



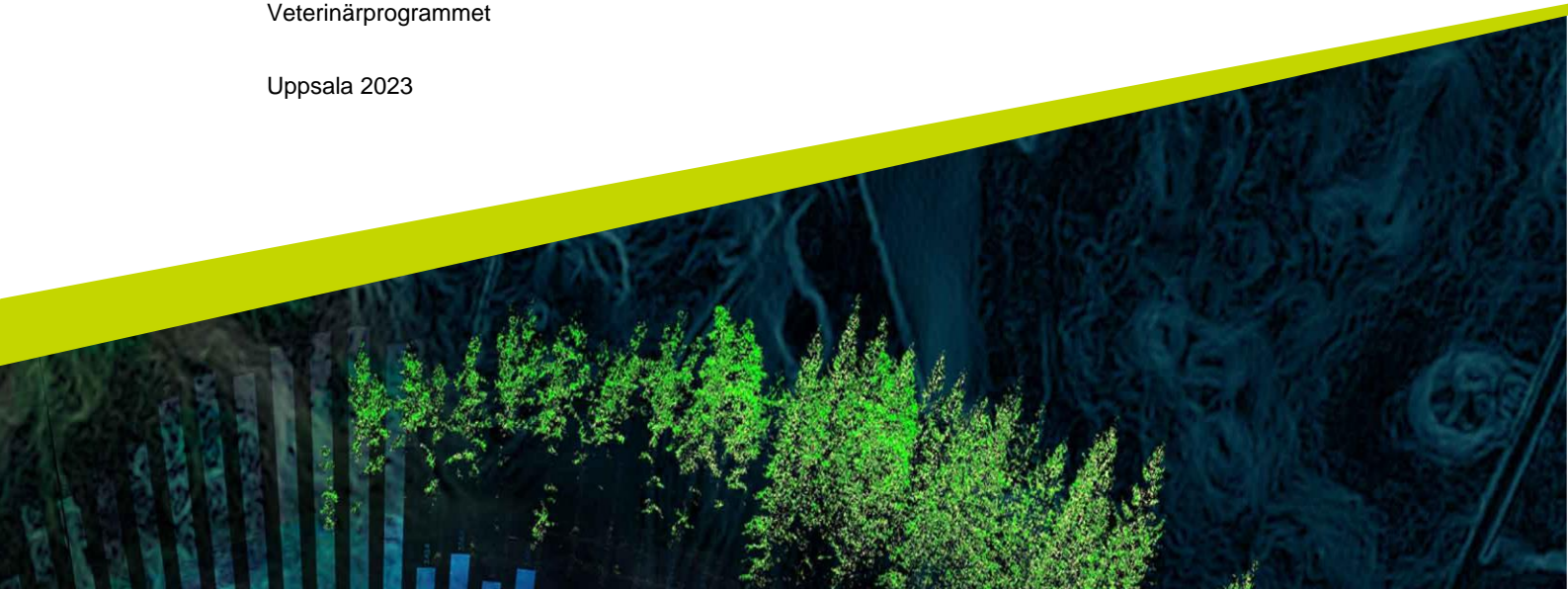
# **Påverkar graden av insulindysreglering effekten av behandling med kanagliflozin hos hästar med ekvint metabolt syndrom?**

---

Ida Ivarsson

Självständigt arbete • 30 hp  
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Veterinärprogrammet

Uppsala 2023





# Påverkar graden av insulindysreglering effekten av behandling med kanagliflozin hos hästar med ekvint metabolt syndrom?

*Is the efficacy of treatment with kanagliflozin affected by the severeness of insulin dysregulation in horses with equine metabolic syndrome?*

Ida Ivarsson

**Handledare:** Sanna Truelsen Lindåse, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper  
**Bitr. handledare:** Johan Bröjer, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper  
**Examinator:** Katarina Nostell, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

**Omfattning:** 30 hp  
**Nivå och fördjupning:** Avancerad nivå, A2E  
**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin  
**Kurskod:** EX1003  
**Program/utbildning:** Veterinärprogrammet  
**Kursansvarig inst.:** Institutionen för kliniska vetenskaper  
**Utgivningsort:** Uppsala  
**Utgivningsår:** 2023  
**Upphovsrätt:** Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.

**Nyckelord:** Ekvint metabolt syndrom (EMS), Insulindysreglering (ID), Hyperinsulinemi, Kanagliflozin

**Sveriges lantbruksuniversitet**  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Veterinärprogrammet



## Sammanfattning

Ekvint metabolt syndrom (EMS) kan förklaras som ett antal riskfaktorer som bidrar till utvecklingen av fång hos hästar. Insulindysreglering (ID) och obesitas med eller utan regional fettansättning utgör viktiga riskfaktorer som ingår i syndromet. Hästar med ID får onormalt höga insulinkoncentrationer i plasma, kallat hyperinsulinemi. Hyperinsulinemi har visat kunna inducera fång, varför det varit av stort intresse att motverka skadligt höga koncentrationer av det anabola hormonet. Fram till nyligen har det inte funnits något effektivt läkemedel för behandling av ID hos hästar med EMS, och huvudfokus i behandlingen av dessa patienter har varit skötselrekommendationer och foderrestriktioner.

Natrium-glukos-kotransportör 2 (SGLT2)-hämmare används för behandling av humanpatienter med diabetes mellitus typ II för ökad glykemisk kontroll. Läkemedlet verkar genom att inhibera resorptionen av glukos i njurarna. Veterinärer inom forskningsfältet för endokrinologi har på senare år utforskat användning av SGLT2-hämmare för behandling av EMS. Trots att det inte finns ett överväldigande antal studier om SGLT2-hämmare på EMS-hästar i nuläget, är resultaten från de som har publicerats anmärkningsvärda. Natrium-glukos-kotransportör 2-hämmare sänker effektivt både plasmainsulin- och glukoskoncentrationerna och därigenom motverkar läkemedlet fång hos hästar med EMS.

Sex hästar diagnosticerade med EMS rekryterades till den här läkemedelstudien där dem behandlades med SGLT2-hämmaren kanagliflozin i 25 dagar. Varje individ kategoriserades som antingen lindrigt-måttligt (n=3) eller kraftigt (n=3) ID, men alla fick samma dos kanagliflozin under behandlingen. Målet med studien var att undersöka om graden ID påverkar läkemedelssvaret avseende insulin- och glukoskoncentrationer i plasma under ett oralt glukostoleranstest (OGT).

I enlighet med tidigare publikationer indikerar resultaten att SGLT2-hämmare är ett högpotent läkemedel för reglering av hyperinsulinemi hos hästar med EMS. Reducerade maxkoncentrationer av insulin i storlek om ~50 % eller mer observerades för samtliga hästar. Behandling med SGLT2-hämmare på häst tycks inte enbart sänka insulinnivåerna indirekt genom minskade glukosnivåer, utan möjligen även genom att direkt modulera insulinmetabolismen. Läkemedlets procentuella effekt varierade mellan hästar men denna studie kunde inte påvisa några evidens för att variationen direkt påverkas av graden ID. Däremot var den numeriska sänkningen i insulinkoncentrationer anmärkningsvärt mer omfattande hos hästar med kraftig ID jämfört med hästar med lindrig-måttlig ID. Durationen av insulinresponsen minskade även hos hästar med kraftig ID efter behandling, men inte hos hästar med lindrig-måttlig ID. Fler studier som undersöker läkemedelseffekten under en längre tidsperiod är av intresse för att bättre utvärdera eventuella responsskillnader relaterat till grad av ID.

*Nyckelord:* Ekvint metabolt syndrom (EMS), Insulindysreglering (ID), Hyperinsulinemi, Kanagliflozin

## Abstract

Equine metabolic syndrome (EMS) consists of several risk factors contributing to the development of laminitis in horses. Insulin dysregulation (ID) and obesity with or without regional fat accumulation are important risk factors which are covered in the syndrome. Horses with ID develop abnormally high concentrations of plasma insulin, called hyperinsulinemia. Hyperinsulinemia have been proved to induce laminitis, and therefore it has been of greatest interest to try to counteract the elevated, noxious levels of the anabolic hormone. Up until recently there has not been a truly effective drug on the market for these patients, and the main focus in treatment has been management advice and feeding restrictions.

Sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2)-inhibitors are used for increased glycemic control in human patients with diabetes mellitus type II. The drug works through inhibiting reabsorption of glucose in the kidneys. Veterinarians within the equine research society of endocrinology has recently started to show interest in the possible use of SGLT2-inhibitors in treatment of EMS. Although the quantity of studies of SGLT2-inhibitors used on EMS horses is not overwhelming at the moment, the results presented from the ones that have been published are quite extraordinary. Sodium-glucose cotransporter 2-inhibitors effectively lowers both insulin- and glucose levels in plasma and therefore prevents laminitis in horses with EMS.

Six horses diagnosed with EMS were recruited for this medical trial where they were treated with the SGLT2-inhibitor kanagliflozin for 25 days. Each individual was categorized into either mild-moderate (n=3) or severe (n=3) ID, but all horses got the same dose kanagliflozin during the treatment. The aim of the study was to understand if the severeness of ID affect the response of the drug regarding insulin and glucose concentration after an oral glucose tolerance-test (OGT).

Coherent with previous publications, this study indicate that SGLT2-inhibitors is a highly potent drug for regulating elevated insulin levels in horses with EMS. Reduction in maximal concentrations of insulin in the size of ~50% or more were observed in all horses. In fact, it seems that treatment with SGLT2-inhibitors in horses not only lower insulin levels indirect through declined glucose levels, but possibly also by modulating the metabolism of insulin in a more direct sense. The efficacy of the drug measured in percentage varied between horses, but this study did not present any evidence of that variation depends on the severeness of ID. Although, the numerical reduction of insulin levels was remarkably more extensive in horses with severe ID compared to horses with mild-moderate ID. Also, the duration of insulin response decreased after treatment in horses with severe ID, but not in horses with mild-moderate ID. Further investigation of the efficacy during a longer time period is of interest to better evaluate potential response differences related to the severeness of ID.

*Keywords:* Equine metabolic syndrome (EMS), Insulin dysregulation (ID), Hyperinsulinemia, Kanagliflozin

# Innehållsförteckning

<b>Tabellförteckning .....</b>	<b>9</b>
<b>Förkortningar .....</b>	<b>10</b>
<b>1. Inledning .....</b>	<b>11</b>
<b>2. Litteraturoversikt .....</b>	<b>13</b>
2.1 Evint metabolt syndrom .....	13
2.1.1 Fång.....	14
2.1.2 Insulin.....	14
2.1.3 Insulindysreglering.....	15
2.1.4 Diagnostik .....	16
2.1.5 Behandling.....	17
2.2 Natrium-glukos-kotransportör 2 (SGLT2) .....	18
2.2.1 Behandlingsstudier på häst med SGLT2-hämmare .....	18
<b>3. Material &amp; Metod .....</b>	<b>20</b>
3.1 Hästar.....	20
3.2 Studiedesign .....	21
3.2.1 Upplägg vid försöken.....	21
3.2.2 Provtagning under oralt glukostoleranstest .....	22
3.2.3 Analys av insulin & glukos .....	22
3.2.4 Bearbetning av data.....	22
<b>4. Resultat .....</b>	<b>23</b>
4.1 Body condition score, cresty neck score & vikt.....	23
4.2 Basal- & maxkoncentrationer.....	23
4.3 Area under kurvan & responsdata .....	24
4.4 Mängden insulin per glukosenhet ( $AUC_{ins}/AUC_{glu}$ ) .....	26
4.5 Tid till maxkoncentration för insulin.....	28
<b>5. Diskussion .....</b>	<b>29</b>
5.1 Läkemedelseffekt & dosering.....	29
5.2 Försöksupplägg & provtagning .....	32
5.3 Biverkningar .....	33

<b>Konklusion.....</b>	<b>34</b>
<b>Referenser.....</b>	<b>35</b>
<b>Populärvetenskaplig sammanfattning .....</b>	<b>42</b>
<b>Tack.....</b>	<b>44</b>



# Tabellförteckning

Tabell 1. Basdata för 6 hästar med ekvint metabolt syndrom som valts ut för att undersöka effektskillnader av kanagliflozin vid olika grader av insulindysreglering... ..	20
Tabell 2. Data från 6 hästar med insulindysreglering uppmätt före respektive efter 25 dagars behandling med kanagliflozin. ....	23
Tabell 3. Glukos- och insulinvärden under oralt glukostoleranstest av 6 hästar med insulindysreglering före/efter 25 dagars behandling med kanagliflozin.....	27
Tabell 4. Tid till uppmätt maxkoncentration av insulin efter ett oralt glukostoleranstest utfört på 6 hästar med insulindysreglering före respektive efter 25 dagars behandling med kanagliflozin. ....	28

## Förkortningar

AUC	Area under kurvan
BCS	Body Condition Score
C <sub>max</sub>	Maxkoncentration
CNS	Cresty Neck Score
EMS	Ekvint Metabolt Syndrom
GIP	Glucose-dependent insulinotropic polypeptide
GLP-1	Glucagon Like Peptide-1
ID	Insulindysreglering
IR	Insulinresistens
OGT	Oralt glukostoleranstest
P.O.	Per oralt
SGLT	Sodium-glucose cotransporter / Natrium-glukos- kotransportör
SLU	Sveriges lantbruksuniversitet
T <sub>PEAK</sub>	Tid till uppnådd maxkoncentration av insulin under OGT. I detta arbete avser T <sub>PEAK</sub> maxkoncentration för insulin.
TG	Triglycerider

# 1. Inledning

Insulindysreglering (ID) ingår i sjukdomskomplexet ekvint metabolt syndrom (EMS) och ger upphov till hyperinsulinemi (höga insulinnivåer i blodet) hos häst. Hyperinsulinemi kan inducera fång och anses vara den vanligaste etiologin till fång idag. Patofysiologin kring hur de höga insulinnivåerna påverkar lamellerna i hoven är fortfarande oklara och preventiva åtgärder för att undvika ett högt insulinsvar är i fokus gällande behandlingsstrategin för EMS. Strikt grovfoderdiet, fler men mindre fodergivor samt att undvika bete är exempel på åtgärder som rekommenderas till EMS-patienter för att undvika höga glukoskoncentrationer som i sin tur stimulerar ett högt insulinsvar. Trots korrekta skötsel- och utfodringsåtgärder riskerar patienter med allvarlig ID skadligt höga insulinkoncentrationer, framför allt postprandiellt. Det är önskvärt att med hjälp av medicinska interventioner motverka hyperinsulinemi hos dessa individer genom att sänka blodglukosnivåerna.

Natrium-glukos-kotransportör 2-hämmaren kanagliflozin är ett humanläkemedel som används av patienter med diabetes mellitus typ II för att minska glukoskoncentrationen i blodet. Läkemedlet ökar glukosexkretionen i njuren och inducerar glukosuri och således minskar blodglukosnivåerna. Studier på hästar med ID har visat att substansen även sänker blodglukoskoncentrationen på häst och dessutom reducerar plasmainsulinnivåer vilket följaktligen motverkar fång. Natrium-glukos-kotransportör 2-hämmare spås ha stor potential som behandlingsalternativ till hästar med EMS. Frågetecken kring dos, effekt och biverkningar kvarstår dock och kräver vidare undersökningar innan kanagliflozin på ett säkert sätt kan användas i kliniken.

Syftet med studien är att undersöka om effekten av SGLT2-hämmare på glukos- och insulinresponsen efter ett oralt glukostoleranstest (OGT) skiljer sig mellan EMS-hästar med kraftig respektive lindrig till måttlig ID efter korttidsbehandling med kanagliflozin.

**Frågeställning:**

Hur skiljer sig glukos- och insulinresponsen efter ett OGT mellan EMS-hästar med kraftig jämfört med lindrig till måttlig ID efter 25 dagars behandling med en SGLT2-hämmare?

## 2. Litteraturöversikt

### 2.1 Evint metabolt syndrom

Ekvint metabolt syndrom är en av de mest frekvent förekommande endokrinopatierna på häst. Snarare än en sjukdom i sig kan EMS förklaras som ett antal riskfaktorer som predisponerar för att en häst ska drabbas av endokrinologiskt orsakad fång. Dessa riskfaktorer innefattar övervikt, med eller utan regional fettansättning, och ID, som karakteriseras av insulinresistens (IR) och hyperinsulinemi. Utöver en ökad risk för fång riskerar EMS-hästar att i högre utsträckning drabbas av andra sjukliga tillstånd som hyperlipemi, hyperglykemi och hypertriglyceridemi (Durham *et al.* 2019). I motsats till metabolt syndrom inom humanmedicin finns idag inga entydiga evidens för att hästar med EMS drabbas av kardiovaskulära komplikationer (Nostell *et al.* 2016; Heliczner *et al.* 2017; Nostell *et al.* 2021). Även om övervikt är vanligt hos hästar med EMS är den huvudsakliga riskfaktorn för fång ID, och en viktig aspekt av syndromet är faktumet att även hästar utan obesitas eller regionala fettdepåer kan lida av olika grader av ID (Truelsen Lindåse 2017). Alla hästraser kan utveckla EMS men det tycks finnas en genetisk predisposition för syndromet. Det saknas i dagsläget kunskap om hur sjukdomen nedärvs men klart är att ponnyraser av olika slag tillhör den överrepresenterade gruppen (Burns & Toribio 2018:1086).

Frisättning av adipokinhormonerna leptin och adiponektin från fettväv påverkar insulinkänsligheten och verkar inflammationsmodulerande hos människa. Leptin driver huvudsakligen det proinflammatoriska immunsvaret medan adiponektin har en antiinflammatorisk effekt (Zorena *et al.* 2020). Överviktiga hästar har förhöjda leptinnivåer (Buff *et al.* 2002) och det finns korrelationer mellan IR, hyperinsulinemi och samtidig hyperleptinemi hos häst (Frank *et al.* 2006; Caltabilota *et al.* 2010). Intraabdominell fettväv och dess endokrina signalering utgör en särskilt störande faktor i glukos- och insulinsignaleringen hos människa, och regionala fettdepåer längs mankammen kan möjligen ha motsvarande effekt på häst (Treiber *et al.* 2006). Cresty neck scoring (CNS) är ett graderingssystem för regional fettansättning på halsen för häst vars skala går från 0-5. Ett CNS score  $\geq 3$  har visat sig innebära ökad risk för ponnyer att drabbas betesinducerad fång (Carter *et al.* 2009).

### 2.1.1 Fång

Fång innebär att hovens lameller drabbas av inflammation. Lamellerna i hoven är förbindelsen mellan hovbenet och hovkapseln och håller hovbenet i rätt position i förhållande till hovkapseln. Inflammationen orsakar en elongering av lamellerna (Patterson-Kane *et al.* 2017) som gör att förbindelsen luckras upp och det skapas en instabilitet i hovbenets positionering. Instabiliteten leder följaktligen till att hovbenet riskerar en lägesförändring som i sin tur riskerar att orsaka skador på flera strukturer i hoven samt skador på själva hovbenet i sig. Fång är en smärtsam process och kan utöver den akuta inflammationen ge upphov till kroniska lägesförändringar på hovbenet. (Ross & Dyson 2010: 366-367).

Konvalescensperioden efter ett fångfall är lång och huruvida en häst kan återgå till samma typ av arbete som innan varierar. En fall-kontrollstudie (Menzies-Gow *et al.* 2010) från Storbritannien gjord på hästar som drabbats av akut fång efter betesvistelse visade att 72 % av patienterna hade god prognos 8 veckor efter behandling, 5 % hade avlivats och 59 % hade återgått till sitt normala arbete. Olika epidemiologiska studier från Storbritannien redogör för en recidivrisk som ligger mellan 49 (Wylie *et al.* 2013) till 75 % (Pollard *et al.* 2019).

Etiologierna till fång delas in i 3 grupper: endokrinologiskt orsakad fång, fång triggad av systemisk inflammation samt belastningsfång (Patterson-Kane *et al.* 2017). Den förstnämnda etiologin har visat sig vara dominerande. En fallstudie från ett hästsjukhus i Finland visade att upp till 90 % av patienterna som vårdats för fång hade en endokrin etiologi, där 1/3 av patienterna diagnosticerades med Pituitary Pars Intermedia Dysfunction (PPID) och 2/3 av patienterna hade basal hyperinsulinemi (Karikoski *et al.* 2011) vilket är förenligt med diagnosen EMS. Med endokrinologiskt orsakad fång menas att fånganfallet inducerats av hyperinsulinemi. Kausaliteten mellan hyperinsulinemi och fång har experimentellt undersökts och bevisats i ett antal studier. Genom kontrollerad intravenös infusion av insulin och glukos under 48 till 72h har hyperinsulinemi inducerats på friska hästar vilket resulterade i att samtliga hästar i studierna utvecklade fång (Asplin *et al.* 2007; De Laat *et al.* 2010; De Laat *et al.* 2012). Fortfarande kvarstår ovisshet kring vilka mekanismer vid hyperinsulinemi som ger upphov till fång (Durham *et al.* 2019).

### 2.1.2 Insulin

Insulin frisätts från pankreas  $\beta$ -celler för att systemiskt verka anabolt genom att bland annat möjliggöra glukosupptag hos insulinberoende celler. Olika mekanismer verkar stimulerande för insulinfrisättningen. Det främsta stimulus för sekretion av insulin är den postprandiella ökningen av blodglukoskoncentrationen. Insulinberoende glukotransportörerna GLUT2 på pankreas  $\beta$ -celler möjliggör inflöde av glukos till  $\beta$ -cellerna vilket i sin tur aktiverar de intracellulära mekanismer som

leder till frisättning av insulin (Röder *et al.* 2016). Utöver blodglukoskoncentrationen finns det inkretinhormoner som verkar stimulerande för insulinfrisättningen. Inkretinhormonerna tillhör den enteroinsulära axeln och utgörs bland annat av Glucagon-like-peptid (GLP-1) och glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) vars frisättning från tarmen stimuleras i närvaro av lättlösliga kolhydrater, fettsyror och aminosyror (Röder *et al.* 2016). Glucagon-like-peptide och GIP har många metabola effekter, bland annat förbättrar de insulinkänsligheten (Seino *et al.* 2010). Den funktionella fördelningen mellan GLP-1 och GIP i hur de verkar systemiskt på häst är inte klarlagt men studier tyder på att GLP-1 har en starkare korrelation till insulinfrisättningen hos häst. Det är möjligt att GLP-1-sekretionen och eventuella defekter i den har betydelse för insulindysregleringen (De Laat *et al.* 2016).

### 2.1.3 Insulindysreglering

Insulindysreglering innefattar IR och basal- och postprandiell hyperinsulinemi (Durham *et al.* 2019). När insulinkänslig vävnad (fettvävnad, skelettmuskulatur, lever) slutar att svara normalt på insulin utvecklas IR. I fettvävens och skelettmuskulaturens celler återfinns GLUT4 som är en glukotransportör vars aktivering är insulinberoende. Uteblir GLUT4-aktivering sker ingen införsel av glukos till cellen, och cellen går miste om substratet till dess ATP-produktion. De exakta mekanismer i insulinsignaleringen som är defekta vid IR är ej klarlagt i dagsläget (Wilcox 2005), men brister hos glukotransportörer som GLUT4 kan potentiellt bidra till IR (Wilcox 2005; Burns & Toribio 2018: 1096). Insulinresistens är inte unikt för EMS utan förekommer vid andra endokrina sjukdomar (PPID) (Tadros *et al.* 2019) samt även vid systemiska sjukdomar (endotoxinemi, sepsis) (Tóth *et al.* 2008; Bertin *et al.* 2018). Kronisk IR hos häst karaktäriseras av en hyperinsulinemi, framförallt postprandiellt, samtidigt som patienten fortsätter vara normoglykemisk över tid. Det kan jämföras med humanmedicin där kronisk systemisk IR med kompensatorisk hyperinsulinemi över tid leder till uttrötning och nedreglering av  $\beta$ -cellsvaret som slutligen progredierar till diabetes mellitus typ II. Insulinresistens hos humanpatienter går således från att vara kompenserad till att vara icke-kompenserad (Burns & Toribio 2018:1084). Vanligtvis är och förblir IR hos häst av kompensatorisk karaktär, men icke-kompensatorisk IR med hyperglykemi, normala insulinnivåer och glukosuri finns beskrivet även hos häst och klassas då som diabetes mellitus typ II (Burns & Toribio 2018:1088).

Utöver en ökad insulinrespons ses även en fördröjning i när insulinkoncentrationerna kulminerar postprandiellt hos hästar med ID. En studie från Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) undersökte skillnaden i tid till uppmätta maxkoncentrationer av insulin efter ett OGT hos 20 EMS-hästar i jämförelse med 23

friska individer. Tiden för maxkoncentration hos EMS-hästarna var  $92\pm 27$  minuter medan det för den friska gruppen var  $69\pm 25$  minuter. (Lindåse *et al.* 2016)

Eliminering av insulin sker främst genom levern hos människa (Wilcox 2005). Hur eliminationshastigheten av insulin påverkar insulinkoncentrationerna i blodet är knapphändigt utvärderat på häst. En experimentell studie har gjorts på häst (Toth *et al.* 2010) som visade att exkretionen av insulin från levern minskar när insulinsekretionen från pankreas ökar. För att bättre förstå vilken roll elimineringen av insulin spelar hos en häst med ID krävs fler studier som eventuellt kan belysa ytterligare en viktig mekanism i patofysiologin. För att bättre utvärdera  $\beta$ -cellsvaret oberoende leverns metabolism av insulin finns potential i att mäta plasmakoncentrationer av C-peptid. C-peptid och insulin utsöndras i ekvimolära mängder av  $\beta$ -cellerna men exkretionen av C-peptid sker i oförändrad form genom njuren, i kontrast till den metabolism som insulin genomgår i levern. Indirekt mätning av  $\beta$ -cellernas ursprungliga insulinsvar möjliggörs på så sätt genom mätning av C-peptid. Forskare har lyckats detektera och kvantifiera C-peptid hos häst genom mätningar med metoder framtagna för humanmedicin i samma syfte. En diagnostisk metod anpassad för häst vore en tillgång i den kliniska utvärderingen av  $\beta$ -cellernas funktion, men i dagsläget finns inget validerat test för att mäta C-peptid hos häst i kliniken (Toth *et al.* 2010).

#### 2.1.4 Diagnostik

Att mäta basala insulinnivåer för att diagnosticera ID har tidigare rapporterats brista i sensitivitet hos häst (Dunbar *et al.* 2016), men nyare studier pekar på att fasteinsulinnivåer kan användas för att diagnosticera ID på framför allt gruppnivå (Sensitivitet=91 %, Specificitet=85 %), och metoden har potential som diagnostiskt verktyg i epidemiologiska studier (Lindåse *et al.* 2021). Dynamiska tester för att undersöka förhållandet mellan glukosnivåer och insulinrespons är att föredra när det kommer till diagnostik på individnivå (Truelsen Lindåse 2017). Ett dynamiskt glukosbelastningstest innebär att glukos tillförs per oralt (p.o.) eller intravenöst innan blodprov för mätning av glukosnivåer och insulinsvaret tas. Till skillnad från intravenösa belastningstester som kan mäta  $\beta$ -cellsvaret mer exakt är det orala testet en estimering av  $\beta$ -cellsvaret efter fysiologisk stimulering då det påverkas av flera faktorer såsom inkretinfrisättning (Schuver *et al.* 2014). Fördelen med det orala testet är att det enkelt kan utföras i fält.

I Sverige är det i kliniken praxis att utföra ett OGT framtaget genom modifikationer av ett Amerikanskt OGT, med skillnaden att glukossubstratet anpassats till något som finns att tillgå på den skandinaviska marknaden (Lindåse *et al.* 2016). Fasta 8-12 h innan provtagning rekommenderas för att glukosupptaget i tarmen ska underlättas (Durham *et al.* 2019) och magsäckstömningen inte ska påverkas av



foderinnehåll. Orala glukosbelastningstester har visat sig ha lägre sensibilitet när det kommer till att detektera individer som har mild ID men är tillförlitlig på att identifiera individer som har ett mer utpräglat postprandiellt insulinsvar (Truelsen Lindåse 2017).

Klinisk kemiska laboratoriet på SLU i Uppsala analyserar prover för misstänkt EMS som skickas in av kliniskt verksamma veterinärer runt om i Sverige. Insulinvärden  $< 45 \mu\text{IU/mL}$  anges som ett negativt resultat för ID,  $45\text{-}65\mu\text{IU/mL}$  är en gråzon och värden  $> 65 \mu\text{IU/mL}$  indikerar ID när provtagning skett 60 minuter efter glukosgivan. Sker provtagningen 90 minuter efter givan är gråzonen istället  $45\text{-}70 \mu\text{IU/mL}$  och indikation på ID  $> 70 \mu\text{IU/mL}$ . (Truelsen Lindåse 2020)

### 2.1.5 Behandling

I dagsläget behandlas hästar med EMS i praktiken konservativt för sin ID, med skötselåtgärder inriktade på framför allt foderrestriktioner (Truelsen Lindåse 2017) för att undvika hyperinsulinemi. En grovfoderbaserad foderstat där man undviker bete, kraftfoder och andra födoämnen med hög andel icke-strukturella kolhydrater (NSC) bör eftersträvas. Grovfoder med NSC  $< 10\%$  rekommenderas för att begränsa det postprandiella insulinsvaret (Durham *et al.* 2019). Kontrollerad viktminskning genom foderrestriktioner har setts förbättra insulinkänsligheten hos överviktiga hästar (Van Weyenberg *et al.* 2008).

Möjlighet till medicinsk behandling av EMS-hästars ID är begränsad. Metformin är ett humanläkemedel som på människa minskar den enterala glukosabsorptionen vilket reducerar blodglukosnivåerna. Det finns studier gjord på hästar som visat på minskade postprandiella blodglukosnivåer efter metformingiva (Bailey *et al.* 1994; Rendle *et al.* 2013) vilket medfört hypoteser kring att läkemedlet eventuellt även minskar det enterala glukosupptaget på häst. Biotillgängligheten har dock visat sig vara låg hos häst (Hustace *et al.* 2009) och läkemedlet påverkar inte den systemiska insulinkänsligheten (Tinworth *et al.* 2012). För att stimulera viktminskning kan Levotyroxin användas i kombination med skötselåtgärder. Studier har visat på positiva effekter gällande minskning av vikt och regional fettansättning i nackregionen efter genomgången behandling (Frank *et al.* 2005; Chameroy *et al.* 2010). Levotyroxin finns registrerat för häst i USA men inte i Europa. Ytterligare ett humanläkemedel, Pioglitazone, som används av diabetespatienter för att öka insulinkänsligheten har testats på häst (Legere *et al.* 2019). Studien visade positiva resultat gällande sänkning av postprandiella insulinkoncentrationer och en ökning av adiponektinkoncentrationer. Även om de positiva resultaten motiverar vidare studier av Pioglitazone inom EMS-forskningen talar läkemedlets kostsamma prisbild mot preparatet som ett reellt behandlingsalternativ.

## 2.2 Natrium-glukos-kotransportör 2 (SGLT2)

I njuren hos en frisk individ reabsorberas all glukos som filtrerats ut i primärurinen och glukosen återförs till cirkulationen. Natrium-glukos-kotransportörer typ 1 och typ 2 i njurens proximala tubuli har som uppgift att sköta reabsorptionen av glukos. När SGLT-transportörerna utfört reabsorptionen återförs glukoset till cirkulationen via GLUT1 och GLUT2, en process som är oberoende av insulin (Bays 2013). Hos människor står SGLT2 för 80-90 % av glukosreabsorptionen medan SGLT1, belägna i distala delen av proximala tubuli, utför resterande 10-20 % av absorptionen. Natrium-glukos-kotransportör 1 har en viss kompensatorisk reservkapacitet som aktiveras vid hämning av SGLT2. Den glukos som utsöndras i urinen vid användning av läkemedel som verkar hämmande på SGLT2 är således fraktionen som blir kvar när SGLT1 når sin maxkapacitet i absorptionsförmåga (Abdul-Ghani *et al.* 2013). Natrium-glukos-kotransportör 2-hämmare används inom humanmedicinen för behandling av patienter med diabetes mellitus typ II (Carlson *et al.* 2016) och den inducerade glukosurin har setts reducera hyperglykemi, motverka hypertension samt lett till viktninskning (Abdul-Ghani & DeFronzo 2014).

### 2.2.1 Behandlingsstudier på häst med SGLT2-hämmare

2018 publicerades den första experimentella studien på häst med syftet att indirekt motverka hyperinsulinemi genom att inducera glukosuri och sänka blodglukosnivåer med hjälp av SGLT2-hämmare (Meier *et al.* 2018). Den australiensiska studien fann att användning av SGLT2-hämmaren velagliflozin med en dos om 0,3 mg/kg kroppsvikt motverkade hyperinsulinemi och fång hos hästar med ID. Efter utfodring med en stärkelsesrik foderstat utvecklade 14 av totalt 37 hästar i kontrollgruppen fång medan ingen av de 12 hästarna i behandlingsgruppen gjorde det. Maxkoncentrationer ( $C_{max}$ ) för glukos och insulin i plasma hos den grupp som behandlats med SGLT2-hämmare var statistiskt signifikant lägre än hos de hästar i kontrollgruppen som utvecklade fång. Däremot sågs ingen skillnad i  $C_{max}$  när behandlingsgruppen enbart jämfördes med den del av kontrollgruppen som inte utvecklade fång.

2022 presenterades en mindre fallrapport från USA (Kellon & Gustafsson 2022) där 10 hästar med recidiverande fång till följd av kronisk ID behandlats med en annan SGLT2-hämmare, kanagliflozin. Efter behandling med kanagliflozin sjönk insulinnivåerna hos alla individer till normala alternativt strax över normala nivåer, samtliga hästars fångsymtom upphörde och en minskning av regional fettansättning noterades. Doseringsintervallet var 0,3-0,6 mg/kg och författarnas subjektiva bedömning var att det fanns ett samband mellan dosering i det högre dosintervallet och snabbare förbättringar på insulinnivåer och hovkomfort. Effekten av läkemedlet upplevdes av författarna inte påverkas av kroniciteten av fång eller hur länge

hästen haft hyperinsulinemi. Resultaten bör tolkas med stor försiktighet till följd av studiens utformning.

Både velagloflizin och kanagliflozin har visat sig vara enkla att administrera oralt samt inte givit några biverkningar utöver lindrig polyuri vid de ovan nämnda studierna (Meier *et al.* 2019; Kellon & Gustafsson 2022). I kontrast har en nyligen publicerad retrospektiv studie på häst observerat ökade nivåer av triglycerider (TG) efter användning av SGLT2-hämmare (Sundra *et al.* 2022).

Sedan 2019 pågår experimentella studier vid SLU där man undersöker kanagliflozins kortsiktiga och långsiktiga effekt på EMS-patienter. Resultat från pilotstudien som gjordes inför den pågående kliniska studien indikerar, likt ovan nämnda studier, att SGLT2-hämmare har god effekt gällande att motverka postprandiell hyperinsulinemi hos häst (Svensson 2020; Tegler 2020).

Trots goda behandlingsresultat från de få studier som gjorts finns fortfarande många kunskapsluckor angående SGLT2-hämmares effekt och verkan på häst. Innan läkemedlet kan börja användas i kliniken behöver därför fler undersökningar göras kring behandling med SGLT2-hämmare på hästar med EMS.

## 3. Material & Metod

### 3.1 Hästar

Studien var en del av ett pågående försök på SLU där behandling av EMS-hästar görs med SGLT2-hämmaren kanagliflozin. Försöket är godkänt av Uppsalas djurförsöksetiska nämnd (Diariernr: 5.8 18-09082/2020). Hästarna i studien var privatägda och rekryterades genom att djurägare kontaktats med deltagarförfrågan efter att deras hästar diagnosticerats med EMS i fält. Ett djurägarmedgivande undertecknades med tillåtelse att insamlad information och tagna prover får användas i forskningssyfte. Inklusionskriterierna var att hästarna skulle vara diagnosticerade med EMS, ej lida av samtidig PPID eller annan systemisk sjukdom, inte ha ett pågående akut fånganfall samt inte ha vistats på bete den senaste månaden. Hästar  $\leq 4$  års ålder exkluderades.

Urvalet av hästar till detta arbete (tabell 1) baserades på resultat från de OGT som genomfördes på SLU Universitetsdjursjukhuset som en del i den pågående kanagliflozinstudien. De tre första hästarna som undersöktes inom försöket från augusti till oktober 2022 med ett  $C_{\max}$  för insulin under 250  $\mu\text{IU}/\text{mL}$  inkluderades till gruppen lindrig-måttlig (L-M) ID. Vidare blev de tre första hästarna med ett  $C_{\max}$  för insulin över 500 $\mu\text{IU}/\text{mL}$  inom samma tidsperiod inkluderade till gruppen kraftig (K) ID.

Tabell 1. Basdata för 6 hästar med ekvint metabolt syndrom som valts ut för att undersöka effektskillnader av kanagliflozin vid olika grader av insulindysreglering. L-M (Lindrig-Måttlig insulindysreglering); K (Kraftig insulindysreglering).

HÄST	RAS	KÖN	ÅLDER (ÅR)	TIDIGARE FÅNG
L-M <sub>A</sub>	Shetlandspionny	Valack	8	Ja
L-M <sub>B</sub>	Islandshäst	Sto	15	Nej
L-M <sub>C</sub>	Connemara	Sto	16	Nej
K <sub>A</sub>	Korsningsponny	Valack	14	Ja
K <sub>B</sub>	Islandshäst	Sto	14	Ja
K <sub>C</sub>	Svenskt Halvblod	Sto	17	Ja

Hästarna vistades i varsin rasthage utan gräs ca 4 h dagligen under varje försöksomgång. Varje individ utfodrades med sitt medhavda foder, samma mängd som hemma fördelat på 3-4 ggr/dag beroende på dag i försöket. Alla hästar hade fri tillgång till vatten under hela klinikvistelsen, inklusive under försöken.

## 3.2 Studiedesign

Varje försökshäst var uppstallad på SLU Universitetsdjursjukhuset för provtagning i 5 dagar i syfte att utvärdera deras insulinrespons efter tre olika dynamiska glukosbelastningstest, varav ett var ett OGT, innan p.o. läkemedelsbehandling påbörjades i hemmiljö. Dosen alternativt om hästen fick placebo slumpades fram i den stora studien, men de 6 hästar som undersöktes i detta arbete fick 1,2 mg/kg kanagliflozin för att kunna jämföra responsen hästarna emellan. Hästen behandlades hemma varje kväll i 23 dagar innan den åter stallades upp på kliniken i 5 dagar för uppföljande glukosbelastningstester då hästen fortfarande stod på behandling. Totalt behandlades hästarna i 25 dagar mellan de båda OGT-testen. Försöksperioderna skedde i omgångar med tre hästar vid varje försökstillfälle. Under hemvistelsen mellan försöksomgångarna uppmanades djurägaren att ge samma mängd foder som hästen normalt åt samt inte göra några förändringar i rutiner kring hantering och motion.

### 3.2.1 Upplägg vid försöken

Dag ett på klinikvistelsen lämnades hästen på universitetsdjursjukhuset för acklimatisering till miljön. Andra dagen genomfördes en klinisk undersökning av en veterinär och bedömning av body condition score (BCS) och CNS. På eftermiddagen anlades en permanentkateter (MILACATH EXTENDED USE 14-16Ga x 7,5-13,0 cm. MILA International Inc. Kentucky, USA eller Intranule, 14Ga x 10,5 cm. Vygon Ecouen, France) under sterilt förfarande i ena sidans vena jugularis efter att stickområdet lokalbedövats med Emla (lidokain 25 mg/g, prilokain 25 mg/g, Aspen Nordic) intrakutant och Carbocain (Mepivacain 20 mg/ml, Aspen Nordic) subkutant. Den tredje dagen, efter att hästen fastat i 8 h under natten, noterades vikt direkt på morgonen och sedan utfördes ett OGT med start kl. 07:00. Dag fyra utfördes ett Meal Tolerance Test (MTT) och ytterligare en kanyl anlades sedan i den andra jugularen inför det avslutande Graded Glucose Infusion-test (GGI-test) som gjordes dag fem. Sedan åkte hästen hem. Uppföljande klinikvistelse hade samma upplägg med tillägget att hästen behandlades en gång/dag med kanagliflozin. Resultaten erhållna från de två OGT-testen de 6 utvalda hästarna genomgick är den data som analyserats i detta arbete.

### 3.2.2 Provtagning under oralt glukostoleranstest

Nollprov togs från venkatetern 5 minuter innan glukossirapen gavs. 20 ml blod erhöles vid varje provtagningstillfälle efter att 5 ml blod först dragits upp med en separat spruta och kasserats. Efter varje provtagning spolades katetern med 10 ml NaCl (Natriumklorid Fresenius Kabi 9 mg/ml). Med en 100 ml spruta administrerades sedan 0,5mL/kg kroppsvikt Dansukker glukossirap (Nordic Sugar A/S, Copenhagen, Denmark) p.o. För att få en lättflytande konsistens stod sirapen i varmvattenbad innan den drogs upp från flaskan. Mulen och eventuellt glukospill torkades bort med blött papper efter administrering för att undvika kontamination av glukossirap vid blodprovstagning. Provtagning från venkatetern upprepades sedan vid 15, 30, 60, 90, 120, 150 samt 180 minuter efter att sirapen administrerats. Blodet överfördes från 20 ml sprutan till ett Litiumheparinrör, EDTA-rör samt Serumrör och centrifugerades. Plasman och serumet överfördes till uppmärkta eppendorfrör och frös sedan in i -80 °C för förvaring inför analys.

### 3.2.3 Analys av insulin & glukos

Blodglukosanalysen gjordes på helblod med en glukosmätare (Accu-Check Aviva, Roche Diagnostics Scandinavia AB, Bromma, Sweden) innan provet centrifugerats. Insulinkoncentrationer erhöles efter analys av plasman från litiumheparinröret, de andra rören användes för analyser av parametrar som inte presenteras i detta arbete. Analysen av plasmainsulin gjordes med en ELISA (Mercodia Equine Insulin ELISA, Mercodia AB, Uppsala, Sweden) på kliniska vetenskapers laboratorium på SLU.

### 3.2.4 Bearbetning av data

All data presenteras och jämförs deskriptivt i detta arbete. Areal under kurvan (AUC) för glukos och insulin beräknades med trapetzformel i GraphPad prism 8 för alla individer från den första klinikvistelsen ( $AUC_1$ ) och den uppföljande klinikvistelsen ( $AUC_2$ ). Beräkning av den procentuella förändring ( $\Delta$ ) i insulin och glukos mellan första och andra mättillfället gjordes för samtliga parametrar (basalvärden,  $C_{max}$ , AUC) med tillägg att även den numeriska  $\Delta$  beräknades för AUC. Genom kvoten  $AUC_{ins}/AUC_{glu}$  beräknades mängden insulin per glukosenhet, vilket ger en estimering av  $\beta$ -cellsvaret.

## 4. Resultat

### 4.1 Body condition score, cresty neck score & vikt

De individuella hästarnas vikt, BCS och CNS från båda försökstillfällena presenteras i tabell 2. Två hästar, en från grupp L-M och en från grupp K, minskade 0,5 score på BCS efter 25 dagars behandling med kanagliflozin medan övriga hästar bedömdes till samma BCS. Ingen häst ändrades i CNS. Samtliga hästar i respektive grupp minskade i vikt med ett medelvärde om ~5 % (grupp L-M) och ~3 % (grupp K).

*Tabell 2. Data från 6 hästar med insulindysreglering uppmätt före respektive efter 25 dagars behandling med kanagliflozin. Variabler märkta med 1, ex BCS<sub>1</sub>, representerar data insamlad före medicinering. Variabler märkta med 2, ex BCS<sub>2</sub>, representerar data insamlad efter medicinering; BCS (Body Condition Score); CNS (Cresty Neck Score);  $\Delta$ Vikt(%) (viktminskning i %); \*CNS: Samtliga hästar uppskattades till samma CNS vid bägge försökstillfällena varför endast en kolumn för CNS redovisas.*

	BCS <sub>1</sub>	BCS <sub>2</sub>	CNS*	VIKT <sub>1</sub>	VIKT <sub>2</sub>	$\Delta$ VIKT(%)
<b>L-M<sub>A</sub></b>	8,5	8,5	3,5	260	251	-3 %
<b>L-M<sub>B</sub></b>	8,0	8,0	3,5	437,5	410,5	-6 %
<b>L-M<sub>C</sub></b>	5,5	5,0	2,5	445,5	424	-5 %
<b>K<sub>A</sub></b>	6,5	6,5	4,0	356	350	-2 %
<b>K<sub>B</sub></b>	8,5	8	4,0	416,5	396	-5 %
<b>K<sub>C</sub></b>	6,0	6,0	4,0	526,5	520,5	-1 %

### 4.2 Basal- & maxkoncentrationer

Basalvärden och C<sub>max</sub> för insulin och glukos presenteras i tabell 3 som dessutom visar den procentuella förändringen ( $\Delta$ ) före och efter medicinering. Siffror inom parentes som saknar förklaring avser det numeriska eller procentuella spannet inom respektive grupp.

Medelvärden för basalnivåer i glukoskoncentration för grupp L-M var 5,2 (4,9-5,4) mmol/L vid OGT<sub>1</sub> och 4,5 (4,0-4,8) mmol/L vid OGT<sub>2</sub>. Motsvarande värden för grupp K är 5,4 (5,0-5,8) mmol/L respektive 5,0 (4,7-5,4) mmol/L. Ingen individ utvecklade hypoglykemi (blodglukoskoncentration < 4 mmol/L) vid den uppföljande undersökningen vid OGT<sub>2</sub>. Basalkoncentrationer av glukos minskade i medel med 13 (10-18) % i grupp L-M och 8 (6-11) % för grupp K.

Basalkoncentrationer av insulin vid OGT<sub>1</sub> varierade i grupp L-M mellan 31,2 och 44,3 (medelvärde 39,2)  $\mu$ IU/mL och i grupp K från 44,7 till 183,4 (medelvärde 92,2)  $\mu$ IU/mL. Under OGT<sub>2</sub> var basalkoncentrationer av insulin för grupp L-M i ett spann mellan 9,6 och 21,8 (medelvärde 17,4)  $\mu$ IU/mL och grupp K mellan 19,2 och 26,0 (medelvärde 23,1)  $\mu$ IU/mL. Procentuellt minskade basalkoncentrationer av insulin med 51 till 69 (medelvärde 58) % för grupp L-M och med 46 till 87 (medelvärde 63) % i grupp K.

Vid OGT<sub>1</sub> var medelvärdet för C<sub>max</sub> av glukos för grupp L-M 8,7 (7,8-10,1) mmol/L och för grupp K 11,9 (10,8-13,6) mmol/L. Vid OGT<sub>2</sub> var medelvärdet för C<sub>max</sub> av glukos i respektive grupp 7,3 (7,0-7,5) (L-M) och 8,0 (6,1-9,1) (K) mmol/L. Medelvärdet för den procentuella minskningen i C<sub>max</sub> av glukos var större i grupp K med 31(19-55) % i jämförelse med grupp L-M som i medel minskade 15 (5-26) %.

Samtliga hästar förutom L-M<sub>b</sub> hade ett C<sub>max</sub> för insulin över 200  $\mu$ IU/mL vid OGT<sub>1</sub>. Efter 25 dagars behandling med kanagliflozin är K<sub>b</sub> den enda hästen med insulinivåer över 200 $\mu$ IU/mL. Båda grupperna fick en markant reduktion i C<sub>max</sub> för insulin, som procentuellt minskade med 48 till 74 (medelvärde 59) % i grupp L-M och motsvarande 50 till 90 (medelvärde 69) % i grupp K.

### 4.3 Area under kurvan & responsdata

I tabell 3 redovisas alla exakta värden för AUC (glukos och insulin) och i figur 1 illustreras responskurvorna grafiskt. Siffror inom parentes som saknar förklaring avser det numeriska spannet inom respektive grupp.

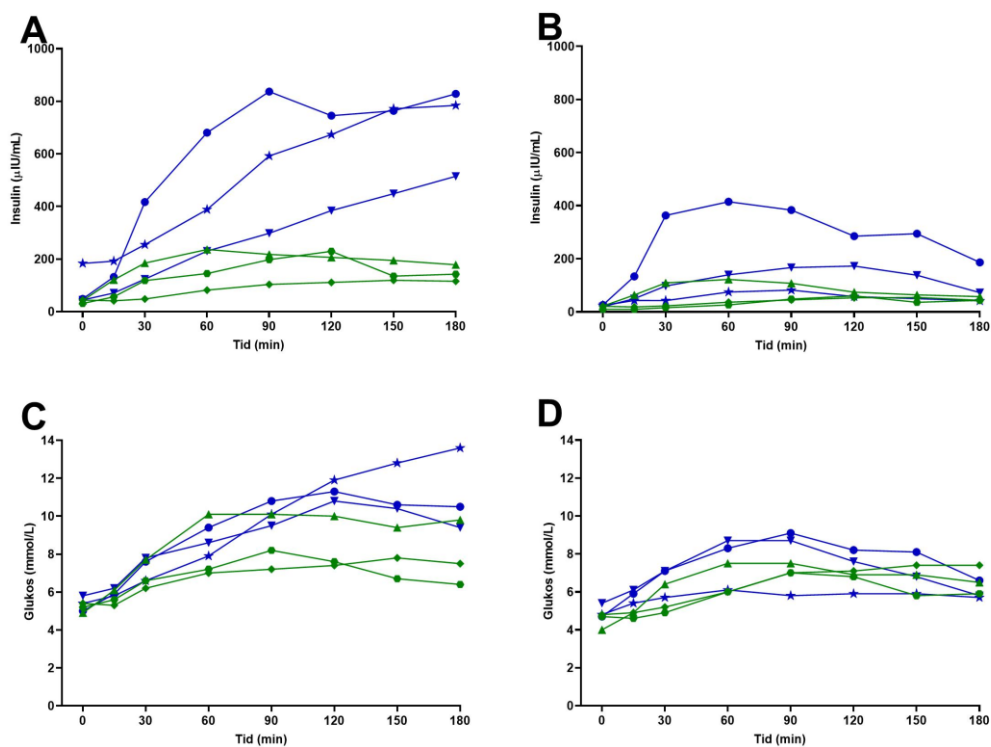
Vid OGT<sub>1</sub> var medelvärdet i AUC för glukos (AUC<sub>glu</sub>) 1 383 (1 254 – 1 637) mmol/L\*min för grupp L-M och 1 701 (1 632 – 1 761) mmol/L\*min för grupp K. Efter medicinering var medelvärdet för AUC<sub>glu</sub> i grupp L-M 1148 (1071-1209) mmol/L\*min och för grupp K 1256 (1042-1394) mmol/L\*min, en harmonisering av glukosresponsen individerna emellan som illustreras i figur 1 graf D. För grupp L-M uppmättes en procentuell minskning i AUC<sub>glu</sub> i storlek mellan 7 till 26 (medelvärde 17) % och motsvarande minskade i grupp K från 18 till 41 (medelvärde 26) %.



Efter medicinering minskade AUC för insulin ( $AUC_{ins}$ ) procentuellt mellan 55 till 77 (medelvärde 62) % i grupp L-M och motsvarande siffror för grupp K var 53 till 89 (medelvärde 66) %. Den numeriska skillnaden i  $\Delta AUC_{ins}$  mellan grupperna var stor, grupp L-M minskade mellan -8 983 till -20 772 (medelvärde -16 295)  $\mu IU/mL \cdot min$  medan den numeriska minskningen för grupp K sträckte sig från -30 087 till -84 215 (medelvärde -58 242)  $\mu IU/mL \cdot min$ .

Graf A i figur 1 illustrerar den stora skillnaden i insulinresponsen efter ett OGT mellan lindrigt-måttligt och kraftigt insulindysreglerade hästar, samt ses tydligt att alla insulinkurvor i grupp K fortsatte stiga vid 180 minuter medan samtliga kurvor för grupp L-M vänt nedåt/planat ut vid samma tidpunkt. Graf B visar att efter medicinering har det skett en harmonisering i insulinresponsen mellan  $K_a$ ,  $K_c$  och grupp L-M, medan  $K_b$  fortfarande sticker ut med den högsta insulinresponsen. Efter medicinering hade även insulinkurvorna hos samtliga hästar i grupp K vänt vid minut 180.

Glukoskurvorna i graf C visar att blodglukosnivåerna var högre i grupp K än för grupp L-M, men att alla hästars kurva planat ut/vänt neråt vid 180 minuter bortsett från häst  $K_c$  vars kurva fortsatte relativt brant uppåt även vid 180 minuter. Efter medicinering kan man i graf D se hur även blodglukosnivåerna harmoniserar grupperna emellan och att även häst  $K_c$  har en glukoskurva som vänt/planat ut vid 180 minuter.



Figur 1. Grafer som illustrerar förändring i insulin- och glukosresponskurva under oralt glukostoleranstest av 6 hästar med insulindysreglering indelade i grupper om lindrig-måttlig eller kraftig insulindysreglering efter 25 dagars medicinering med kanagliflozin. A (insulinresponskurva innan medicinering); B (insulinresponskurva efter medicinering); C (glukoskurva innan medicinering); D (glukoskurva efter medicinering); Grön linje (Lindrig-måttlig ID; ▲ = L-M<sub>a</sub> ◆ = L-M<sub>b</sub> ● = L-M<sub>c</sub>) Blå linje (Kraftig ID; ▼ = K<sub>a</sub> ● = K<sub>b</sub> ★ = K<sub>c</sub>).

#### 4.4 Mängden insulin per glukosenhet ( $AUC_{ins}/AUC_{glu}$ )

Mängden insulin som frisätts per glukosenhet minskade mellan 39 till 73 (medelvärde -55) % i grupp L-M och 42 till 82 (medelvärde -57) % i grupp K efter 25 dagars behandling med kanagliflozin.

Tabell 3. Glukos- och insulinvärden under oralt glukostoleranstest av 6 hästar med insulin-dysreglering före/efter 25 dagars behandling med kanagliflozin. Variabler märkta med 1, ex  $AUC_1$ , representerar data insamlad före medicinering. Variabler märkta med 2, ex  $AUC_2$ , representerar data efter medicinering. Basal (basalnivåer innan glukosgiva);  $\Delta$  (förändring mellan första och andra mättillfället);  $C_{max}$  (maxkoncentrationer); AUC (Arean under kurvan 0-180min);  $AUC_{ins}/AUC_{glu}$  (kvot som ger mängden insulin per glukosenhet); M (medelvärden för respektive grupp).

	L-M <sub>a</sub>	L-M <sub>b</sub>	L-M <sub>c</sub>	M <sub>L-M</sub>	K <sub>a</sub>	K <sub>b</sub>	K <sub>c</sub>	M <sub>k</sub>
<b>Glukos</b>								
<b>Basal<sub>1</sub></b> (mmol/L)	4,9	5,4	5,2	5,2	5,8	5,0	5,4	5,4
<b>Basal<sub>2</sub></b> (mmol/L)	4,0	4,8	4,7	4,5	5,4	4,7	4,8	5,0
<b><math>\Delta</math>Basal</b> (%)	-18	-11	-10	-13	-7	-6	-11	-8
<b>C<sub>max1</sub></b> (mmol/L)	10,1	7,8	8,2	8,7	10,8	11,3	13,6	11,9
<b>C<sub>max2</sub></b> (mmol/L)	7,5	7,4	7,0	7,3	8,7	9,1	6,1	8,0
<b><math>\Delta</math>C<sub>max</sub></b> (%)	-26	-5	-15	-15	-19	-19	-55	-31
<b>AUC<sub>1</sub></b> (mmol/L*min)	1637	1254	1259	1383	1632	1718	1761	1701
<b>AUC<sub>2</sub></b> (mmol/L*min)	1209	1163	1071	1148	1333	1394	1042	1256
<b><math>\Delta</math>AUC</b> (mmol/L*min)	-428	-91	-188	-235	-299	-324	-719	-445
<b><math>\Delta</math>AUC</b> (%)	-26	-7	-15	-17	-18	-19	-41	-26
<b>Insulin</b>								
<b>Basal<sub>1</sub></b> ( $\mu$ IU/mL)	42,1	44,3	31,2	39,2	44,7	48,5	183,4	92,2
<b>Basal<sub>2</sub></b> ( $\mu$ IU/mL)	21,8	20,8	9,6	17,4	19,2	26,0	24,0	23,1
<b><math>\Delta</math>Basal</b> (%)	-51	-53	-69	-58	-57	-46	-87	-63
<b>C<sub>max1</sub></b> ( $\mu$ IU/mL)	236,2	119,4	229,6	195,1	514,7	836,6	784,3	711,9
<b>C<sub>max2</sub></b> ( $\mu$ IU/mL)	122,1	54,3	60,5	79,0	172,4	414,8	81,9	223,0
<b><math>\Delta</math>C<sub>max</sub></b> (%)	-48	-55	-74	-59	-67	-50	-90	-69
<b>AUC<sub>1</sub></b> ( $\mu$ IU/mL*min)	34 616	16 251	27 110	25 992	52 752	114 936	94 530	87 406
<b>AUC<sub>2</sub></b> ( $\mu$ IU/mL*min)	15 487	7268	6338	9698	22 665	54 511	10 315	29 164
<b><math>\Delta</math>AUC</b> ( $\mu$ IU/mL*min)	-19 129	-8983	-20 772	-16 295	-30 087	-60 425	-84 215	-58 242
<b><math>\Delta</math>AUC</b> (%)	-55	-55	-77	-62	-57	-53	-89	-66
<b><math>AUC_{ins}/AUC_{glu}</math> (mIU/mmol)</b>								
<b>Före</b>	21,1	13,0	21,5	18,5	32,3	66,9	53,7	51,0
<b>Efter</b>	12,8	6,2	5,9	8,3	17,0	39,1	9,9	22,0
<b><math>\Delta</math>(%)</b>	-39	-52	-73	-55	-47	-42	-82	-57

## 4.5 Tid till maxkoncentration för insulin

Tid till då maxkoncentration av insulin ( $T_{PEAK}$ ) uppmättes vid de båda försökstillfällena presenteras i tabell 4. Innan medicinering hade samtliga i grupp L-M nått  $T_{PEAK}$  inom 180 minuter medan insulinkoncentrationerna för alla individer i grupp K ej ännu börjat sjunka innan sista provtagningen vid 180 minuter. Efter medicinering med kanagliflozin hade även alla i grupp K nått  $T_{PEAK}$  inom 180 minuter.  $T_{PEAK}$  förblev samma för alla individer i grupp L-M även efter medicinering.

Tabell 4. Tid till uppmätt maxkoncentration av insulin efter ett oralt glukostoleranstest utfört på 6 hästar med insulindysreglering före respektive efter 25 dagars behandling med kanagliflozin.  $T_{PEAK}$  (Tid då insulin når maxkoncentration).

	$T_{PEAK1}$	$T_{PEAK2}$
<b>L-M<sub>A</sub></b>	60 min	60 min
<b>L-M<sub>B</sub></b>	150 min	150 min
<b>L-M<sub>C</sub></b>	120 min	120 min
<b>K<sub>A</sub></b>	$\geq 180$ min	120 min
<b>K<sub>B</sub></b>	$\geq 180$ min	60 min
<b>K<sub>C</sub></b>	$\geq 180$ min	90 min

## 5. Diskussion

I denna korttidsstudie undersöktes om effekten av SGLT2-hämmare på glukos- och insulinresponsen efter ett OGT skiljde sig mellan 6 EMS-hästar med lindrig till måttlig respektive kraftig ID efter medicinerings med kanagliflozin. I likhet med tidigare publikationer kring behandling med SGLT2-hämmare på häst (Meier *et al.* 2018; Kellon & Gustafsson 2022; Sundra *et al.* 2022) visar resultaten från detta arbete att läkemedlet sänker insulinresponsen hos insulindysreglerade hästar. Avseende reduktionen i insulinresponsen skiljde sig den procentuella behandlingseffekten inte mellan grupperna, men den numeriska behandlingseffekten var slående mycket högre för hästar med kraftig ID jämfört med lindrig till måttlig ID. Alla hästar i grupp K hade tidigare haft fång vilket ligger i linje med tidigare studier avseende att hyperinsulinemi inducerar fång (Asplin *et al.* 2007; De Laat *et al.* 2010; De Laat *et al.* 2012) och talar för att läkemedlets stora numeriska reduktion i insulinresponsen hos kraftigt insulinresistenta hästar är till stor nytta gällande att motverka fångrecidiv hos dessa patienter. Utöver att orsaka en indirekt nedreglering av insulinsvaret genom sänkta blodglukosnivåer indikerar resultaten från denna studie att kanagliflozin möjligen även har direkta effekter på insulinmetabolismen på häst.

### 5.1 Läkemedelseffekt & dosering

Insulinvärdena för  $C_{max}$  och AUC minskade med ~50 % eller mer efter 25 dagars behandling med kanagliflozin hos samtliga individer inom båda grupperna, vilket talar för att läkemedlet har god effekt gällande reducering av insulinnivåer på hästar med varierande grad av ID. En procentuell effektskillnad på insulinkoncentrationer mellan grupperna kunde inte ses,  $\Delta Basal$ ,  $\Delta C_{max}$  och  $\Delta AUC(\%)$  varierade inom och överlappade mellan grupperna. Dessa data är dock endast analyserade deskriptivt och ej statistiskt. En större studiepopulation behövs för att säkert säga om det finns procentuella effektskillnader mellan grupperna, det är möjligt att det inte framkommer i denna data på grund av att det bara är tre individer i varje grupp. Grupperna L-M och K är dock väl separerade från varandra då grupp K med insulin  $> 500 \mu IU/mL$  har betydligt kraftigare ID än grupp L-M vars  $C_{max}$  för insulin är  $< 250 \mu IU/mL$ . Att grupperna är så väldefinierade och inte överlappar varandra bör underlätta för att hitta responskillnader trots en liten studiepopulation. Utöver

studiepopulationens utformning är det viktigt att ta hänsyn till att det endast är korttidseffekt som undersökts här och möjligen hade eventuella skillnader framträtt tydligare vid längre tids behandling.

Vad som däremot framkommer tydligt i den här studien är att läkemedlet har stor numerisk effektskillnad på insulinkoncentrationerna grupperna emellan. Grupp K numeriska minskning av insulin avseende  $C_{max}$  och AUC är slående stor i jämförelse med grupp L-M. Medelvärdet för  $\Delta AUC$  i grupp K är hela - 58 242 (-30 087- -84 215)  $\mu IU/mL \cdot min$  medan den motsvarande siffran för L-M är -16 295 (-8 983 - -20 772)  $\mu IU/mL \cdot min$ . Kliniskt har den stora numeriska sänkningen avgörande betydelse för att minska risken för fångrecidiv i grupp K. Individerna i grupp K har ett anmärkningsvärt högt insulinsvar vid OGT<sub>1</sub> och vid uppföljande OGT harmoniserar både  $K_a$  och  $K_c$  med grupp L-M, och det efter att även L-M fått ett reducerat insulinsvar. Även  $K_b$  har ett kraftigt numeriskt reducerat insulinsvar om än inte lika stort som övriga i gruppen.

Efter medicinering har samtliga hästar nått  $T_{PEAK}$  för insulin inom 180 minuters intervallet, vilket innebär att medicineringen dessutom orsakade en sänkning i  $T_{PEAK}$  för grupp K. För grupp L-M uppmättes ingen sänkning i  $T_{PEAK}$  utan den förblev samma som vid första provtagningstillfället. Det talar för att läkemedlet eventuellt har en mer uttalad effekt hos hästar med kraftig ID avseende att minska durationen av insulinresponsen. Sänkningen i  $T_{PEAK}$  är viktig då både amplituden, det vill säga hur högt insulinkoncentrationerna når, och durationen av insulinresponsen tycks påverka risken för fång (De Laat *et al.* 2012).

Förändringar i glukoskoncentrationerna varierar också både inom och mellan grupperna efter medicinering och minskningen tycks inte ha något mönster beroende sjukdomsgrad. Intressant är att individer med mycket små förändringar i AUC och  $C_{max}$  för glukos fick lika stora proportionella förändringar i insulinsvaret som hästar med betydligt större förändringar i plasmaglukosnivåer. Den procentuella minskningen i  $AUC_{glu}$  hos häst L-M<sub>b</sub> var 7 % och motsvarande siffra för L-M<sub>a</sub> var 26 %. Ändock fick båda hästarna en 55 % minskning i  $AUC_{ins}$ . Det tycks alltså inte finnas något direkt proportionerligt samband mellan redueringen av glukos- och insulinnivåer vid medicinering med kanagliflozin. Det indikerar också att läkemedlet inte enbart modulerar insulin indirekt genom att sänka blodglukos, utan sannolikt verkar på fler mekanismer i insulinmetabolismen på häst. Det finns humanstudier som visat att behandling med SGLT2-hämmare medfört förbättrad  $\beta$ -cellfunktion (Abdul el Ghani *et al.* 2017) och insulinkänslighet (Ferrannini *et al.* 2014; Merovci *et al.* 2014). Det är möjligt att läkemedlets verkan på insulinmetabolismen får mer uttalad effekt på häst i jämförelse med människa eftersom hästarna primärt lider av just hyperinsulinemi.

Resultaten från den här studien indikerar att det kan föreligga svårigheter med dosering av kanagliflozin då läkemedlets effekt varierade mellan individer trots samma dosering. Insulinnivåerna hos hästen K<sub>c</sub> avseende AUC och C<sub>max</sub> minskade med nästan 90 % efter behandlingsperioden medan motsvarande variabler för häst K<sub>b</sub> endast minskade med ~ 50 %. Både K<sub>c</sub> och K<sub>b</sub> hade extremt höga postprandiella insulinnivåer innan medicineringen varpå dem var i behov av en kraftig reduktion i sitt insulinsvar för att undvika fångrecidiv. En minskning med 50 % är otillräcklig för häst K<sub>b</sub> då den fortsatt låg högt över 200 µIU/mL i C<sub>max</sub>, vad anses vara gränsvärdet då fångrisken ökar markant (De Laat *et al.* 2012). Uppföljning efter påbörjad kanagliflozinbehandling är nödvändigt när läkemedlet börjar användas i praktiken, likaså kommer utfodringsåtgärder vara fortsatt betydande för ett lyckat behandlingsresultat. En försvårande aspekt är dock att effektskillnaden inte nödvändigtvis är dosberoende, utan kan bero på att ID är ett multifaktoriellt komplex (Durham *et al.* 2019). Även om hyperinsulinemi är resultatet hos alla patienter med ID kan etiologin utgöras av olika defekter i insulinmetabolismen som kan skilja sig mellan individer (Wilcox 2005; Toth *et al.* 2010; De Laat *et al.* 2016). Vilka mekanismer i insulinmetabolismen SGLT2-hämmare påverkar kommer därför påverka behandlingsresultatet hos patienten.

På människa leder hämning av SGLT2 till glukosuri och minskade blodglukosnivåer (Ferrannini *et al.* 2010; Bays 2013) och med tanke på att samma effekt ses på häst efter hämning av SGLT2, kan man anta att det sannolikt även hos häst är SGLT2 som står för majoriteten av glukosabsorptionen i njuren. Teoretiskt föreligger en risk för att patienten ska drabbas av ett hypoglykemiskt tillstånd när SGLT2 transportörerna hämmas, framför allt i fall som detta när effekten av läkemedlet tycks ha stor individvariation. Ingen hypoglykemi kunde dock påvisas hos någon av de inkluderade hästarna i studien. En hypotes inom humanmedicinen är att SGLT1 transportörernas reservkapacitet motverkar hypoglykemi i ett tillstånd där SGLT2 transportörerna är hämmade, då SGLT1 växlar upp sin absorptionsgrad (Abdul-Ghani *et al.* 2013). Vid experimentella försök på möss och råttor har det visat sig att när blodglukoskoncentrationerna når hypoglykemiska nivåer kommer inte SGLT2 hämning generera någon glukosuri alls, eftersom SGLT1 transportörernas maxkapacitet inte är nådd och njuren kommer således fortsatt kunna reabsorblera tillräckligt med glukos (Nagata *et al.* 2013; Powell *et al.* 2013). Det är möjligt att samma princip gäller för häst och mekanismen kan tänkas fungera som en säkerhetsbuffert i behandling med kanagliflozin med tanke på svårigheter med dosering och effektskillnad hos individer. Risken att den behandlade hästen blir hypo-glykemisk till följd av enbart kanagliflozinbehandling är i så fall liten.

Det är viktigt att ta i beaktning att blodglukoskoncentrationen även moduleras av glukagon. Minskningen av blodglukosnivåer och således minskade insulinnivåer kompenseras av glukagonfrisättning och driver en katabol metabolism (Röder *et al.*

2016). Glukagonet kommer stimulera endogen glukosproduktion i levern (Garcia *et al.* 1966) för att bibehålla tillfredsställande blodglukosnivåer. Detta är en normal fysiologisk funktion, men det kan tänkas föreligga en risk för att det katabola tillståndet blir för dominant under behandling med SGLT2-hämmare. Humana studier har visat att förhöjda glukagonnivåer i blodet (Ferrannini *et al.* 2014) och ökad fettmetabolism (Mudaliar *et al.* 2014) förekommer vid behandling med SGLT2-hämmare, och hos häst har det observerats ökade TG efter insatt behandling med SGLT2-hämmare (Sundra *et al.* 2022). Analys av glukagon, TG, och levervärden är därför av intresse för att se att hästarna inte blir för katabola vid behandling med SGLT2-hämmare. Alla hästar i denna studie minskade i vikt under de 25 dagar som försöket pågick. Ingen förändring i CNS sågs visserligen, men det beror sannolikt på den korta försöksperioden och att relativt stora förändringar i fettansättning krävs för ändring av CNS. Vid längre behandlingstider behöver hästarnas viktkurva följas för att se om viktnedgången fortsätter även efter att en idealvikt nås. Är så fallet behöver hästarna kompenseras med extra grovfoder för att bibehålla vikten. Viktnedgången är en önskvärd effekt med tanke på att man sett att insulinkänsligheten förbättrats i samband med viktning hos överviktiga hästar (Van Weyenberg *et al.* 2008), men hästar som redan är normalviktiga ska inte gå ner ytterligare.

## 5.2 Försöksupplägg & provtagning

Den här studien är gjord på privatägda hästar där vissa skillnader i skötsel, utfodring och motion mellan hästar har förekommit. Compliance bias är en faktor att ta hänsyn till i detta försök då man inte kan utesluta att skötseländringar eller felaktigheter i läkemedelsgiva skett på hemmaplan. Om hästarna spenderat perioden mellan försöken i samma stall, utfodrats med samma foder, haft samma aktiveringsgrad och behandlats av samma person hade standardiseringen av försöket ökat och risken för compliance bias minskat. För att minimera påverkan av compliance bias på studiens resultat instruerades djurägarna att inte göra några förändringar kring hästarnas rutiner och utfodring och noggranna instruktioner gällande läkemedelsadministrering delades ut. Hästägarna fick skriva dagbok och svara på några korta frågor om hästarnas mående under behandlingstiden vilket gör att potentiella bias kan uppmärksammas och tas i beaktning vid resultattolkning. Dessutom kan dagboksskrivandet sannolikt fungera som en motivator för djurägaren att reflektera över sin hästs mående och beteende, något som också gynnar upptäckt av potentiella läkemedelsbiverkningar. Inga avvikelser som bedöms kunna påverka resultaten återfanns i hästarnas dagböcker i detta fall.

För att undersöka glukos- och insulinresponsen i denna studie har ett OGT använts. Vid OGT är viktigt att all sirap administreras i munnen för att få ett tillförlitligt testresultat. Hur väl hästarna tolererade glukosadministreringen i detta försök



varierade men genom att hålla upp hästens huvud och sakta ge glukosen i takt med att hästen svalde gick det att få i glukosdosen även hos individer som var skeptiska. Även om administreringen fungerade tillfredsställande vid detta försök kvarstår problem med att tidsfaktorn kan påverka provresultaten. En studie från universitetet i Helsingfors (Karikoski *et al.* 2021) har visat att insulinresponsen efter ett OGT kan variera över tid för vissa individer, vilket gör att man kan argumentera för att det inte går att tillskriva läkemedlet 100 % av den uppmätta minskningen av insulinresponsen i detta arbete. I en studie av större omfattning än detta studentarbete finns möjlighet att kompensera för tidsfaktorn med en kontrollgrupp för att skatta hur stor del av förändringarna som sannolikt beror på tidsfaktorn. Det ska tilläggas att inga hästar erhöll  $C_{\max}$  för insulin  $> 300 \mu\text{IU/mL}$  i studien från Karikoski *et al.* (2021) och med andra ord är, enligt det här arbetets definition, inga kraftigt (insulin  $> 500 \mu\text{IU/mL}$ ) insulindysreglerade hästar inkluderade. Det är av intresse att vidare undersöka hur tidsfaktorn påverkar insulinresponsen hos hästar med kraftig ID vid upprepade OGT.

Det OGT som genomfördes inom studien inkluderade provtagning till och med 180 min efter p.o. administrering av glukossirap. Samtliga hästar i grupp K hade  $C_{\max}$  för insulin vid provtagning 180 min efter glukosgiva vilket innebär att det är möjligt att dem inte nått sin  $T_{\text{PEAK}}$  för insulin än. Det samstämmer med tidigare publicerad data om att hästar med kraftig ID har en fördröjd  $T_{\text{PEAK}}$  för insulin (Lindåse *et al.* 2016). Fler provtagningar efter 180 min hade varit önskvärt för att få en bättre bild av insulinresponskurvan innan medicinering för hästarna i grupp K.

### 5.3 Biverkningar

Ingen av hästarna visade några symtomatiska biverkningar under behandlingstiden utöver lindrig polyuri, i likhet med studien från Meier *et al.* (2019) och Kellon och Gustafsson (2022). Den lindriga polyurin bör ses som en tämligen harmlös biverkning som hästen kan kompensera för genom ökat vätskeintag. Inga biokemiska variabler såsom exempelvis TG, glukagon eller levervärden analyserats i samband med den här uppsatsen, och det går därför inte att utvärdera om ökade TG förekom likt det gjorde i studien från Sundra *et al.* (2022). Givet den korta behandlingstiden är det även möjligt att biverkningar inte hunnit manifesterats kliniskt. Med anledning av det går det inte att dra några slutsatser kring biverkningsprofilen hos kanagliflozin. Däremot går det att konstatera att dessa 6 hästar genomgick 25 dagars behandling utan att visa några kliniska symtom på skadliga biverkningar, samt att ingen hypoglykemi utvecklades. Analyser som undersöker fler biokemiska markörer under en längre behandlingstid på en större studiepopulation är nödvändigt för att uttala sig om läkemedlets säkerhet.

## Konklusion

Behandling med SGLT2-hämmaren kanagliflozin i 25 dagar reducerade insulinresponsen med ~50 % eller mer hos 6 hästar med ID. Ingen procentuell effektskillnad beroende på grad av ID observerades. Däremot sågs hästarna med kraftig ID erhålla en mer omfattande numerisk reduktion i insulinresponsen jämfört med gruppen lindrig-måttlig ID. Hästarna med kraftig ID fick till skillnad från hästarna med lindrig-måttlig ID även en minskad duration i sin insulinsrespons efter behandling. Dessa fynd är av klinisk relevans för det visar att även hästar med kraftig ID kan undgå insulinnivåer som riskerar orsaka fång med hjälp av medicinering med kanagliflozin. Det sågs inget direkt proportionerligt samband mellan reduktionen av glukos- och insulinkoncentrationer i denna studie, vilket indikerar att kanagliflozin möjligen har direkta effekter på insulinmetabolismen hos häst, fördelaktiga för patienter med EMS.

## Referenser

- Abdul-Ghani, M.A., DeFronzo, R.A., Norton, L. (2013). Novel hypothesis to explain why SGLT2 inhibitors inhibit only 30–50% of filtered glucose load in humans. *Diabetes*. 62 (10): 3324–3328.  
<https://doi.org/10.2337/db13-0604>
- Abdul-Ghani, M.A., DeFronzo, R.A. (2014). Lowering plasma glucose concentration by inhibiting renal sodium – glucose cotransport. *Journal of Internal Medicine*. 276 (4): 352-363.  
<https://doi.org/10.1111/joim.12244>
- Abdul-Ghani, M., Al Jobori, H., Daniele, G., Adams, J., Cersosimo, E., Triplitt, C., DeFronzo, R.A. (2017). Inhibition of renal sodium-glucose cotransport with empagliflozin lowers fasting plasma glucose and improves  $\beta$ -cell function in subjects with impaired fasting glucose. *Diabetes*. 66 (9): 2495–2502.  
<https://doi.org/10.2337/db17-0055>
- Asplin, K.E., Sillence, M.N., Pollitt, C.C., McGowan C.M. (2007). Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies. *The Veterinary Journal*. 174 (3): 530-535.  
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.003>
- Bailey, C.J., Mynett, K.J., Page, T. (1994). Importance of the intestine as a site of metformin-stimulated glucose utilization. *British Journal of Pharmacology*. 112 (2): 671-675.  
<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1994.tb13128.x>
- Bays, H. (2013). Sodium glucose co-transporter type 2 (SGLT2) inhibitors: Targeting the kidney to improve glycemic control in diabetes mellitus. *Diabetes Therapy*. 4: 195–220.  
<https://doi.org/10.1007/s13300-013-0042-y>
- Bertin, F., Ruffin-Taylor, D., Stewart, A.J. (2018). Insulin dysregulation in horses with systemic inflammatory response syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 32 (4): 1420–1427.  
<https://doi.org/10.1111/jvim.15138>
- Buff, P.R., Dodds, A.C., Morrison, C.D., Whitley, N.C., McFadin, E.L., Daniel, J.A., Djiane, J., Keisler, D.H. (2002). Leptin in horses: Tissue localization and relationship between peripheral concentrations of leptin and body condition. *Journal of Animal*

- Science*. 80 (11): 2942–2948.  
<https://doi.org/10.2527/2002.80112942x>
- Burns, T.A., Toribio, R.E. (2018). Chapter 16 – Disorders of the Endocrine System. I: Reed, S.M., Bayly, W.M., Sellon, D.C. (red.) *Equine Internal Medicine*. 4. ed. St. Louis, Missouri: Elsevier. 1029-1138.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-44329-6.00016-4>
- Caltabilota, T., Earl, L., Thompson, D.L.J., Clavier, S., Mitcham, P. (2010). Hyperleptinemia in mares and geldings: Assessment of insulin sensitivity from glucose responses to insulin injection. *Journal of Animal Science*. 88 (9), 2940–2949.  
<https://doi.org/10.2527/jas.2010-2879>
- Carlson, C.J., Santamarina, M. L. (2016). Update review of the safety of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors for the treatment of patients with type 2 diabetes mellitus. *Expert Opinion on Drug Safety*. 15 (10): 1401-1412.  
<https://doi.org/10.1080/14740338.2016.1216100>
- Carter, R., Geor, R.J., Staniar, W.B., Cubitt, T.A., Harris, P.A. (2009). Apparent adiposity assessed by standardized scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. *The Veterinary Journal*. 179 (2): 204-210.  
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.02.029>
- Chameroy, K., Frank, N., Elliott, S. (2010). Effects of levothyroxine sodium on body condition, blood measures of metabolic status, and glucose dynamics in horses with equine metabolic syndrome (EMS). *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 24: 780  
<https://doi.org/10.2460/ajvr.69.1.76>
- 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 Veterinary Journal*. 42 (2): 129-135.  
<https://doi.org/10.2746/042516409X475779>
- De Laat, M.A., McGree J.M., Sillence, M.N. (2016). Equine hyperinsulinemia: investigation of the enteroinsular axis during insulin dysregulation. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*. 310 (1): E61-72.  
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00362.2015>
- De Laat, M.A., Sillence, M.N., McGowan, C.M., Pollitt, C.C. (2012). Continuous intravenous infusion of glucose induces endogenous hyperinsulinaemia and lamellar histopathology in Standardbred horses. *The Veterinary Journal*. 191 (3): 317-322  
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.07.007>
- Dunbar, L.K., Mielnicki, K.A., Dembek, K.A., Toribio, R.E., Burns, T.A. (2016). Evaluation of four diagnostic tests for insulin dysregulation in adult light-breed horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 30 (3): 885–891.  
<https://doi.org/10.1111/jvim.13934>
- Durham, A.E., Frank N., McGowan, C.M., Menzies-Gow, N.J., Roelfsema, E., Vervuert, I., Feige, K., Fey, K. (2019). ECEIM consensus statement on equine metabolic

syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 33 (2), 335-349.  
<https://doi.org/10.1111/jvim.15423>

Ferrannini, E., Muscelli, E., Frascerra, S., Baldi, S., Mari, A., Heise, T., Broedl, U.C., Woerle, H.-J. (2014). Metabolic response to sodium-glucose cotransporter 2 inhibition in type 2 diabetic patients. *Journal of Clinical Investigation*. 124 (2): 499-508.  
<https://doi.org/10.1172/JCI72227>

Ferrannini, E., Ramos, S.J., Salsali, A., Tang, W., List, J.F. (2010). Dapagliflozin monotherapy in type 2 diabetic patients with inadequate glycemic control by diet and exercise: A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Diabetes Care*. 33 (10): 2217-2224.  
<https://doi.org/10.2337/dc10-0612>

Frank, N., Elliott, S., Brandt, L., Keisler, D. (2006). Physical characteristics, blood hormone concentrations, and plasma lipid concentrations in obese horses with insulin resistance. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 228 (9): 1383-1390.  
<https://doi.org/10.2460/javma.228.9.1383>

Frank, N., Sommardahl, C.S., Eiler, H., Webb, L.L., Denhart, J.W., Boston, R.C. (2005). Effects of oral administration of levothyroxine sodium on concentrations of plasma lipids, concentration and composition of very-low-density lipoproteins, and glucose dynamics in healthy adult mares. *American Journal Veterinary Research*. 66 (6): 1032-1038.  
<https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.1032>

Garcia, A., Williamson, J.R., Cahill Jr, G.F. (1966). Studies on the perfused rat liver. II. Effect of glucagon on gluconeogenesis. *Diabetes (New York, N.Y.)*. 15 (3): 188-193.  
<https://doi.org/10.2337/diab.15.3.188>

Heliczner, N., Gerber, V., Bruckmaier, R., van der Kolk, J.H., de Solis, C.N. (2017). Cardiovascular findings in ponies with equine metabolic syndrome. *Pferdeheilkunde*. 33 (4): 411-412.  
<https://doi.org/10.2460/javma.250.9.1027>

Hustace, J.L., Firshman, A.M., Mata, J.E. (2009) Pharmacokinetics and bioavailability of metformin in horses. *American Journal Veterinary Research*. 70 (5): 665-668.  
<https://doi.org/10.2460/ajvr.70.5.665>

Karikoski, N.P., Box, J.R., Mykkänen, A.K., Kotiranta, Veikko, V.V., Raekallio, M.R. (2021). Variation in insulin response to oral sugar test in a cohort of horses throughout the year and evaluation of risk factors for insulin dysregulation. *Equine Veterinary Journal*. 54 (5): 905-913.  
<https://doi.org/10.1111/evj.13529>

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. *Domestic Animal Endocrinology*. 41 (3): 111-117.  
<https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2011.05.004>

- Kellon, E.M., Gustafson, K.M. (2022). Use of the SGLT2 inhibitor canagliflozin for control of refractory equine hyperinsulinemia and laminitis. *Open Veterinary Journal*. 12 (4): 511-518.  
<https://doi.org/10.5455/OVJ.2022.v12.i4.14>
- Legere, R.M., Taylor, D.R., Davis, J.L., Bello, K., Parker, C., Judd, R.L., Wooldridge, A.A. (2019). Pharmacodynamic effects of pioglitazone on high molecular weight adiponectin concentrations and insulin response after oral sugar in equids. *Journal of Equine Veterinary Science*. 82: 102797–102797.  
<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.102797>
- Lindåse, S., Nostell, K., Bergsten, P., Forslund, A. & Bröjer, J. (2021). Evaluation of fasting plasma insulin and proxy measurements to assess insulin sensitivity in horses. *BMC Veterinary Research*. 17 (1): 78–78.  
<https://doi.org/10.1186/s12917-021-02781-5>
- Lindåse, S., Nostell, K., Bröjer, J. (2016). A modified oral sugar test for evaluation of insulin and glucose dynamics in horses. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 58 (Suppl 1): 64.  
<https://doi.org/10.1186/s13028-016-0246-z>
- Meier, A., de Laat, M., Reiche, D., Fitzgerald, D., Sillence, M. (2019). The efficacy and safety of velagliflozin over 16 weeks as a treatment for insulin dysregulation in ponies. *BMC Veterinary Research*. 15: 65.  
<https://doi.org/10.1186/s12917-019-1811-2>
- Meier, A., Reiche, D., de Laat, M., Pollitt, C., Walsh, D., Sillence, M. (2018). The sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor velagliflozin reduces hyperinsulinemia and prevents laminitis in insulin dysregulated ponies. *PLoS One*. 13 (9).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203655>
- Menzies-Gow, N.J., Stevens, K., Camm, I., Pfeiffer, D., Marr, C.M. (2010). Severity and outcome of equine pasture-associated laminitis managed in first opinion practice in the UK. *Veterinary Record*. 167(10): 364-369.  
<https://doi.org/10.1136/vr.c3206>
- Merovci, A., Solis-Herrera, C., Daniele, G., Eldor, R., Fiorentino, T.V., Tripathy, D., Xiong, J., Perez, Z., Norton, L., Abdul-Ghani, M.A., DeFronzo, R.A. (2014). Dapagliflozin improves muscle insulin sensitivity but enhances endogenous glucose production. *The Journal of Clinical Investigation*. 124 (2): 509–514.  
<https://doi.org/10.1172/JCI70704>
- Mudaliar, S., Henry, R.R., Boden, G., Smith, S., Chalamandaris, A.-G., Duchesne, D., Iqbal, N., List, J. (2014). Changes in insulin sensitivity and insulin secretion with the sodium glucose cotransporter 2 inhibitor dapagliflozin. *Diabetes Technology & Therapeutics*. 16 (3): 137–144.  
<https://doi.org/10.1089/dia.2013.0167>
- Nagata, T., Fukazawa, M., Honda, K., Yata, T., Kawai, M., Yamane, M., Murao, N., Yamaguchi, K., Kato, M., Mitsui, T., Suzuki, Y., Ikeda, S. & Kawabe, Y. (2013).

- Selective SGLT2 inhibition by tofogliflozin reduces renal glucose reabsorption under hyperglycemic but not under hypo- or euglycemic conditions in rats. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*. 304 (4): E414–E423.  
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00545.2012>
- Nostell, K.E.A., Lindåse, S., Bröjer, J.T. (2016). Blood pressure in Warmblood horses before and during a euglycemic-hyperinsulinemic clamp. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 58 (Suppl 1): 65–65.  
<https://doi.org/10.1186/s13028-016-0247-y>
- Nostell, K., Lindåse, S., Winqvist, E., Bröjer, J. (2021). The effect of diet-induced obesity and pasture on blood pressure and serum cortisol in Standardbred mares. *Equine Veterinary Journal*. 53 (3): 542–548.  
<https://doi.org/10.1111/evj.13294>
- Patterson-Kane, J.C., Karikoski, N.P., McGowan, C.M. (2017). Paradigm shifts in understanding equine laminitis. *The Veterinary Journal*. 231: 33-40.  
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.11.011>
- Pollard, D., Wylie, C.E., Newton, J.R., Verheyen, K.L.P. (2019). Incidence and clinical signs of owner-reported equine laminitis in a cohort of horses and ponies in Great Britain. *Equine Veterinary Journal*. 51 (5): 587–594.  
<https://doi.org/10.1111/evj.13059>
- Powell, D.R., DaCosta, C.M., Gay, J., Ding, Z.-M., Smith, M., Greer, J., Doree, D., Jeter-Jones, S., Mseeh, F., Rodriguez, L.A., Harris, A., Buhring, L., Platt, K.A., Vogel, P., Brommage, R., Shadoan, M.K., Sands, A.T., Zambrowicz, B. (2013). Improved glycemic control in mice lacking Sglt1 and Sglt2. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*. 304 (2): E117–E130.  
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00439.2012>
- Rendle DI, Rutledge F, Hughes KJ, Heller J, Durham AE. (2013). Effects of metformin hydrochloride on blood glucose and insulin responses to oral dextrose in horses. *Equine Veterinary Journal*. 45 (6): 751-754.  
<https://doi.org/10.1111/evj.12068>
- Ross, M.W., Dyson, S.J. (2010). *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. 2. ed. St. Louis: Elsevier.
- Röder, P.V., Bingbing, W., Yxian, L., Weiping, H. (2016). Pancreatic regulation of glucose homeostasis. *Experimental & Molecular Medicine*. 48 (3): e219.  
<https://doi.org/10.1038/emm.2016.6>
- Schuver, A., Frank, N., Chameroy, K.A., Elliott, S.B. (2014). Assessment of insulin and glucose dynamics by using an oral sugar test in horses. *Journal of Equine Veterinary Science*. 34 (4): 465–470.  
<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.09.006>
- Seino, Y., Fukushima, M. & Yabe, D. (2010). GIP and GLP-1, the two incretin hormones: Similarities and differences. *Journal of Diabetes Investigation*. 1 (1-2): 8–

23.

<https://doi.org/10.1111/j.2040-1124.2010.00022.x>

Sundra, T., Kelty, E., Rendle, D. (2022). Preliminary observations on the use of ertugliflozin in the management of hyperinsulinaemia and laminitis in 51 horses: A case series. *BEVA Equine Veterinary Education*.

<https://doi.org/10.1111/eve.13738>

Svensson, O. (2020). *Kan behandling med kanagliflozin sänka postprandiella glukos- och insulinkoncentrationer hos hästar med EMS? Utvärdering av behandlingseffekten med hjälp av ett oralt sockerbelastningstest*. (Självständigt arbete). Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet.

<http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-s-17090>

Tadros, E.M., Fowlie, J.G., Refsal, K.R., Marteniuk, J., Schott, H.C. (2019). Association between hyperinsulinaemia and laminitis severity at the time of pituitary pars intermedia dysfunction diagnosis. *Equine Veterinary Journal*. 51 (1): 52–56.

<https://doi.org/10.1111/evj.12963>

Tegler, E. (2020). *Kan behandling med SGLT2-hämmare minska det postprandiella insulinsvaret hos hästar med EMS vid utfodring med vallfoder?* (Självständigt arbete). Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet.

<http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-s-16335>

Tinworth, K.D., Boston, R.C., Harris, P.A., Sillence, M.N., Raidal, S.L., Noble, G.K. (2012). The effect of oral metformin on insulin sensitivity in insulin-resistant ponies. *The Veterinary Journal*. 191 (1):79-84.

<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.01.015>

Tóth, F., Frank, N., Elliott, S.B., Geor, R.J., Boston, R.C. (2008). Effects of an intravenous endotoxin challenge on glucose and insulin dynamics in horses. *American Journal of Veterinary Research*. 69 (1): 82–88.

<https://doi.org/10.2460/ajvr.69.1.82>

Toth, F., Frank, N., Martin-Jimenez, T., Elliott, S., Geor, R., Boston, R. (2010). Measurement of C-peptide concentrations and responses to somatostatin, glucose infusion, and insulin resistance in horses. *Equine Veterinary Journal*. 42 (2): 149–155.

<https://doi.org/10.2746/042516409X478497>

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. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 228 (10): 1538-1545.

<https://doi.org/10.2460/javma.228.10.1538>

Truelsen Lindåse, S. (2017). *Insulin sensitivity and postprandial insulin response in equines*. Diss. Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet.

<http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-e-4457>



- Truelsen Lindåse, S. (2020). *Diagnostik av insulindysreglering (ID) vid ekvint metabolt syndrom (EMS) och hypofysär pars intermedia dysfunktion (PPID)*.  
<https://www.universitetsdjursjukhuset.se/globalassets/ew/org/andra-enh/uds/dokument/klinkem-pdf/diagnostik-av-insulindysreglering-id-vid-ems-och-ppid-uppdaterad-200630.pdf> [2022-11-10]
- Van Weyenberg, S., Hesta, M., Buyse, J., Janssens, G.P. (2008). The effect of weight loss by energy restriction on metabolic profile and glucose tolerance in ponies. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 92 (5): 538-545.  
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2007.00744.x>
- Wilcox, G. (2005). Insulin and insulin resistance. *The Clinical Biochemist Reviews*. 26 (2): 19–39.
- Wylie, C.E., Collins, S.N., Verheyen, K.L.P., Newton, J.R. (2013). Risk factors for equine laminitis: A case-control study conducted in veterinary-registered horses and ponies in Great Britain between 2009 and 2011. *The Veterinary Journal*. 198 (1): 57–69.  
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.08.028>
- Zorena, K., Jachimowicz-Duda, O., Slezak, D., Robakowska, M., Mrugacz, M. (2020). Adipokines and Obesity. Potential Link to Metabolic Disorders and Chronic Complications. *International Journal of Molecular Sciences*. 21 (10): 3570.  
<https://doi.org/10.3390/ijms21103570>

## Populärvetenskaplig sammanfattning

Ekvint metabolt syndrom, även kallat EMS, är en av de vanligaste hormonella sjukdomar som drabbar våra hästar idag. Syndromet innefattar bland annat defekter i hästens insulinsvar, så kallat *insulindysreglering*, vilket gör att hästen får skadligt höga insulinnivåer. Insulin är det hormon som utsöndras från bukspottskörteln i samband med att vi äter och möjliggör upptag av glukos in till våra celler, som sedan omvandlar glukos till energi. Cellerna hos en häst med insulindysreglering har förlorat sin känslighet för insulin och glukosintaget till cellen uteblir. Bukspottskörteln börjar då producera mer insulin tills insulinkoncentrationen i blodet är så pass hög att cellerna åter svarar på hormonet och tar in glukos i cellen.

Studier har visat att höga insulinkoncentrationer i blodet kan orsaka fång, därför löper hästar med EMS en ökad risk att drabbas av fång. Fång är ett tillstånd då stödjevävnaden i hästens hovar drabbas av inflammation vilket resulterar i kraftig smärta och hästens hovar riskerar kroniska förändringar. Konvalescenstiden efter ett fånganfall är lång och det är vanligt att hästar som en gång drabbats får återfall.

Behandlingsmålet för hästar som lider av EMS är att hålla insulinnivåer på en nivå där hästen inte riskerar ett fånganfall. Fram tills nyligen har det främst varit utfodringsåtgärder med lågsockerhaltigt foder som varit den primära behandlingsstrategin för patientgruppen, men för vissa hästar är dessa åtgärder otillräckliga för att bibehålla insulinet på oskadliga nivåer. På senare år har det publicerats ett fåtal studier där man använt ett humant diabetesläkemedel inom gruppen SGLT2-hämmare till hästar med EMS. Resultaten har varit mycket lovande då läkemedlet har visats kunna sänka insulinnivåerna hos hästar med EMS till en nivå då dem inte längre riskerar fång.

På Sveriges Lantbruksuniversitet pågår sedan 2019 läkemedelsförsök med just en SGLT2-hämmare som heter kanagliflozin på EMS-hästar. Den här studien syftade till att undersöka hur läkemedlets effekt varierar beroende på hur allvarligt sjuk hästen är i sin insulindysreglering. Hästarna delades in i 2 grupper, en grupp med lite-måttligt förhöjda insulinnivåer och en grupp med mycket förhöjda insulinnivåer. Hästarna behandlades i 25 dagar med kanagliflozin och sedan undersöktes hur hästarnas insulinnivåer ändrades efter behandlingen. Resultaten överensstämde med tidigare publikationer om att läkemedlet har mycket god effekt gällande att

sänka insulinnivåerna hos EMS-hästar och sannolikt därigenom motverka fång. Även om det inte sågs någon procentuell effektskillnad grupperna emellan i denna studie, noterades det att läkemedlet var extremt potent gällande att kraftigt sänka insulinnivåerna hos de allvarligast sjuka hästarna. Det är positivt eftersom det är de hästarna som löper störst risk att drabbas av fång. Men att läkemedlet är så potent betyder också att vidare forskning behövs för att utarbeta en säker behandlingsrekommendation kring kanagliflozin.

# Tack

*Morfar, för att din intelligens inspirerat och din omtänksamhet skapat trygghet.*

## Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. **Som student äger du upphovsrätten** till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Även om du inte publicerar fulltexten kommer den arkiveras digitalt. Om fler än en person har skrivit arbetet gäller krysset för samtliga författare. Läs om SLU:s publiceringsavtal här:

- <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

JA, jag ger härmed min tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag ger inte min tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.