterinary Clinics of North America-Equine Practice*, 27, 73-+.
- Frank, N., S. B. Elliott, L. E. Brandt & D. H. Keisler (2006) Physical characteristics, blood hormone concentrations, and plasma lipid concentrations in obese horses with insulin resistance. *Javma-Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228, 1383-1390.

- Frank, N. & E. M. Tadros (2014) Insulin dysregulation. *Equine Veterinary Journal*, 46, 103-112.
- Geor, R. & N. Frank (2009) Metabolic syndrome-From human organ disease to laminar failure in equids. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 129, 151-154.
- Goossens, G. H. (2008) The role of adipose tissue dysfunction in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. *Physiology & Behavior*, 94, 206-218.
- Holbrook, T. C., T. Tipton & D. McFarlane (2012) Neutrophil and cytokine dysregulation in hyperinsulinemic obese horses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 145, 283-289.
- Konner, A. C. & J. C. Bruning (2011) Toll-like receptors: linking inflammation to metabolism. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 22, 16-23.
- Kronfeld, D. S., K. H. Treiber & R. J. Geor (2005) Comparison of nonspecific indications and quantitative methods for the assessment of insulin resistance in horses and ponies. *Javma-Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226, 712-719.
- McLaughlin, T., S. E. Ackerman, L. Shen & E. Engleman (2017) Role of innate and adaptive immunity in obesity-associated metabolic disease. *Journal of Clinical Investigation*, 127, 5-13.
- Ning, J., T. Hong, X. F. Yang, S. Mei, Z. Q. Liu, H. Y. Liu & W. H. Cao (2011) Insulin and insulin signaling play a critical role in fat induction of insulin resistance in mouse. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 301, E391-E401.
- Pratt-Phillips, S. E., R. J. Geor & L. J. McCutcheon (2015) Comparison among the euglycemic-hyperinsulinemic clamp, insulin-modified frequently sampled intravenous glucose tolerance test, and oral glucose tolerance test for assessment of insulin sensitivity in healthy Standardbreds. *American Journal of Veterinary Research*, 76, 84-91.
- Shanik, M. H., Y. P. Xu, J. Skrha, R. Dankner, Y. Zick & J. Roth (2008) Insulin Resistance and Hyperinsulinemia Is hyperinsulinemia the cart or the horse? *Diabetes Care*, 31, S262-S268.
- Suagee, J. K., B. A. Corl, M. V. Crisman, M. W. Hulver, L. J. McCutcheon & R. J. Geor (2011) Effects of acute hyperinsulinemia on inflammatory proteins in horses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 142, 141-146.
- Suagee, J. K., B. A. Corl, M. V. Crisman, R. S. Pleasant, C. D. Thatcher & R. J. Geor (2013) Relationships between Body Condition Score and Plasma Inflammatory Cytokines, Insulin, and Lipids in a Mixed Population of Light-Breed Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27, 157-163.
- Treiber, K., R. Carter, L. Gay, C. Williams & R. Geor (2009) Inflammatory and redox status of ponies with a history of pasture-associated laminitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 129, 216-220.
- Treiber, K. H., D. S. Kronfeld, T. M. Hess, B. M. Byrd, R. K. Splan & W. B. Staniar (2006) Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional risk factors for pasture-associated laminitis in ponies. *Javma-Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228, 1538-1545.
- Vick, M. M., A. A. Adams, B. A. Murphy, D. R. Sessions, D. W. Horohov, R. F. Cook, B. J. Shelton & B. P. Fitzgerald (2007) Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. *Journal of Animal Science*, 85, 1144-1155.
- Waller, A. P., K. Kohler, T. A. Burns, M. C. Mudge, J. K. Belknap & V. A. Lacombe (2011) Naturally occurring compensated insulin resistance selectively alters glucose transporters in visceral and subcutaneous adipose tissues without change in

AS160 activation. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease*, 1812, 1098-1103.

Xu, H. Y., G. T. Barnes, Q. Yang, Q. Tan, D. S. Yang, C. J. Chou, J. Sole, A. Nichols, J. S. Ross, L. A. Tartaglia & H. Chen (2003) Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*, 112, 1821-1830.