



Effekten av exenatid på insulinresponsen hos häst

Sara Hannerz

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

Uppsala 2023



Effekten av exenatid på insulinresponsen hos häst

The effect of exenatide on the insulin response in horses

Sara Hannerz

Handledare: Johan Bröjer, Sveriges lantbruksuniversitet,
Institutionen för kliniska vetenskaper

Bitr. handledare: Sanna Truelsen Lindåse, 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

Omslagsbild: Sara Hannerz

Upphovsrätt: Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.

Nyckelord: ekvint metabolt syndrom, häst, exenatid, GLP-1-analog, OST, GGI

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Insulindysreglering (ID) är en central del av ekvint metabolt syndrom (EMS), en samling riskfaktorer som predisponerar för utveckling av fång hos häst. Fång är ett vanligt och mycket smärtsamt tillstånd, men går att förebygga hos hästar med EMS genom olika profylaktiska åtgärder. Behandlingsstrategin inkluderar anpassad utfodring, hovvård och motion, men farmakologisk behandling kan utgöra ett komplement om dessa åtgärder är otillräckliga. I dagsläget finns inga läkemedel registrerade med indikation för behandling av EMS hos häst. Därför finns ett behov av forskning inom detta område. Syftet med den aktuella studien var att undersöka behandlingseffekten av exenatid på det postprandiella insulinsvaret efter ett oralt sockertest (OST) och på β -cellresponsen under en Graded Glucose Infusion (GGI).

Fyra hästar av olika raser, varav tre insulindysreglerade, ingick i studien. Studiedesignen inkluderade överkorsning mellan interventionsgrupp och kontrollgrupp. Hästarna genomgick först ett OST (0,2 ml/kg Dansukker glykossirap) 30 minuter efter administration av exenatid eller placebo. Testet pågick under totalt 3 timmar. Blodprov togs 5 minuter före samt 15 och 30 minuter efter administration av glukossirap. Därefter togs blodprov var trettionde minut. Hästarna genomgick två dagar senare en GGI (stegvis ökande glukosinfusion var 40:e minut) 30 minuter efter administration av exenatid eller placebo. Blodprov togs 5 minuter före testets början, därefter var 10:e minut under de 4 timmar testet pågick. Efter 11 dagars washout upprepades de båda provokationstesterna. De hästar som mottog aktiv substans under period 1 erhöll placebo under period 2, och vice versa.

I studien sågs varierande resultat mellan de olika hästarna. En häst visade ett tydligt ökat postprandiellt insulinsvar samt en ökad β -cellrespons efter behandling med exenatid, vilket talar för att läkemedlet kan vara kontraindicerat för behandling av EMS hos häst. Eftersom det aktuella läkemedlet är relativt ostuderat i detta avseende behövs fler studier för att utvärdera vilken effekt det har hos häst.

Nyckelord: ekvint metabolt syndrom, häst, exenatid, GLP-1-analog, OST, GGI

Abstract

Insulin dysregulation (ID) is a central part of equine metabolic syndrome (EMS), a collection of risk factors predisposing horses for development of laminitis. Laminitis is a common and very painful condition. The treatment strategy includes adjusted feeding, hoof care and exercise, but if these measures are inadequate, they could be complemented by pharmacological treatment. There are currently no registered drugs for treatment of EMS in horses, hence there is a need for research in this area. The purpose with the present study was to investigate the treatment effect of exenatide on the postprandial insulin response after an oral sugar test (OST) and on the β -cell response during a Graded Glucose Infusion (GGI).

Four horses of different breeds, of which three were insulin dysregulated, were included in the study. The study was a randomized double-blind, two-period crossover study between the intervention group and the control group. Initially the horses underwent an OST (0.2 ml/kg Dansukker glucose syrup) 30 minutes after administration of exenatide or placebo. The total duration of the test was 3 hours. Blood samples were collected 5 minutes prior to as well as 15 and 30 minutes after administration of glucose syrup, after which blood samples were collected every 30 minutes. Two days later the horses underwent a GGI (gradually increasing glucose infusion every 40 minutes) 30 minutes after administration of exenatide or placebo. Blood samples were collected 5 minutes prior to the beginning of the test and then every 10 minutes during a total test time of 4 hours. After 11 days of washout the two tests were repeated. The horses that received the active substance during the first period received placebo during the second period, and vice versa.

Varied results were observed between the different horses in the study. One horse had a pronounced increase in postprandial insulin response as well as an increase in β -cell response after treatment with exenatide, which indicates that the drug may be contraindicated for treatment of EMS in horses. Further studies are required to evaluate the effect of the drug in horses.

Keywords: equine metabolic syndrome, horse, exenatide, GLP-1 analogue, OST, GGI

Innehållsförteckning

Figurförteckning	8
Förkortningar	9
1. Inledning	10
1.1 Bakgrund.....	10
1.2 Syfte.....	11
1.2.1 Hypotes.....	11
2. Litteraturoversikt	12
2.1 Ekvint metabolt syndrom.....	12
2.1.1 Hästens glukosmetabolism.....	12
2.1.2 Insulindysreglering.....	13
2.2 Diagnostiska tester.....	16
2.2.1 Oralt sockertest.....	16
2.2.2 Graded Glucose Infusion.....	17
2.3 Behandlingsstrategier för ekvint metabolt syndrom.....	18
2.3.1 Utfodring.....	18
2.3.2 Hovvård.....	19
2.3.3 Motion.....	20
2.3.4 Farmakologisk behandling.....	20
3. Material och metoder	23
3.1 Hästar.....	23
3.2 Studiedesign.....	24
3.2.1 Oralt sockertest.....	24
3.2.2 Graded Glucose Infusion.....	25
3.3 Hantering och analys av blodprover.....	25
3.4 Beräkningar.....	25
4. Resultat	26
5. Diskussion	33
5.1 Förslag på vidare studier.....	35
5.2 Konklusion.....	36
Referenser	37
Populärvetenskaplig sammanfattning	45
Tack	47

Figurförteckning

Figur 1. Tidslinje som illustrerar upplägget för en försöksomgång	24
Figur 2. Hästarnas insulinkänslighet baserat på peak insulinkoncentration under OST. .	26
Figur 3. Dosvariation mellan de olika hästarna i studien.	26
Figur 4 A-D. Glukoskoncentration i helblod angivet i mmol/l över 180 minuter under OST hos häst A-D.	27
Figur 5 A-D. Insulinkoncentration i plasma angivet i μ IU/ml över 180 minuter under OST hos häst A-D.	28
Figur 6 A-D. Glukoskoncentration i helblod angivet i mmol/l över 240 minuter under GGI med stegvis ökande glukosinfusionshastighet hos häst A-D.....	29
Figur 7 A-D. Insulinkoncentration i plasma angivet i μ IU/ml över 240 minuter under GGI med stegvis ökande glukosinfusionshastighet hos häst A-D.....	30
Figur 8 A-B. Dos-responssamband mellan blodglukoskoncentration och plasmainsulinkoncentration hos häst A-D under GGI.....	31
Figur 9 A-B. Area under kurvan (AUC) för blodglukoskoncentration respektive plasmainsulinkoncentration för samtliga hästar under OST samt GGI.....	32

Förkortningar

AUC	Area Under Curve
BCS	Body Condition Score
CNS	Cresty Neck Score
EMS	Ekvint metabolt syndrom
GGI	Graded Glucose Infusion
GIP	Gastric Inhibitory Peptide
GLP	Glucagon-like Peptide
GLUT	Glukostransportör
HCG	Hyperglycemic Clamp
ID	Insulindysreglering
IR	Insulinresistens
IS	Insulinkänslighet
NSAID	Icke-steroida antiinflammatoriska läkemedel
NSC	Icke-strukturella kolhydrater
OGT	Oralt glukostoleranstest
OST	Oralt sockertest
PPID	Pituitary Pars Intermedia Dysfunction
PVK	Perifer venkateter
SGLT	Natriumglukossamtransportör
WSC	Vattenlösliga kolhydrater

1. Inledning

1.1 Bakgrund

Det finns olika faktorer som utgör risk för att en häst ska utveckla endokrinopatisk fång (Durham *et al.* 2019). Dessa samlas under begreppet ekvint metabolt syndrom (EMS), där den mest centrala komponenten är insulindysreglering (ID) (Durham *et al.* 2019). Definitionen av EMS och den tillhörande kliniska bilden förändras i takt med att forskningen utvecklar förståelsen för syndromet (Bertin & Fraser 2020).

Exakt hur utbrett EMS är i hästpopulationen är svårt att säga då det finns liten mängd epidemiologiska data över prevalensen. Däremot visar studier att de olika risk-faktorerna som utgör syndromet är vanligt förekommande (Morgan *et al.* 2015). Fång är ett vanligt och mycket smärtsamt tillstånd, som orsakar stort lidande för hästar världen över (Collins *et al.* 2010). Det går inte att säga säkert hur stor andel av fångfallen som orsakas av EMS, men genom effektiv hantering av EMS kan man förebygga fång hos de drabbade hästarna (Morgan *et al.* 2015).

Olika strategier för att hantera EMS utvecklas ständigt, där anpassad utfodring, hovvård och motion står i centrum. För en del hästar är dock dessa förändringar otillräckliga (Meier *et al.* 2019). I dessa fall kan farmakologisk behandling utgöra ett komplement i hanteringen av syndromet (Bertin & Fraser 2020). I dagsläget finns inga läkemedel registrerade med indikation för behandling av EMS hos häst, därför finns ett behov av forskning inom detta område. I juli 2022 publicerades en pilotstudie, som undersöker effekten av GLP-1-analogen exenatid på insulinsvaret till oralt sockertest (OST) hos häst (Stefanovski *et al.* 2022). Hos samtliga hästar såg man ett minskat postprandiellt insulinsvar efter administration av exenatid, jämfört med vid utebliven behandling.

1.2 Syfte

Syftet med examensarbetet är att i en pilotstudie undersöka behandlingseffekten av exenatid på det postprandiella insulinsvaret efter ett oralt sockertest och på β -cellresponsen under ett graderat intravenöst glukostoleranstest.

1.2.1 Hypotes

Hypotes är att behandling med exenatid resulterar i minskade postprandiella glukos- och insulinnivåer samt minskad β -cellrespons.

2. Litteraturöversikt

2.1 Ekvint metabolt syndrom

Det finns olika faktorer som utgör risk för att en häst ska utveckla endokrinopatisk fång (Durham *et al.* 2019). Dessa samlas under begreppet ekvint metabolt syndrom (EMS), där den mest centrala komponenten är insulindysreglering (ID) (Durham *et al.* 2019). Insulindysreglering är ett samlingsbegrepp som inkluderar insulinresistens (IR), fastehyperinsulinemi samt överdrivet insulinsvar till följd av sockerintag (Frank & Tadros 2014). Utöver dessa element ingår även fetma som en del av EMS-komplexet (Johnson 2002). Fetma tros dock inte längre ensamt kunna orsaka EMS, utan är snarare en egenskap som potentiellt kan förvärra tillståndet genom att bidra till ökad ID (Durham *et al.* 2019). Definitionen av EMS och den tillhörande kliniska bilden förändras i takt med att forskningen utvecklar förståelsen för syndromet (Bertin & Fraser 2020).

2.1.1 Hästens glukosmetabolism

Glukosmetabolismen styrs främst av de endokrina pankreashormonerna insulin och glukagon (Sjaastad *et al.* 2016). I β -cellerna syntetiseras det anabola hormonet insulin (Sjaastad *et al.* 2016) som hämmar den endogena glukosproduktionen i levern och stimulerar glukosupplagring i muskel- och fettvävnad, vilket minskar mängden cirkulerande glukos i blodet (Zhang *et al.* 2016). Insulinsekretionen påverkas till stor del av blodglukoskoncentrationen, frisättningen ökar när den stiger och minskar när den sjunker (Sjaastad *et al.* 2016). Glukostransportör 4 (GLUT4) uttrycks i insulinkänslig vävnad och spelar en viktig roll i transporten av glukos in till cellen (Wallberg-Henriksson & Zierath 2001).

Prohormonet till insulin är proinsulin, vilket klyvs till insulin och C-peptid (Sjaastad *et al.*). C-peptid har en längre halveringstid (Yosten & Kolar 2015) än insulin (Sjaastad *et al.* 2016). Eftersom insulin och C-peptid utsöndras tillsammans och proportionerna mellan dem är ekvimolara (Wilcox 2005) kan C-peptid användas som markör för att mäta β -cellfunktion (Tóth *et al.* 2010). C-peptid tycks ha

antiinflammatoriska egenskaper hos människa, men huruvida det fyller en tydlig funktion hos häst har ännu inte utrönats (Bertin & Fraser 2020).

Inkretiner är gastrointestinala hormoner som stimulerar insulinfrisättning (Rehfeld 2018), även dessa deltar således i regleringen av insulinsekretionen (Bertin & Fraser 2020). Efter intag av icke-strukturella kolhydrater (NSC) frisätts inkretinerna gastric inhibitory peptide (GIP) och glucagon-like peptide-1 (GLP-1) från K-celler respektive L-celler i duodenum och jejunum (Bertin & Fraser 2020). Tjugotre procent av insulinsekretionen hos häst medieras av GLP-1 och cirka 2 % av GIP (Bertin & Fraser 2020). Från L-cellerna frisätts även glucagon-like peptide-2 (GLP-2), som genom att stimulera proliferation av tunntarmsvilli (Drucker *et al.* 1995) ökar absorptionen i tunntarmen (Jeppesen *et al.* 2001). En ökad glukosabsorption resulterar i en ökad insulinfrisättning. Inkretineffekten medför en större frisättning av insulin vid oralt glukosintag jämfört med vid intravenös glukosinfusion (Nauck & Meier 2018).

Det katabola hormonet glukagon syntetiseras i α -cellerna och har motsatt effekt jämfört med insulin; dess frisättning regleras även den huvudsakligen av blodglukoskoncentrationen, men ökar i stället när koncentrationen sjunker och vice versa (Sjaastad *et al.* 2016). Glukagon stimulerar glukoneogenes i levern och mobiliserar glukos från leverns glykogenlager (Sjaastad *et al.* 2016), vilket förhindrar att blodglukoskoncentrationen blir farligt låg (Yu *et al.* 2019).

Även andra hormoner deltar i glukosmetabolismen, vilken relevans de har hos just djurslaget häst är dock inte helt klarlagt ännu (Bertin & Fraser 2020). Kortisol hämmar insulinets effekt, vilket leder till minskat glukosupptag med påföljande stigande blodglukosnivåer och ökad glukoneogenes (Stewart *et al.* 2019). Från pankreas δ -celler utsöndras aminosyrapeptiden somatostatin, som hämmar utsöndring av bland annat insulin, glukagon och GIP (Luethy *et al.* 2019). Katekolaminer modulerar frisättningen av glukagon och insulin (Aslanoglou *et al.* 2021). Tyreoideahormon påverkar glukosmetabolismen på olika sätt, dels genom inverkan på utvecklingen av pankreas β -celler (Aguayo-Mazzucato *et al.* 2013), men också genom att orsaka hyperglykemi och glukoneogenes vid hypertyreos (Chidakel *et al.* 2005).

2.1.2 Insulindysreglering

Begreppet insulindysreglering (ID) inkluderar som ovan nämnts insulinresistens (IR), fastehyperinsulinemi samt överdrivet insulinsvar till följd av sockerintag (Frank & Tadros 2014). Prevalensen av ID skiljer sig åt mellan olika hästtyper och raser. Vissa ponnyer har till exempel visat sig vara mer benägna att utveckla ID än fullblod och varmbloodstravare (Bamford *et al.* 2014). Graden av fetma hos hästar

kan kvantifieras och beskrivas genom hullbedömning, vilket resulterar i ett Body Condition Score (BCS) och ett Cresty Neck Score (CNS) (Bertin & Fraser 2020). Generellt ses ökad förekomst av ID och fång med ökat BCS och CNS; regional fettansättning har en starkare koppling till ID än generell fettansättning (Bertin & Fraser 2020). Till skillnad från Pituitary Pars Intermedia Dysfunction (PPID) förknippas inte ID specifikt med hög ålder. Studier har dock visat på ett samband mellan ökande ålder och minskande insulinkänslighet (IS) (Bertin & Fraser 2020). Dräktiga ston drabbas av fysiologisk ID under sista trimestern (George *et al.* 2011).

Hos människor med insulinresistens uppstår initialt en kompensatorisk insulinsekretion från β -cellerna, så småningom sviktar dock β -cellfunktionen hos en del individer, som då utvecklar diabetes typ 2 (Muio & Newgard 2008). Hästar å andra sidan tycks besitta en starkare förmåga att bibehålla kompensatoriskt höga insulin-nivåer (Treiber *et al.* 2005). De utvecklar sällan diabetes och endast ett fåtal fall har beskrivits i litteraturen, där man sett en koppling mellan PPID och ett tillstånd som bäst motsvarar diabetes typ 2 hos människa (Johnson *et al.* 2012). Tilläggas bör dock att många av dessa fallbeskrivningar dateras till en tid innan man etablerat ordentliga definitioner av PPID, EMS och ID (Bertin & Fraser 2020).

Insulinresistens

Individer med insulinresistens (IR) har lägre biologisk respons på normala insulin-nivåer än individer med normal insulinkänslighet (Kahn 1978). Detta leder till att cellernas glukosupptag hämmas (Yaribeygi *et al.* 2018), vilket medför nedsatt glykogensyntes samt ökad frisättning av fria fettsyror till följd av att lipoproteinlipasaktiviteten i fettcellerna hämmas (Ormazabal *et al.* 2018).

Insulinreceptorer uttrycks av många celltyper men lever, fett och skelettmuskulatur utgör de vävnadstyper där insulin främst utövar sin effekt (Petersen & Shulman 2018). Insulinkänsligheten varierar i de olika vävnadstyperna. Trots utveckling av IR i lever och skelettmuskulatur brukar fettvävnad vara benägen att bibehålla sin IS (Isganaitis & Lustig 2005). Därmed kan fettsyror ackumuleras i fettcellerna, vilket så småningom genererar regionala fettdepåer eller generell fetma (Bertin & Fraser 2020).

Fetma ansågs tidigare predisponera för IR; IR kan dock uppstå även hos hästar i normalhull och alla överviktiga hästar drabbas inte av IR (Geor 2008). I studier där man inducerat fetma hos häst har man inte kunnat se några förändringar i IS (Bamford *et al.* 2016; Lindåse *et al.* 2016b). Sammantaget talar detta för att fetma i sig inte driver IR, utan snarare tvärtom - att IR resulterar i fetma.

Fetma hos häst kopplas också till förhöjda plasmanivåer av inflammationsmarkörer (Vick *et al.* 2007), vilket även hyperinsulinemi gör (Suagee *et al.* 2011b); pro-

inflammatoriska cytokiner minskar IS (Tóth *et al.* 2008). Adipokiner är ett samlingsbegrepp för hormoner som frisätts från fettvävnad; dessa har antingen proinflammatorisk eller antiinflammatorisk effekt (Ouchi *et al.* 2011).

Adiponektin är en antiinflammatorisk adipokin, vars blodkoncentration minskar med ökad fettmassa (Kearns *et al.* 2006; Ouchi *et al.* 2011). Adiponektin ökar fett-syreoxidation och IS samt skyddar endotelceller (Ouchi *et al.* 2011). Hästar med IR tenderar att ha lägre nivåer av adiponektin än friska hästar (Chameroy 2010; Ungru *et al.* 2012); det är dock inte klarlagt hur det hänger ihop. Förutsatt att IR predisponerar för fetma skulle de låga adiponektinnivåerna kunna förklaras av det faktum att adiponektin är negativt korrelerat till fettmassa. Det skulle även kunna vara tvärtom, att de låga adiponektinnivåerna sänker IS, varpå hästen utvecklar IR.

Leptin är en proinflammatorisk adipokin som bidrar till mättnadskänsla (Ouchi *et al.* 2011) och vars blodkoncentration ökar med ökad fettmassa (Kearns *et al.* 2006; Ouchi *et al.* 2011). Leptin ökar oxidativ stress i endotelceller (Singhal 2005) och har hos människa associerats med IR (Matsubara *et al.* 2000). Hyperleptinemi har setts hos en del feta hästar, där leptinets anorektiska effekt varit nedsatt (Van Weyenberg *et al.* 2013). Detta tros bero på minskad leptinkänslighet, som i sin tur ytterligare förvärrar fetman (Van Weyenberg *et al.* 2013).

Vid diabetes typ 2 hos människa har man sett otillräcklig postprandiell hämning av glukagonproduktionen till följd av minskad insulinsekretion och IR i α -cellerna (Valaiyapathi *et al.* 2020). Detta leder till ökad glukoneogenes i levern samt faste-hyperglukagonemi (Valaiyapathi *et al.* 2020) och tros förvärra perifer IR (Martínez *et al.* 2021). En ny studie visar en liknande bakomliggande α -celldysreglering hos hästar med ID (Lindåse *et al.* 2022).

Hos många hästar med IR ses ett kompensatoriskt β -cellsvar med ökad insulinfrisättning (Lindåse *et al.* 2017). Förhållandet mellan IS och β -cellrespons är omvänt proportionellt, vilket innebär att ju mindre IS blir desto större blir β -cellsvaret (Lindåse *et al.* 2017).

Hyperinsulinemi

Kompensatorisk hyperinsulinemi, antingen basal eller postprandiell, är som tidigare nämnt vanligt förekommande hos hästar med IR. Även levern spelar en stor roll i insulinmetabolismen, vilket innebär att hyperinsulinemi kan uppstå till följd av minskad hepatisk clearance av insulin; något som påvisats hos hästar med fetma och IR (Durham *et al.* 2019).

I experimentella studier har man framkallat fång hos tidigare friska hästar genom kontinuerlig intravenös infusion av insulin (Asplin *et al.* 2007; de Laat *et al.* 2010). Samtliga hästar i dessa studier har utvecklat fång inom 72 timmar efter påbörjad insulininfusion, vilket tyder på att det finns ett samband mellan hyperinsulinemi och fång (Asplin *et al.* 2007; de Laat *et al.* 2010). Den exakta mekanismen bakom detta är dock okänd, ett flertal förklarings teorier har lagts fram men ingen har kunnat bevisas (Bertin & de Laat 2017).

Vid foderintag uppstår hyperglykemi som stimulerar β -cellerna att frisätta insulin, vilket kan resultera i postprandiell hyperinsulinemi, som ytterligare kan förstärkas till följd av den insulinfrisättning inkretiner orsakar (Bertin & Fraser 2020). Insulindysreglerade hästar och friska kontroller har i studier haft likvärdiga GLP-1-nivåer basalt. Det finns en teori om stegring av GLP-1 efter OGT hos ID-hästar, resultaten är dock otvetydiga och pekar åt olika håll. Man har inte sett några skillnader i GIP-nivåer mellan de två grupperna efter OGT; däremot har ID-hästar högre basala nivåer av GLP-2 än kontroller, vilket skulle kunna tyda på en ökad biotillgänglighet av glukos hos ID-hästar. Denna ökade biotillgänglighet av glukos leder till att stimuleringen av β -cellerna förlängs, med bibehållen insulinsekretion, vilket kan orsaka fastehyperinsulinemi (Bertin & Fraser 2020).

2.2 Diagnostiska tester

Två exempel på provokationstester som används för att undersöka effekten av diabetesläkemedel är oralt glukostoleranstest (OGT) och Graded Glucose Infusion (GGI) (Ibrahim *et al.* 2018). Dessa metoder kan inte användas för att bedöma insulinkänslighet, men de är trots detta goda alternativ till metoder som har den egenskapen, till exempel Hyperglycemic Clamp (HGC) (Ibrahim *et al.* 2018). Detta då de överensstämmer bättre med verkligheten och är enklare att genomföra (Ibrahim *et al.* 2018). Oralt sockertest (OST) är ett alternativ till OGT som utvecklats för häst för att underlätta diagnostik av ID (Schuver *et al.* 2014).

I en studie av Ibrahim *et al.* (2018) lyfts GGI fram som den metod som har bäst statistisk styrka för att utvärdera läkemedel som verkar genom att minska endogen glukosproduktion. Detta är en av verkningsmekanismerna hos exenatid, som genom att inhibera glukagonsekretionen även hämmar glukosproduktionen i levern (FASS u.å.).

2.2.1 Oralt sockertest

Insulindysreglering (ID) hos häst kan diagnostiseras med olika metoder, antingen separat eller om nödvändigt i kombination med varandra (Schuver *et al.* 2014). Att

enbart mäta fasteinsulinnivåer bedöms inte vara tillräckligt sensitivt för att påvisa ID, men en välanvänd metod idag är oralt sockertest (OST) (Van Den Wollenberg *et al.* 2020). Oralt sockertest är ett provokationstest som används för att åstadkomma en kontrollerad postprandiell hyperinsulinemi, som efterliknar den som uppstår efter utfodring (Lindåse *et al.* 2016a).

Schuver *et al.* (2014) har utvecklat ett OST vars syfte är att utgöra ett dynamiskt test som går snabbt att genomföra, är billigare än befintliga tester samt kan utföras under fältmässiga förhållanden. Blodprover som analyseras för fastenivåer av glukos och insulin tas först. Majssirap (Karo light corn syrup; ACH Food Companies, Inc, Memphis, TN) administreras sedan peroralt med hjälp av en spruta. Därefter tas blodprover vid bestämda tidpunkter som analyseras med avseende på glukos- och insulinkoncentrationer. I studien jämfördes resultaten från denna OST med resultaten från ett intravenöst glukostoleranstest (IVGTT) och man fann då en god korrelation mellan de båda testerna, framför allt gällande insulin. I båda testerna såg man signifikant skillnad mellan hästar med EMS och kontrollgruppen med friska hästar.

Reproducerbarheten hos OST har undersökts genom att samma hästar genomgick testet vid två tillfällen. Den bedöms vara acceptabel då resultaten från de båda testtillfällena i hög utsträckning överensstämde med varandra (Frank & Walsh, 2017). Man har även undersökt hur insulinresponsen vid OST varierar med årstiden. Resultaten från en studie indikerar att responsen blir kraftigare under vår och vinter (Lyn Macon *et al.* 2022). En komplicerande faktor är att innehållet i majssirapen som användes av Schuver *et al.* (2014) hemlighålls av tillverkaren. Majssirapen går dessutom inte att få tag på i Skandinavien, varför Lindåse *et al.* (2016) utvecklat ett modifierat OST där Dansukker glykossirap används i stället.

2.2.2 Graded Glucose Infusion

En metod som används inom humanmedicin för att undersöka insulinresponsen till kontinuerligt ökande blodglukosnivåer är Graded Glucose Infusion (GGI) (Shankar *et al.* 2016). Metoden innebär att glukoslösning administreras intravenöst med stegvis ökad infusionshastighet, för att imitera de glykemiska nivåer som uppnås postprandiellt (Byrne *et al.* 1995). Blodprover tas med täta intervall under pågående infusion för att kartlägga dos-responssambandet mellan glukoskoncentration och insulinsekretion samt mellan glukoskoncentration och insulinsekretionshastighet (Byrne *et al.* 1995).

En viktig skillnad mellan GGI och OGT är att man vid GGI mäter β -cellresponsen oberoende av inkretinsvaret som peroral glukosadministration ger upphov till (Shankar *et al.* 2016). Graded Glucose Infusion (GGI) har jämförts med Hyper-

glycemic Clamp (HGC), vilken är den metod som anses vara gold standard för att oberoende av inkretinsvar mäta β -cellrespons till glukos. Resultaten från studien indikerar att GGI är ett adekvat alternativ till HGC. Metoden har dessutom till sin fördel att den är betydligt mindre avancerad att använda sig av, då den är mindre expertiskrävande än HGC.

Jacobson (2020) har utvecklat en GGI anpassad till häst, som en del av sitt examensarbete inom veterinärprogrammet. Denna GGI har därefter använts av Jacobson inom samma examensarbete, i syfte att undersöka dess användbarhet för att utvärdera effekten av SGLT2-hämmare på insulinsvaret hos hästar med EMS. Resultaten från studien tyder på att denna anpassade GGI är användbar för att mäta hästars β -cellfunktion. Därmed lämpar den sig även för att undersöka hur β -cellfunktionen påverkas av ett läkemedel.

2.3 Behandlingsstrategier för ekvint metabolt syndrom

2.3.1 Utfodring

Att undvika foder med högt NSC-innehåll är en viktig strategi för att hantera ID, då sådant foder kan förvärra IR och hyperinsulinemi hos hästen och ge upphov till fång (Geor & Harris 2009). Den primära energikällan bör vara grovfoder med NSC-innehåll under 10 %, som delas upp på 3–4 givor per dag. Foderanalys är nödvändig för att få en uppfattning om grovfodrets komposition. Gräsbaserat vallfoder är att föredra framför baljväxter, som generellt har högre NSC- och energiinnehåll. Det är även fördelaktigt med sent skördat hö, eftersom det har lägre NSC-innehåll och mindre smältbar energi jämfört med tidig skörd. Ensilering kan användas som konserveringsmetod för att för att erhålla ett lågt NSC-innehåll.

Spannmål och stärkelsrika foderprodukter bör uteslutas ur dieten; grönbete bör begränsas eller undvikas helt baserat på hästens tillstånd och betets NSC-innehåll, vilket varierar under året (Geor & Harris 2009). Det är rekommenderat att komplettera grovfodret med fodertillskott innehållande protein, vitaminer och mineraler för att täcka hästens näringsbehov (Geor & Harris 2009). Halm är svårsmält med högt fiberinnehåll och lågt NSC-innehåll, vilket gör det lämpligt som utfyllnad i foderstaten vid behov (Bertin & Fraser 2020).

Blötläggning av hö i vatten ger en urlakning av vattenlösliga kolhydrater (WSC) (Geor & Harris 2009) och ett minskat postprandiellt insulinsvar (Carlslake *et al.* 2018). Höet måste blötläggas i minst 3 timmar för att uppnå en betydelsefull sänkning av NSC-innehållet (Carlslake *et al.* 2018), men blötläggningstiden bör begränsas till 1–2 timmar i varmt klimat för att förebygga tillväxt av bakterier och

mögel (Bertin & Fraser 2020). Ökad vattentemperatur ger en större sänkning av WSC (Longland *et al.* 2014). Vattenlösliga näringsämnen som går förlorade vid blötläggning bör ersättas via fodertillskott (Mack *et al.* 2014).

Foderstaten bör anpassas så att hästen bibehåller sitt nuvarande hull, alternativt går ner i vikt om den är i överhull; detta eftersom viktuppgång förvärrar IR (Geor & Harris 2009). Reduktion av fettmassa krävs för att öka IS i de fall där IR kan kopplas till fetma, vilket är vanligt förekommande (Geor & Harris 2009). Det är dock viktigt att hästen inte utfodras så pass restriktivt att den hamnar i negativ energibalans, eftersom den då riskerar att drabbas av hypertriglyceridemi eller hyperlipemi till följd av överdriven lipolys (Bertin & Fraser 2020). Det är inte heller rekommenderat med långa fasteperioder eftersom det kan ge upphov till förvärrad IR (Bertin *et al.* 2016). I stället kan man uppnå förlängd ättid genom till exempel utfodring i finmaskigt hönät (Geor & Harris 2009), eller genom att hålla hästen i ett dynamiskt utfodringssystem där den måste röra på sig för att få tillgång till foder (de Laat *et al.* 2016). Att minska betestiden har visat sig ha begränsad effekt för att minska hästens totala torrsustansintag, eftersom hästar tenderar att anpassa sitt betesmönster efter den betestid som erbjuds och öka sin beteshastighet med tiden (Glunk *et al.* 2015). Betesreducerare har däremot god effekt och minskar hästens torrsustansintag avsevärt, samtidigt som dess användning kan öka såväl ättid som motion (Durham *et al.* 2019). En betesreducerare kräver dock rätt längd på gräset så att det varken blir för enkelt eller för svårt för hästen att beta (Bertin & Fraser 2020).

Det är viktigt att följa upp förändringar i foderstaten med mätning av blodinsulinnivåer och kroppsvikt samt bedömning av BCS (Geor & Harris 2009). Hästar som inte kan tillgodogöra sig tillräckligt mycket energi för att bibehålla hullet på en strikt grovfoderdiet kan utfodras med energitäta fodermedel, som till exempel vegetabilisk olja eller kraftfoder med lågt NSC.

2.3.2 Hovvård

God hovvård är av yttersta vikt hos hästar med ID med tanke på den associerade risken för utveckling av fång (Bertin & Fraser 2020). Det kan ta upp till 9 månader att återställa hovväggens mekaniska funktion efter att lamellerna separerat, längre tid om komplikationer uppstår (O'Grady 2010). Miljöåtgärder är viktiga för att ge hoven förutsättning att läka; i tidiga stadier rekommenderas total boxvila för att förhindra ytterligare stress på lamellerna till följd av rörelse, tids nog krävs dock rörelse för att återställa hovkapselns normala funktion (O'Grady 2010). En djup bädd rekommenderas (O'Grady 2010).

Terapeutisk verkning och skoning är viktiga verktyg för smärtlindring, stabilisering av hovbenet och nytillväxt i hoven (O'Grady 2010). Lamellernas återhämtning kräver stabilitet i hov och hovben för att förebygga ytterligare sänkning eller rotation (O'Grady 2010). Det finns ett flertal olika hästskor som är utformade för att avlasta och stötta fångaffekterade hovar, de har dock alla sina för- och nackdelar och bör väljas och modifieras baserat på anamnes, klinisk bild och röntgenfynd (Baker 2012). Smärtlindring är eftersträvansvärt inte bara ur ett djurvälståndsmässigt syfte, utan även för att undvika överbelastning av övriga ben och återställa den eller de berörda hovarna till normal funktion (O'Grady 2010). Utöver korrekt hovvård kan även försiktig användning av icke-steroida antiinflammatoriska läkemedel (NSAID) tillämpas i smärtlindrande syfte (Bertin & Fraser 2020).

Hovens återhämtning är som tidigare nämnt tidskrävande och kräver upprepade verkningar, initialt med cirka 4 veckors mellanrum. Därefter kan man låta det gå längre tid mellan verkningarna (Bertin & Fraser 2020). Rörelsemängden kan ökas successivt i takt med att hästens tillstånd förbättras. Hästar med ID kan börja ridas igen efter 6–12 månader med korrekt management (Bertin & Fraser 2020). För att så tidigt som möjligt upptäcka ett fånganfall är regelbunden monitorering av hästen viktig; ökad digitalpuls, hovömhet på hårt underlag samt svårigheter i vändningar på hårt underlag är sådant som djurägaren bör vara uppmärksam på (Durham *et al.* 2019).

2.3.3 Motion

Studier på människa har visat att regelbunden motion ökar IS långsiktigt (Bird & Hawley 2017) och har antiinflammatorisk effekt (Karstoft & Klarlund Pedersen 2015). Regelbunden lågintensiv träning tycks ha liknande antiinflammatorisk effekt hos häst, där man observerat att inflammationsmarkörerna serum amyloid A (SAA) och haptoglobin hos hästar som tidigare lidit av fång har sjunkit till lägre nivåer än innan, respektive samma nivåer som hos friska hästar (Menzies-Gow *et al.* 2014). Resultat från humanstudier pekar dock på att den motionsmängd som behövs för förbättrad IS kräver hög intensitet (Mann *et al.* 2013), vilket tycks stämma även för hästar där lågintensiv träning har gett kortsiktig inverkan på IS (Powell *et al.* 2002). Regelbunden lågintensiv träning skulle dock kunna resultera i bibehållen ökad IS (Powell *et al.* 2002), om inte ensamt så åtminstone i kombination med en förbättrad foderstat (Bertin & Fraser 2020).

2.3.4 Farmakologisk behandling

Läkemedel kan vara behjälpliga i hanteringen av ID och förebygga fånganfall genom att reducera graden av postprandiell hyperinsulinemi, men bör ses som ett komplement till tidigare nämnda interventioner och inte som ensam terapi (Bertin

& Fraser 2020). Det finns idag inga läkemedel registrerade med indikation för behandling av EMS hos häst, i stället används humanläkemedel.

Förr trodde man att kombinerad fetma och fång berodde på tyreoidadysfunktion och behandlade därav feta fånghästar med levotyroxin (Bertin & Fraser 2020). Med dagens kunskap om rollen av ID i EMS-komplexet är det inte lika motiverat att behandla dessa hästar med levotyroxin (Bertin & Fraser 2020), men studier har visat att läkemedlet kan främja viktminskning och öka IS; med reservation för eventuella confounders i form av dietförändringar och årstidsvariation (Frank *et al.* 2005; Frank *et al.* 2008).

Verkningsmekanismen hos metformin är inte helt klarlagd, men läkemedlet ökar IS hos människa och används inom humanmedicin för att behandla diabetes mellitus (Pernicova & Korbonits 2014). Metformin har dock låg biotillgänglighet hos häst och de doser och dosintervall som undersökts i kliniska studier har inte förbättrat IS (Hustace *et al.* 2009). Hos andra arter har man sett att metformin har direkt effekt på enterocyterna, samt att insulinsvaret efter OGT hos råttan och häst minskar till följd av minskad enterisk glukosabsorption (Durham *et al.* 2019). Det är möjligt att läkemedlet på så vis skulle kunna minska postprandiell hyperinsulinemi hos hästar med IR (Rendle *et al.* 2013). Resultaten från en ny studie indikerar dock att metformin är överksam för behandling av ID hos häst (Colmer *et al.* 2022).

Pioglitazon ökar IS hos människa, men når hos häst lägre plasmakoncentrationer än de som anses terapeutiska hos människa (Wearn *et al.* 2011) och tycks inte ha någon effekt på IS hos häst (Suagee *et al.* 2011b). Resultaten från en mer nyligen utförd studie som utvärderar pioglitazonbehandling visar dock på ett minskat insulinsvar efter OST (Legere *et al.* 2019).

Natriumglukosamtransportör 2 (SGLT2) -hämmare verkar i proximala njurtubuli och förbättrar blodglukoskoncentrationen genom att främja utsöndring av glukos i urinen (Hara *et al.* 2022). Substansen velagliflozin som tillhör SGLT2-hämmarna har visat sig ha effekt på ID hos häst, men ytterligare studier behövs för att utvärdera effekt och säkerhet vid behandling med läkemedlet (Meier *et al.* 2018; Meier *et al.* 2019). En fallrapport från 2022, som berör 10 hästar som behandlats med SGLT2-hämmaren kanagliflozin, indikerar även den god effekt för behandling av ID hos häst samt smärtlindring vid pågående fånganfall (Kellon & Gustafson 2022).

Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) -analogen exenatid används för att behandla diabetes typ 2 hos människa (Knop *et al.* 2017). Läkemedlets dokumenterade effekter inkluderar fördröjd magsäckstömning, förstärkt insulinsvar vid hyperglykemi, minskad aptit med sekundärt minskat födointag och viktnedgång, samt

dämpad glukagonfrisättning vid hyper- eller euglykemi (Htike *et al.* 2016; Nauck *et al.* 2020). En pilotstudie publicerad i juli 2022 undersöker effekten av exenatid på insulinsvaret till OST hos häst (Stefanovski *et al.* 2022). Hästarna i studien hade antingen mild ID eller ingen ID (Stefanovski *et al.* 2022). I studien sågs ett minskat postprandiellt insulinsvar efter administration av exenatid, jämfört med vid behandling med placebo (Stefanovski *et al.* 2022). Hos ID-hästarna normaliserades insulinnivåerna efter behandling med exenatid (Stefanovski *et al.* 2022). Resultatet tolkades som en generell ökning av IS hos hästarna till följd av exenatidbehandling (Stefanovski *et al.* 2022).

3. Material och metoder

Studien är godkänd i etisk prövning via kliniska vetenskapers generella försökstillstånd (diarienummer 5.8.18-15533/2018).

3.1 Hästar

I studien ingick fyra hästar (tabell 1). Två av hästarna ägs av institutionen för kliniska vetenskaper vid Sveriges lantbruksuniversitet och två av hästarna var privatägda. Tre av hästarna har tidigare konstaterats vara insulindysreglerade baserat på ett oralt sockertest (Lindåse *et al.* 2016) och en häst har bedömts vara frisk med normal insulinreglering. De båda privatägda hästarna har tidigare diagnosticerats med fång men vid tidpunkten för försöket hade ingen av hästarna kliniska symptom på fång. Försöket utfördes med hästarna uppstallade på box. Hästarna som ägdes av institutionen för kliniska vetenskaper undersöktes i sin hemmamiljö medan de privatägda hästarna undersöktes efter en dags acklimatisering vid Universitetsdjursjukhuset. Hästarna fastades över natten med fri tillgång till vatten.

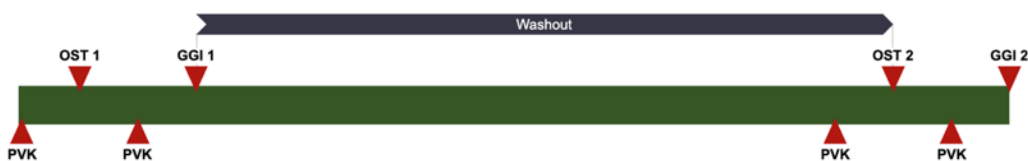
Tabell 1. Förteckning över hästar som ingick i studien

Häst	Ras	Ålder (år)	Kön	Vikt (kg, OST 1)	ID	BCS (1-9)	CNS (0-5)
A	Varmblodig travare	25	Sto	519	Ja	6,5	2
B	Varmblodig travare	9	Sto	606	Nej	7	2,5
C	Shetlandsponny	16	Sto	221	Ja	6	3
D	Islandshäst	13	Valack	380	Ja	6,5	3,5

3.2 Studiedesign

Studien är randomiserad och dubbelblindad med överkorsning mellan interventionsgrupp och kontrollgrupp. Varje häst undersöktes under två behandlingsperioder och behandlades med aktiv substans (BYETTA, AstraZeneca) eller placebo (NaCl, 0,9 % lösning) med 11 dagars washout mellan perioderna. De hästar som mottog aktiv substans under period 1 erhöll placebo under period 2, och vice versa. I försöket ingick två olika provokationstester (OST och GGI), som utfördes under båda behandlingsperioderna. Dag 2 och dag 16 utfördes OST, dag 4 och dag 18 utfördes GGI (figur 1). Inför samtliga provokationstester administrerades antingen aktiv substans eller placebo subkutant på hästens bringa. Den aktiva substansen administrerades med en förfylld injektionspenna som levererade en total dos om 10 µg exenatid. Denna givna dos resulterade i att doseringen per kilogram kroppsvikt kom att skilja sig åt mellan hästar med olika kroppsvikt.

Dag 1 och dag 15 anlades en venkateter (Intranule 2,0 × 105 mm, Vygon, Ecouen, Frankrike) aseptiskt i ena jugularvenen. Området över jugularen förbereddes dessförinnan genom rakning, kutan lokalanestesi (EMLA®, Aspen Nordic), steriltvätt samt subkutan lokalanestesi (Carbocain®, Aspen Nordic) vid insticksstället. Dag 3 och dag 17 anlades en venkateter i den andra jugularvenen enligt samma metod. Venkatetern i den ena jugularvenen användes för provtagning. Venkatetern i den andra jugularvenen användes till glukosinfusion vid GGI. Då häst A utvecklat en begränsad tromboflebit i vänster jugular under period 1 anlades i stället en venkateter (Mila 2,1 × 130 mm, Mila International, Inc., Kentucky, USA) för provtagning i höger jugular dag 15, samt en venkateter (Mila 1,6 mm, × 75 mm, Mila International, Inc., Kentucky, USA) för glukosinfusion i vänster jugularven dag 18. Venkatetrarna avlägsnades dag 4 och dag 18 efter avslutad försöksperiod.



Figur 1. Tidslinje som illustrerar upplägget för en försöksomgång

3.2.1 Oralt sockertest

Aktiv substans eller placebo administrerades subkutant på hästens bringa. Tjugofem minuter därefter togs ett första blodprov. Trettio minuter efter administrering

av aktiv substans eller placebo administrerades glukossirap (Dansukker) peroralt med spruta i dosen 0,2 ml/kg (Lindåse *et al.* 2016). Blodprover (5 ml) togs från venkatetern 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180 samt 210 minuter efter administrering av glukossirap. Varje provtagning föregicks av att cirka 5 ml blod aspirerades via venkatetern för att erhålla ett representativt blodprov. Provtagningen efterföljdes av spolning av venkatetern med 10 ml 0,9 % steril NaCl. Totalt togs 8 prover från varje häst vid respektive OST.

3.2.2 Graded Glucose Infusion

Ett första prov togs 5 minuter före administrering av aktiv substans alternativt placebo. Därefter administrerades aktiv substans eller placebo subkutant på hästens bringa. Tjugofem minuter efter detta togs ett andra blodprov. Hästarna anslöts därefter till aggregat för intravenös infusion med 20 % glukoslösning (Glucos Fresenius Kabi, 200 mg/ml) via infusionspump (Infusomat® Space – B. Braun Sweden). Infusionspumpen startades på 200 ml/h under 31 sekunder för att fylla den ena venkatetern och förlängningen (Discofix® 25 cm, B. Braun®) med glukoslösning. Trettio minuter efter administrering av aktiv substans eller placebo påbörjades GGI, som pågick under 4 timmar. Infusionshastigheten ökades var 40:e minut för att skapa en trappa med stegvis ökande glykemi (glukosinfusionshastigheter 0,4 mg/kg/min, 0,8 mg/kg/min, 1,2 mg/kg/min, 1,6 mg/kg/min, 2,4 mg/kg/min och slutligen 3,2 mg/kg/min). Efter påbörjad glukosinfusion togs blodprov (5 ml) var 10:e minut från den andra venkatetern. Varje provtagning föregicks av att cirka 5 ml blod aspirerades via venkatetern för att erhålla ett representativt blodprov. Provtagningen efterföljdes av spolning av venkatetern med 10 ml 0,9 % steril NaCl. Totalt togs 26 prover från varje häst vid respektive GGI.

3.3 Hantering och analys av blodprover

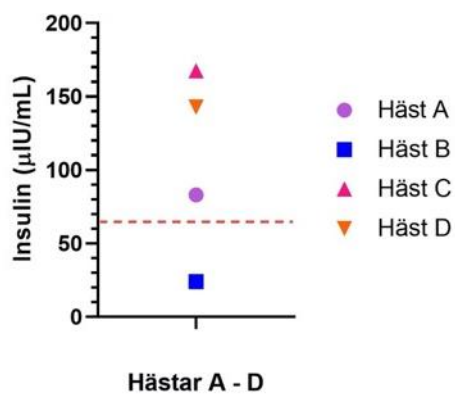
Blodproverna överfördes till litium-heparinrör (BD Vacutainer®) direkt efter provtagning och centrifugerades i 10 minuter (3000 rpm). Supranatanten överfördes därefter till eppendorfrör, som frystes och förvarades i -80 °C fram till dess att analys av plasmainsulin genomfördes. Direkt efter provtagning analyserades proverna med avseende på glukos i helblod med hjälp av glukometer (Accu-Chek® Aviva). Insulin i plasma analyserades med en ELISA-metod utvecklad för analys av hästinsulin (Mercodia Equine Insulin ELISA, Mercodia, Uppsala, Sverige).

3.4 Beräkningar

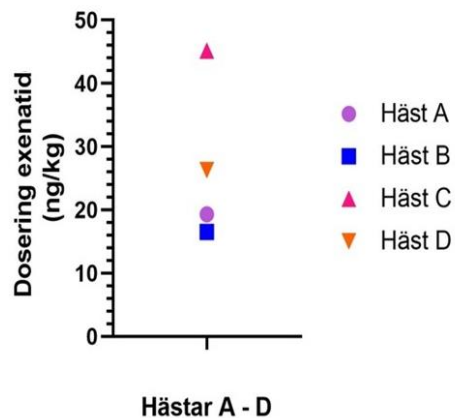
Area under kurvan (*area under curve*; AUC) har beräknats med trapezoidmetoden.

4. Resultat

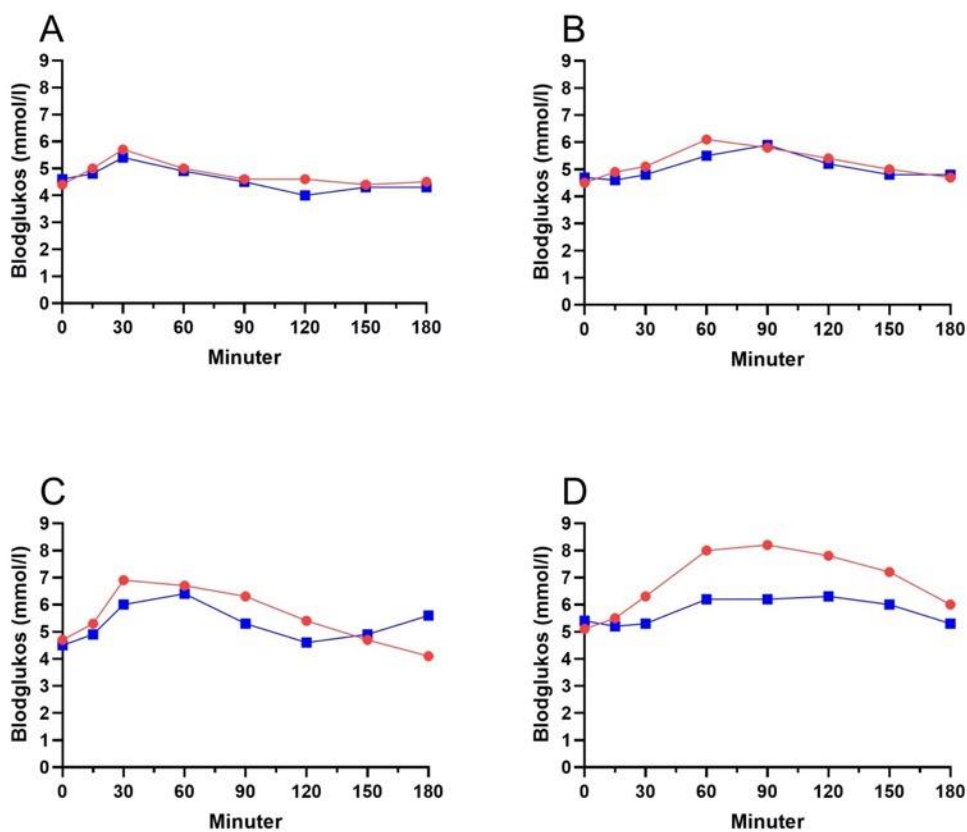
Hästarnas maximala insulinkoncentration under OST (peak insulin) redovisas i figur 2. Den exakta doseringen av exenatid för hästarna redovisas i figur 3.



Figur 2. Hästarnas insulinkänslighet baserat på peak insulinkoncentration under OST.

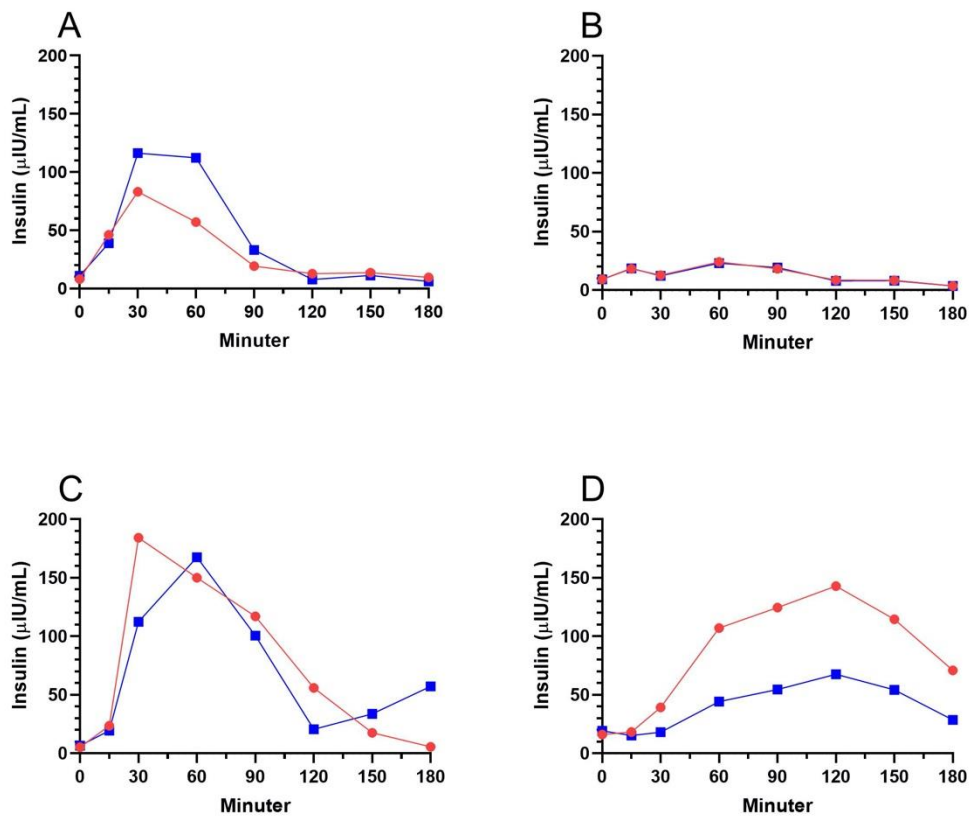


Figur 3. Dosvariation mellan de olika hästarna i studien.



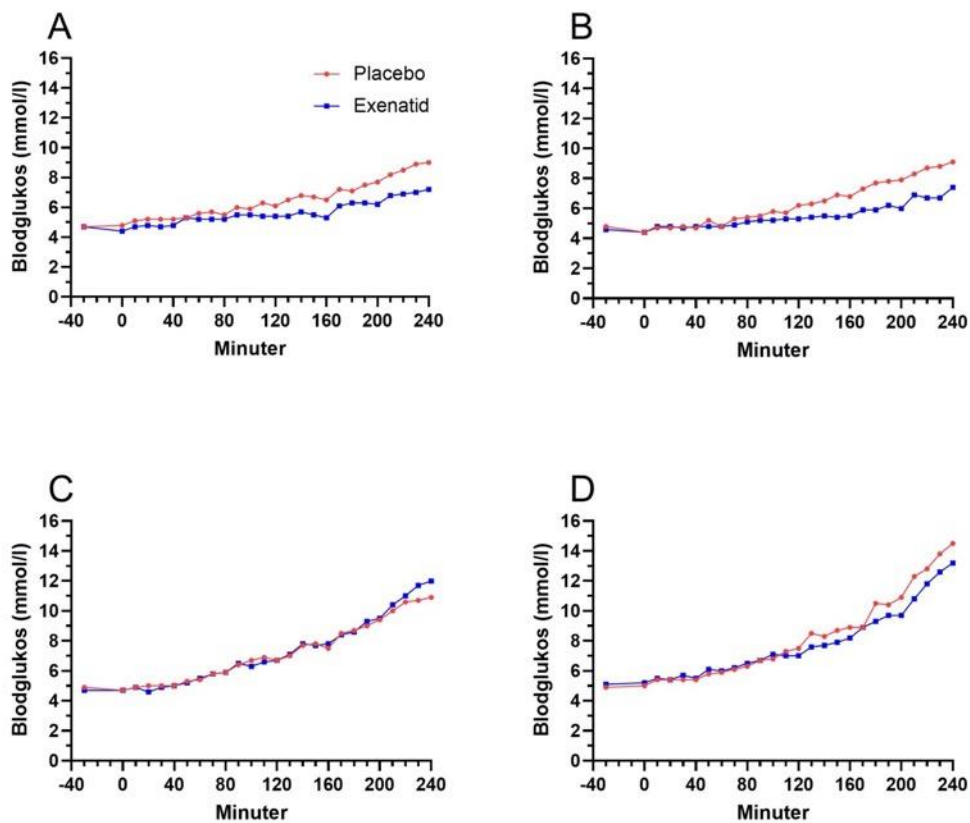
Figur 4 A-D. Glukoskoncentration i helblod angivet i mmol/l över 180 minuter under OST hos häst A-D. Den blå grafen illustrerar blodglukoskoncentration efter administration av exenatid. Den röda grafen illustrerar blodglukoskoncentration efter administration av placebo.

Efter administration av exenatid uppmättes lägre blodglukoskoncentrationer under OST hos samtliga hästar, jämfört med efter administration av placebo (Fig. 4).



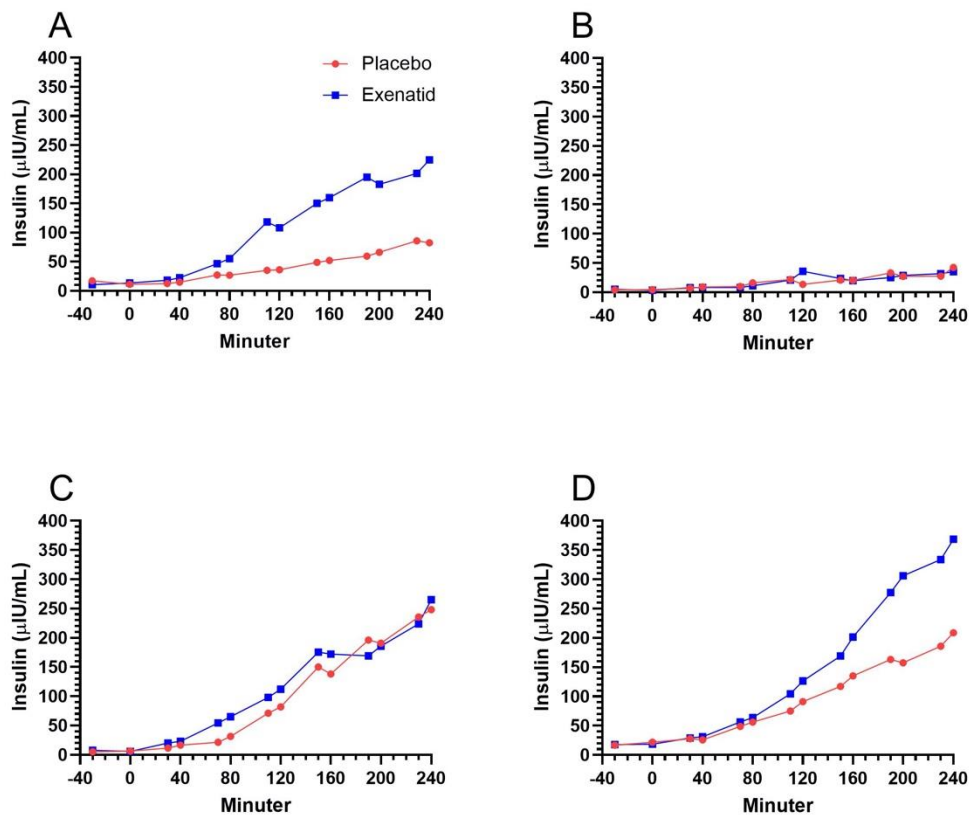
Figur 5 A-D. Insulinkoncentration i plasma angivet i µIU/ml över 180 minuter under OST hos häst A-D. Den blå grafen illustrerar plasmainsulinkoncentration efter administration av exenatid. Den röda grafen illustrerar plasmainsulinkoncentration efter administration av placebo.

Hos häst A uppmättes högre plasmainsulinkoncentrationer under OST efter administration av exenatid, jämfört med efter administration av placebo (Fig. 5). Hos häst B och C uppmättes likvärdiga plasmainsulinkoncentrationer under OST efter administration av exenatid och placebo. Hos häst D uppmättes lägre plasmainsulinkoncentrationer under OST efter administration av exenatid, jämfört med efter administration av placebo.



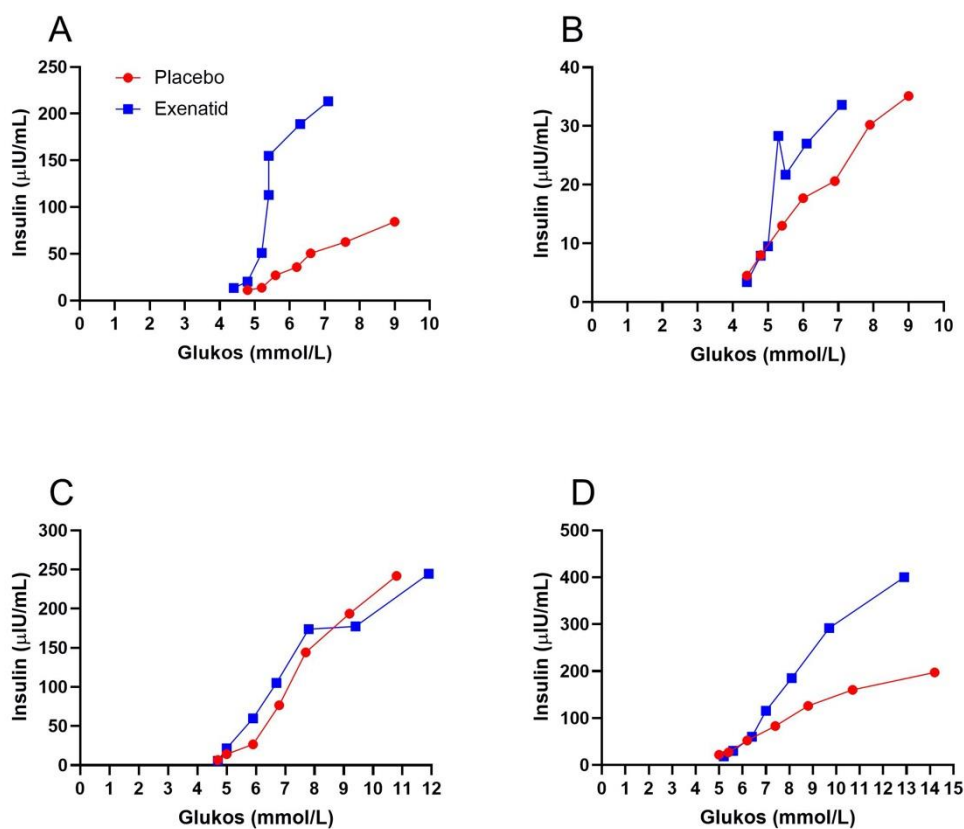
Figur 6 A-D. Glukoskoncentration i helblod angivet i mmol/l över 240 minuter under GGI med stegvis ökande glukosinfusionshastighet hos häst A-D. Den blå grafen illustrerar blodglukoskoncentration efter administration av exenatid. Den röda grafen illustrerar blodglukoskoncentration efter administration av placebo.

Efter administration av exenatid uppmättes lägre blodglukoskoncentrationer under GGI hos häst A, B och D, jämfört med efter administration av placebo (Fig. 6). Hos häst C uppmättes likvärdiga blodglukoskoncentrationer under GGI efter administration av exenatid och placebo.



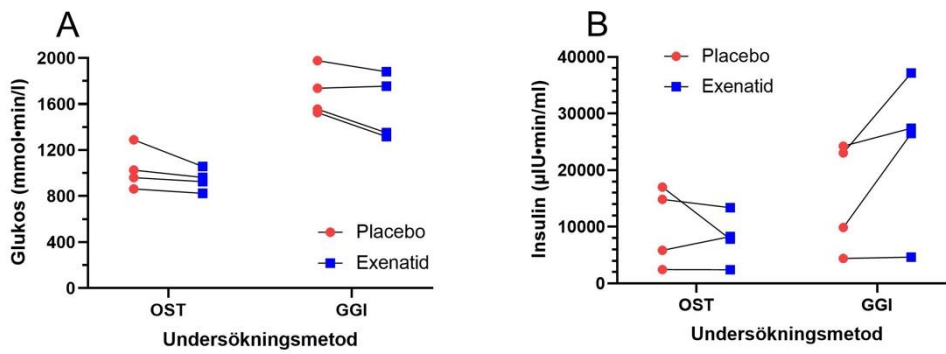
Figur 7 A-D. Insulinkoncentration i plasma angivet i $\mu\text{IU}/\text{ml}$ över 240 minuter under GGI med stegvis ökande glukosinfusionshastighet hos häst A-D. Den blå grafen illustrerar plasmainsulinkoncentration efter administration av exenatid. Den röda grafen illustrerar plasmainsulinkoncentration efter administration av placebo.

Hos häst A och D uppmättes högre plasmainsulinkoncentrationer under GGI efter administration av exenatid, jämfört med efter administration av placebo (Fig. 7). Hos häst B uppmättes i princip likvärdiga plasmainsulinkoncentrationer under GGI efter administration av exenatid och placebo. Hos häst C uppmättes något högre plasmainsulinkoncentrationer under GGI efter administration av exenatid, jämfört med efter administration av placebo.



Figur 8 A-B. Dos-responssamband mellan blodglukoskoncentration och plasmainsulinkoncentration hos häst A-D under GGI. Den blå grafen illustrerar dos-responssambandet efter administration av exenatid. Den röda grafen illustrerar dos-responssambandet efter administration av placebo.

Efter administration av exenatid frisattes mer insulin för varje stegring i blodglukoskoncentration under GGI hos samtliga hästar, jämfört med efter administration av placebo (Fig. 8).



Figur 9 A-B. Area under kurvan (AUC) för blodglukoskoncentration respektive plasmainsulinkoncentration för samtliga hästar under OST samt GGI. Den blå kvadraten representerar koncentration efter administration av exenatid. Den röda cirkeln representerar koncentration efter administration med placebo.

Area under kurvan (AUC) illustrerar en sammanfattad bild av det som visas i figur 4-7 (Fig. 9).

5. Diskussion

Fång är ett vanligt och mycket smärtsamt tillstånd, som orsakar stort lidande för hästar världen över (Collins *et al.* 2010). Genom effektiv hantering av EMS kan man förebygga fång hos de drabbade hästarna (Morgan *et al.* 2015). Farmakologisk behandling kan utgöra ett komplement när anpassad utfodring, hovvård och motion inte är tillräckliga åtgärder. I dagsläget finns inga läkemedel registrerade med indikation för behandling av EMS hos häst, därför finns ett behov av forskning inom detta område.

Syftet med den aktuella studien var att utreda om GLP-1-analogen exenatid har potential som framtida behandling av EMS hos häst. Detta bland annat genom att undersöka dess effekt på det postprandiella insulinsvaret efter OST, vilket man även gjorde i en studie med snarlikt syfte som publicerades tidigare i år (Stefanovski *et al.* 2022). Studiedesignen baserades till viss del på den tidigare studien för att underlätta jämförelser mellan studieresultaten. I denna studie har dock två olika provokationstester använts. Genom att komplettera med GGI möjliggörs utvärdering av läkemedlets effekt oberoende av inkretinsvaret, vilket ger ett mått på β -cellresponsen. En annan skillnad är att man i den andra studien endast inkluderade friska eller mycket lindrigt insulindysreglerade hästar (Stefanovski *et al.* 2022), medan denna studie har undersökt effekten även hos sjukare hästar.

I den tidigare studien såg man hos samtliga hästar ett minskat postprandiellt insulinsvar efter administration av exenatid, jämfört med placebo (Stefanovski *et al.* 2022). Med detta som bakgrund utformades hypotesen att behandling med exenatid resulterar i minskade postprandiella glukos- och insulinnivåer samt minskad β -cellrespons. I denna studie varierade dock resultaten mellan de olika hästarna; endast en av hästarna demonstrerade minskad postprandiell insulinrespons efter administration av exenatid. Två av hästarna hade likvärdiga plasmainsulinkoncentrationer under OST efter administration av exenatid och placebo. Hos en av hästarna sågs ett ökat insulinsvar under OST efter administration av exenatid, vilket stämmer överens med hur läkemedlet beter sig hos människa och kanske snarare är vad man hade förväntat sig med tanke på läkemedlets beskrivna verkningsmekanismer.

Läkemedlets dokumenterade effekter inkluderar fördröjd magsäckstömning, förstärkt insulinsvar vid hyperglykemi, minskad aptit med sekundärt minskat födo-intag och viktnedgång, samt dämpad glukagonfrisättning vid hyper- eller euglykemi (Htike *et al.* 2016; Nauck *et al.* 2020). Alla dessa effekter har inte undersökts i den aktuella studien, men resultaten tyder på att även hästar kan erhålla förstärkt insulinrespons vid hyperglykemi efter behandling med en engångsdos exenatid.

Hos insulinresistenta människor är förstärkt insulinsvar en önskvärd behandlingseffekt, eftersom människor ofta drabbas av sviktande β -cellfunktion (Muio & Newgard 2008). Hos häst däremot innebär en potentiering av β -cellfunktionen att exenatid tvärtom blir kontraindicerat för behandling av IR, eftersom hästar besitter en stark förmåga att bibehålla kompensatoriskt höga insulinnivåer (Treiber *et al.* 2005). Det är de höga insulinnivåerna som blir problematiska då de resulterar i att hästen utvecklar fång (Asplin *et al.* 2007; de Laat *et al.* 2010), vilket innebär att behandling med exenatid riskerar att förvärra hästens tillstånd, baserat på de resultat som presenteras här.

Lägre blodglukoskoncentrationer sågs under såväl OST som GGI efter administration av exenatid, jämfört med efter administration av placebo. Detta kan ha flera olika förklaringar. Ökad insulinfrisättning kan vara en orsak, eller ökad IS. Det är även möjligt att en del av hästarna har α -celldysreglering, vilket innebär ökade glukagonkoncentrationer med tillhörande glukoneogenes. Glukagonfrisättningen hämmas av GLP-1 och eftersom exenatid är en GLP-1-analog kan det förklara varför administration av läkemedlet resulterat i lägre blodglukoskoncentrationer.

Efter administration av exenatid frisattes mer insulin för varje stegring i blodglukoskoncentration under GGI hos samtliga hästar, jämfört med efter administration av placebo. Detta kan förklaras av att läkemedlet i egenskap av GLP-1-analog genererar en inkretineffekt, vilken annars uteblir vid GGI eftersom glukos tillsätts direkt i blodet i stället för via gastrointestinalkanalen. Vid OST sågs ingen tydlig inkretineffekt av läkemedlet. Detta kan bero på att OST är en mer instabil metod med större variation än GGI, eller att inkretineffekten redan maximeras av den perorala glukosadministrationen.

En begränsande faktor i studien är det faktum att läkemedlet doseras med en injektionspenna som är utformad för människa. Injektionspennan levererar en bestämd dos, vilket innebär att det blir stora doskillnader mellan hästar med olika kroppsvikter. I den aktuella studien mottog den minsta hästen en nästan tre gånger så hög dos som den största hästen till följd av detta (se Figur 3.), vilket försvårar jämförelse av resultat mellan de olika hästarna. Man kan även tänka sig att en dos anpassad för människa blir väldigt låg för en häst i och med den större massan. Dessutom är volymen läkemedel som levereras av injektionspennan mycket liten, vilket innebär

att större precision krävs vid injektionen för att läkemedlet ska administreras korrekt. Hästarnas varierande IS är ytterligare en faktor som spelar in. Trots dessa omständigheter sågs dock effekt av läkemedlet hos samtliga hästar, men av varierande magnitud, vilket är väntat med hänsyn till individvariation.

I en överkorsningsstudie är varje häst sin egen kontroll, vilket har både för- och nackdelar. En nackdel är att det finns en risk att de hästar som mottagit aktiv substans i första försöksperioden inte hunnit metabolisera läkemedlet inför andra försöksperioden. Troligen är det inget större bekymmer med det aktuella läkemedlet då det är korttidsverkande och ges två gånger per dag till människa, men det finns ingen elimineringsstudie utförd på häst.

Hästar är flyktdjur och beter sig inte alltid som planerat, vilket kan vara ytterligare en försvårande faktor. Målet var att anlägga venkatetrar dagarna innan försöken för att undvika eventuell stress som påverkar resultaten. I vissa fall var detta inte möjligt, vilket innebar att venkatetrarna fick anläggas samma dag som försöken i stället. Då hästarna var lugna under detta moment är bedömningen dock att det haft liten eller ingen inverkan på slutresultatet. Vid tidpunkten för andra försöksperioden gick häst C inte att lasta, vilket innebar att OST 2 och GGI 2 fick genomföras i hästens hemmiljö i stället. Det är möjligt att detta haft inverkan på resultaten då de flesta hästar är mindre stressade i sin hemmiljö. Även häst A och B provtogs i sin hemmiljö, till skillnad från övriga hästar som stallades upp på klinik.

5.1 Förslag på vidare studier

Då väldigt begränsad forskning genomförts inom området, dessutom med motsägelsefulla resultat, behövs vidare studier med en större studiepopulation för att undersöka exenatids verkningsmekanismer hos häst. Hos människa ses som tidigare nämnt minskad glukagonfrisättning vid hyper- eller euglykemi vid samtidig behandling med GLP-1 analog (Htike *et al.* 2016; Nauck *et al.* 2020), vilket kan motivera analys av glukagon i framtida studier på häst. Fördröjd magsäckstömning är en annan verkningsmekanism som dokumenterats hos människa och som skulle kunna vara positiv för insulindysreglerade hästar, om det kan resultera i ett minskat insulinsvar till följd av ett långsammare glukosupptag (Stefanovski *et al.* 2022). Det hade även varit intressant att undersöka den dosberoende effekten genom upprepade försök med olika doser. Tidpunkt för administration i förhållande till provokationstest är en annan faktor som skulle kunna varieras i eventuella vidare studier.

5.2 Konklusion

Sammanfattningsvis sågs varierande resultat mellan de olika hästarna. En häst visade ett tydligt ökat postprandiellt insulinsvar samt en ökad β -cellrespons efter behandling med exenatid, vilket talar för att läkemedlet kan vara kontraindicerat för behandling av EMS hos häst. Eftersom det aktuella läkemedlet är relativt ostuderat i detta avseende behövs fler studier för att utvärdera vilken effekt det har hos häst.

Referenser

- Aguayo-Mazzucato, C., Zavacki, A.M., Marinelarena, A., Hollister-Lock, J., El Khattabi, I., Marsili, A., Weir, G.C., Sharma, A., Larsen, P.R. & Bonner-Weir, S. (2013). Thyroid hormone promotes postnatal rat pancreatic β -cell development and glucose-responsive insulin secretion through MAFA. *Diabetes*, 62 (5), 1569–1580. <https://doi.org/10.2337/db12-0849>
- Aslanoglou, D., Bertera, S., Sánchez-Soto, M., Benjamin Free, R., Lee, J., Zong, W., Xue, X., Shrestha, S., Brissova, M., Logan, R.W., Wollheim, C.B., Trucco, M., Yechoor, V.K., Sibley, D.R., Bottino, R. & Freyberg, Z. (2021). Dopamine regulates pancreatic glucagon and insulin secretion via adrenergic and dopaminergic receptors. *Translational Psychiatry*, 11, 59. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01171-z>
- Asplin, K.E., Sillence, M.N., Pollitt, C.C. & McGowan, C.M. (2007). Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 174 (3), 530–535. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.003>
- Baker, W.R. (2012). Treating laminitis: beyond the mechanics of trimming and shoeing. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 28 (2), 441–455. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2012.05.004>
- Bamford, N.J., Potter, S.J., Harris, P.A. & Bailey, S.R. (2014). Breed differences in insulin sensitivity and insulinemic responses to oral glucose in horses and ponies of moderate body condition score. *Domestic Animal Endocrinology*, 47, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2013.11.001>
- Bamford, N.J., Potter, S.J., Harris, P.A. & Bailey, S.R. (2016). Effect of increased adiposity on insulin sensitivity and adipokine concentrations in horses and ponies fed a high fat diet, with or without a once daily high glycaemic meal. *Equine Veterinary Journal*, 48 (3), 368–373. <https://doi.org/10.1111/evj.12434>
- Bertin, F.-R. & Fraser, N.S. (2020). Diseases of the endocrine pancreas and equine metabolic syndrome. *Equine Endocrinology*, 60–90. <https://doi.org/10.1079/9781789241099.0060>
- Bertin, F.R. & de Laat, M.A. (2017). The diagnosis of equine insulin dysregulation. *Equine Veterinary Journal*, 49 (5), 570–576. <https://doi.org/10.1111/evj.12703>
- Bertin, F.R., Taylor, S.D., Bianco, A.W. & Sojka-Kritchevsky, J.E. (2016). The effect of fasting duration on baseline blood glucose concentration, blood insulin concentration, glucose/insulin ratio, oral sugar test, and insulin response test results in horses.

- Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30 (5), 1726–1731.
<https://doi.org/10.1111/jvim.14529>
- Bird, S.R. & Hawley, J.A. (2016). Update on the effects of physical activity on insulin sensitivity in humans. *BMJ Open Sport & Exercise Medicine*, 2 (1), e000143.
<https://doi.org/10.1136/bmjsem-2016-000143>
- Byrne, M.M., Sturis, J. & Polonsky, K.S. (1995). Insulin secretion and clearance during low-dose graded glucose infusion. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 268 (1), E21–E27. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1995.268.1.E21>
- Carslake, H.B., Argo, C.M., Pinchbeck, G.L., Dugdale, A.H.A. & McGowan, C.M. (2018). Insulinaemic and glycaemic responses to three forages in ponies. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 235, 83–89.
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.03.008>
- Chameroy, K. (2010). Diagnosis and management of horses with equine metabolic syndrome (EMS). *Doctoral Dissertations*,.
https://trace.tennessee.edu/utk_graddiss/871
- Chidakel, A., Mentuccia, D. & Celi, F.S. (2005). Peripheral metabolism of thyroid hormone and glucose homeostasis. *Thyroid: Official Journal of the American Thyroid Association*, 15 (8), 899–903. <https://doi.org/10.1089/thy.2005.15.899>
- Collins, S.N., Pollitt, C., Wylie, C.E. & Matiasek, K. (2010). Laminitic pain: Parallels with pain states in humans and other species. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 26 (3), 643–671. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.08.001>
- Colmer, S., Adams, A., Adam, E., Miller, R., Stefanovski, D., Kulp, J. & Van Eps, A. (2022). The effect of metformin on the insulin response to oral sugar in insulin-dysregulated horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 36 (6), 2392–2393.
<https://doi.org/10.1111/jvim.16541>
- Drucker, D.J., Erlich, P., Asa, S.L. & Brubaker, P.L. (1996). Induction of intestinal epithelial proliferation by glucagon-like peptide 2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93 (15), 7911–7916
- 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>
- FASS (u.å.). *BYETTA (exenatid)*. Läkemedelsindustriföreningen: FASS Vårdpersonal.
<https://www.fass.se/LIF/product?npId=20051106000061&userType=0#pharmacodynamic> [2022-09-13]
- Frank, N., Elliott, S.B. & Boston, R.C. (2008). Effects of long-term oral administration of levothyroxine sodium on glucose dynamics in healthy adult horses. *American Journal of Veterinary Research*, 69 (1), 76–81. <https://doi.org/10.2460/ajvr.69.1.76>
- 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 of Veterinary Research*, 66 (6), 1032–1038. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.1032>
- Frank, N. & Tadros, E.M. (2014). Insulin dysregulation. *Equine Veterinary Journal*, 46 (1), 103–112. <https://doi.org/10.1111/evj.12169>
- Frank, N. & Walsh, D. m. (2017). Repeatability of oral sugar test results, glucagon-like peptide-1 measurements, and serum high-molecular-weight adiponectin concentrations in horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31 (4), 1178–1187. <https://doi.org/10.1111/jvim.14725>
- Geor, R.J. (2008). Metabolic predispositions to laminitis in horses and ponies: obesity, insulin resistance and metabolic syndromes. *Journal of Equine Veterinary Science*, 28 (12), 753–759. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2008.10.016>
- Geor, R.J. & Harris, P. (2009). Dietary management of obesity and insulin resistance: countering risk for laminitis. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 25 (1), 51–65, vi. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2009.02.001>
- George, L.A., Staniar, W.B., Cubitt, T.A., Treiber, K.H., Harris, P.A. & Geor, R.J. (2011). Evaluation of the effects of pregnancy on insulin sensitivity, insulin secretion, and glucose dynamics in Thoroughbred mares. *American Journal of Veterinary Research*, 72 (5), 666–674. <https://doi.org/10.2460/ajvr.72.5.666>
- Glunk, E.C., Hathaway, M.R., Grev, A.M., Lamprecht, E.D., Maher, M.C. & Martinson, K.L. (2015). The effect of a limit-fed diet and slow-feed hay nets on morphometric measurements and postprandial metabolite and hormone patterns in adult horses. *Journal of Animal Science*, 93 (8), 4144–4152. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9150>
- Hara, K., Sakai, Y., Tajiri, Y. & Nomura, M. (2022). Beneficial effects of SGLT2 inhibitor on metabolic inflexibility and visceral fat amount in animal model of obese type 2 diabetes. *Heliyon*, 8 (10), e11012. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11012>
- Htike, Z.Z., Zaccardi, F., Papamargaritis, D., Webb, D.R., Khunti, K. & Davies, M.J. (2017). Efficacy and safety of glucagon-like peptide-1 receptor agonists in type 2 diabetes: A systematic review and mixed-treatment comparison analysis. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 19 (4), 524–536. <https://doi.org/10.1111/dom.12849>
- Hustace, J.L., Firshman, A.M. & Mata, J.E. (2009). Pharmacokinetics and bioavailability of metformin in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 70 (5), 665–668. <https://doi.org/10.2460/ajvr.70.5.665>
- Ibrahim, M.M.A., Ghadzi, S.M.S., Kjellsson, M.C. & Karlsson, M.O. (2018). Study design selection in early clinical anti-hyperglycemic drug development: a simulation study of glucose tolerance tests. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*, 7 (7), 432–441. <https://doi.org/10.1002/psp4.12302>
- Isganaitis, E. & Lustig, R.H. (2005). Fast food, central nervous system insulin resistance, and obesity. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 25 (12), 2451–2462. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000186208.06964.91>
- Jacobson, H. (2020). *Utformning av ett nytt diagnostiskt test för att utvärdera behandlingseffekten av SGLT2-hämmare hos hästar med ekvint metaboliskt syndrom.*

- (Självständigt arbete). Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet. <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-s-15880> [2022-09-13]
- Jeppesen, P.B., Hartmann, B., Thulesen, J., Graff, J., Lohmann, J., Hansen, B.S., Tofteng, F., Poulsen, S.S., Madsen, J.L., Holst, J.J. & Mortensen, P.B. (2001). Glucagon-like peptide 2 improves nutrient absorption and nutritional status in short-bowel patients with no colon. *Gastroenterology*, 120 (4), 806–815. <https://doi.org/10.1053/gast.2001.22555>
- Johnson, P.J. (2002). The equine metabolic syndrome peripheral Cushing's syndrome. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 18 (2), 271–293. [https://doi.org/10.1016/s0749-0739\(02\)00006-8](https://doi.org/10.1016/s0749-0739(02)00006-8)
- Johnson, P.J., Wiedmeyer, C.E., LaCarrubba, A., Ganjam, V.K. & Messer, N.T. (2012). Diabetes, insulin resistance, and metabolic syndrome in horses. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 6 (3), 534–540. <https://doi.org/10.1177/193229681200600307>
- Kahn, C.R. (1978). Insulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness: a necessary distinction. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 27 (12 Suppl 2), 1893–1902. [https://doi.org/10.1016/s0026-0495\(78\)80007-9](https://doi.org/10.1016/s0026-0495(78)80007-9)
- Karstoft, K. & Pedersen, B. (2016). Exercise and type 2 diabetes: focus on metabolism and inflammation. *Immunology and Cell Biology*, 94 (2). <https://doi.org/10.1038/icb.2015.101>
- Kearns, C.F., McKeever, K.H., Roegner, V., Brady, S.M. & Malinowski, K. (2006). Adiponectin and leptin are related to fat mass in horses. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 172 (3), 460–465. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.05.002>
- 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>
- Knop, F.K., Brønden, A. & Vilsbøll, T. (2017). Exenatide: pharmacokinetics, clinical use, and future directions. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 18 (6), 555–571. <https://doi.org/10.1080/14656566.2017.1282463>
- de Laat, M.A., Hampson, B.A., Sillence, M.N. & Pollitt, C.C. (2016). Sustained, low-intensity exercise achieved by a dynamic feeding system decreases body fat in ponies. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30 (5), 1732–1738. <https://doi.org/10.1111/jvim.14577>
- 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>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.102797>

- Lindåse, S., Nostell, K. & Bröjer, J. (2016a). 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>
- Lindåse, S.S., Nostell, K.E., Müller, C.E., Jensen-Waern, M. & Bröjer, J.T. (2016b). Effects of diet-induced weight gain and turnout to pasture on insulin sensitivity in moderately insulin resistant horses. *American Journal of Veterinary Research*, 77 (3), 300–309. <https://doi.org/10.2460/ajvr.77.3.300>
- Lindåse, S., Nostell, K., Söder, J. & Bröjer, J. (2017). Relationship between β -cell response and insulin sensitivity in horses based on the oral sugar test and the euglycemic hyperinsulinemic clamp. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31 (5), 1541–1550. <https://doi.org/10.1111/jvim.14799>
- Lindåse, S., Strage, E., Nostell, K. & Bröjer, J. (2022). Pancreatic alpha-cell dysfunction in horses with insulin dysregulation. *15th ECEIM Congress 28 & 29 October 2022 Online Proceedings Book*, 111
- Longland, A.C., Barfoot, C. & Harris, P.A. (2014). Effect of period, water temperature and agitation on loss of water-soluble carbohydrates and protein from grass hay: implications for equine feeding management. *The Veterinary Record*, 174 (3), 68. <https://doi.org/10.1136/vr.101820>
- Luethy, D., Johnson, A.L., Stefanovski, D., Boston, R.C. & Orsini, J.A. (2019). Glucose and insulin response after intravenous and subcutaneous somatostatin administration in healthy horses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 42 (5), 541–547. <https://doi.org/10.1111/jvp.12793>
- Mack, S.J., Dugdale, A.H., Argo, C.McG., Morgan, R.A. & McGowan, C.M. (2014). Impact of water-soaking on the nutrient composition of UK hays. *Veterinary Record*, 174 (18), 452–452. <https://doi.org/10.1136/vr.102074>
- Macon, E.L., Harris, P., Barker, V.D. & Adams, A.A. (2022). Seasonal insulin responses to the oral sugar test in healthy and insulin dysregulated horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 113, 103945. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2022.103945>
- Mann, S., Beedie, C., Balducci, S., Zanuso, S., Allgrove, J., Bertiato, F. & Jimenez, A. (2014). Changes in insulin sensitivity in response to different modalities of exercise: a review of the evidence. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 30 (4), 257–268. <https://doi.org/10.1002/dmrr.2488>
- Martínez, M.S., Manzano, A., Olivar, L.C., Nava, M., Salazar, J., D’Marco, L., Ortiz, R., Chacín, M., Guerrero-Wyss, M., Cabrera de Bravo, M., Cano, C., Bermúdez, V. & Angarita, L. (2021). The role of the α cell in the pathogenesis of diabetes: A world beyond the mirror. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (17), 9504. <https://doi.org/10.3390/ijms22179504>
- Matsubara, M., Chiba, H., Maruoka, S. & Katayose, S. (2000). Elevated serum leptin concentrations in women with components of multiple risk factor clustering syndrome. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 7 (4), 231–237. <https://doi.org/10.5551/jat1994.7.231>
- Meier, A., de Laat, M., Reiche, D., Fitzgerald, D. & Sillence, M. (2019). The efficacy and safety of velagluflozin over 16 weeks as a treatment for insulin dysregulation in

- ponies. *BMC Veterinary Research*, 15 (1), 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), e0203655. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203655>
- Menzies-Gow, N.J., Wray, H., Bailey, S.R., Harris, P.A. & Elliott, J. (2014). The effect of exercise on plasma concentrations of inflammatory markers in normal and previously laminitic ponies. *Equine Veterinary Journal*, 46 (3), 317–321. <https://doi.org/10.1111/evj.12132>
- Morgan, R., Keen, J. & McGowan, C. (2015). Equine metabolic syndrome. *The Veterinary Record*, 177 (7), 173–179. <https://doi.org/10.1136/vr.103226>
- Muoio, D.M. & Newgard, C.B. (2008). Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and β -cell failure in type 2 diabetes. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9 (3), 193–205. <https://doi.org/10.1038/nrm2327>
- Nauck, M.A. & Meier, J.J. (2018). Incretin hormones: Their role in health and disease. *Diabetes, Obesity & Metabolism*, 20 Suppl 1, 5–21. <https://doi.org/10.1111/dom.13129>
- Nauck, M.A., Quast, D.R., Wefers, J. & Meier, J.J. (2021). GLP-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes - state-of-the-art. *Molecular Metabolism*, 46, 101102. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101102>
- O’Grady, S.E. (2010). Farriery for chronic laminitis. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 26 (2), 407–423. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.04.008>
- Ormazabal, V., Nair, S., Elfeky, O., Aguayo, C., Salomon, C. & Zuñiga, F.A. (2018). Association between insulin resistance and the development of cardiovascular disease. *Cardiovascular Diabetology*, 17 (1), 122. <https://doi.org/10.1186/s12933-018-0762-4>
- Ouchi, N., Parker, J.L., Lugus, J.J. & Walsh, K. (2011). Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature Reviews. Immunology*, 11 (2), 85–97. <https://doi.org/10.1038/nri2921>
- Pernicova, I. & Korbonits, M. (2014). Metformin—mode of action and clinical implications for diabetes and cancer. *Nature Reviews Endocrinology*, 10 (3), 143–156. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2013.256>
- Petersen, M.C. & Shulman, G.I. (2018). Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiological Reviews*, 98 (4), 2133–2223. <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017>
- Powell, D.M., Reedy, S.E., Sessions, D.R. & Fitzgerald, B.P. (2002). Effect of short-term exercise training on insulin sensitivity in obese and lean mares. *Equine Veterinary Journal. Supplement*, (34), 81–84. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2002.tb05396.x>
- Rehfeld, J.F. (2018). The origin and understanding of the incretin concept. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 387. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00387>

- Rendle, D.I., Rutledge, F., Hughes, K.J., Heller, J. & Durham, A.E. (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>
- 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>
- Shankar, S.S., Shankar, R.R., Mixson, L.A., Miller, D.L., Chung, C., Cilissen, C., Beals, C.R., Stoch, S.A., Steinberg, H.O. & Kelley, D.E. (2016). Linearity of β -cell response across the metabolic spectrum and to pharmacology: insights from a graded glucose infusion-based investigation series. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 310 (11), E865–E873. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00527.2015>
- Singhal, A. (2005). Endothelial dysfunction: role in obesity-related disorders and the early origins of CVD. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 64 (1), 15–22. <https://doi.org/10.1079/pns2004404>
- Sjaastad, Ø.V., Sand O & Hove K. (2016). *Physiology of Domestic Animals*. 3. ed. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Stefanovski, D., Robinson, M.A. & Van Eps, A. (2022). Effect of a GLP-1 mimetic on the insulin response to oral sugar testing in horses. *BMC Veterinary Research*, 18 (1), 294. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03394-2>
- Stewart, A.J., Hackett, E., Bertin, F. & Towns, T.J. (2019). Cortisol and adrenocorticotropic hormone concentrations in horses with systemic inflammatory response syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33 (5), 2257–2266. <https://doi.org/10.1111/jvim.15620>
- Suagee, J.K., Corl, B.A., Crisman, M.V., Hulver, M.W., McCutcheon, L.J. & Geor, R.J. (2011a). Effects of acute hyperinsulinemia on inflammatory proteins in horses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 142 (3), 141–146. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2011.05.001>
- Suagee, J.K., Corl, B.A., Wearn, J.G., Crisman, M.V., Hulver, M.W., Geor, R.J. & McCutcheon, L.J. (2011b). Effects of the insulin-sensitizing drug pioglitazone and lipopolysaccharide administration on insulin sensitivity in horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25 (2), 356–364. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0681.x>
- 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>
- Tóth, F., Frank, N., Martin-Jiménez, T., Elliott, S.B., Geor, R.J. & Boston, R.C. (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., Boston, R.C. & Harris, P.A. (2005). Use of proxies and reference quintiles obtained from minimal model analysis for determination of insulin sensitivity and pancreatic beta-cell responsiveness in horses.

- American Journal of Veterinary Research*, 66 (12), 2114–2121.
<https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.2114>
- Ungru, J., Coenen, M., Vervuert, I., Blüher, M., Raila, J. & Boston, R. (2012). Effects of body weight reduction on blood adipokines and subcutaneous adipose tissue adipokine mRNA expression profiles in obese ponies. *Veterinary Record*, 171 (21), 528–528.
<https://doi.org/10.1136/vr.100911>
- Valaiyapathi, B., Gower, B. & Ashraf, A.P. (2020). Pathophysiology of type 2 diabetes in children and adolescents. *Current Diabetes Reviews*, 16 (3), 220–229.
<https://doi.org/10.2174/1573399814666180608074510>
- Van Den Wollenberg, L., Vandendriessche, V., van Maanen, K. & Counotte, G.H.M. (2020). Comparison of two diagnostic methods to detect insulin dysregulation in horses under field conditions. *Journal of Equine Veterinary Science*, 88, 102954.
<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.102954>
- Van Weyenberg, S., Buyse, J., Kalmar, I.D., Swennen, Q. & Janssens, G.P.J. (2013). Voluntary feed intake and leptin sensitivity in ad libitum fed obese ponies following a period of restricted feeding: a pilot study. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 97 (4), 624–631. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01300.x>
- Vick, M.M., Adams, A.A., Murphy, B.A., Sessions, D.R., Horohov, D.W., Cook, R.F., Shelton, B.J. & Fitzgerald, B.P. (2007). Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. *Journal of Animal Science*, 85 (5), 1144–1155. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-673>
- Wallberg-Henriksson, H. & Zierath, J.R. (2001). GLUT4: a key player regulating glucose homeostasis? Insights from transgenic and knockout mice (review). *Molecular Membrane Biology*, 18 (3), 205–211. <https://doi.org/10.1080/09687680110072131>
- Wearn, J., Crisman, M., Ji, D., Rj, G., Dr, H., Jk, S., M, A.-K. & Lj, M. (2011). Pharmacokinetics of pioglitazone after multiple oral dose administration in horses. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 34 (3).
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2010.01217.x>
- Wilcox, G. (2005). Insulin and insulin resistance. *The Clinical Biochemist. Reviews*, 26 (2), 19–39.
- Yaribeygi, H., Farrokhi, F.R., Butler, A.E. & Sahebkar, A. (2019). Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms. *Journal of Cellular Physiology*, 234 (6), 8152–8161. <https://doi.org/10.1002/jcp.27603>
- Yosten, G.L.C. & Kolar, G.R. (2015). The physiology of proinsulin c-peptide: unanswered questions and a proposed model. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 30 (4), 327–332. <https://doi.org/10.1152/physiol.00008.2015>
- Yu, Q., Shuai, H., Ahooghalandari, P., Gylfe, E. & Tengholm, A. (2019). Glucose controls glucagon secretion by directly modulating cAMP in alpha cells. *Diabetologia*, 62 (7), 1212–1224. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4857-6>
- Zhang, X.-X., Pan, Y.-H., Huang, Y.-M. & Zhao, H.-L. (2016). Neuroendocrine hormone amylin in diabetes. *World Journal of Diabetes*, 7 (9), 189–197.
<https://doi.org/10.4239/wjd.v7.i9.189>

Populärvetenskaplig sammanfattning

Ekvint metabolt syndrom (EMS) är en samling riskfaktorer som gör hästar benägna att utveckla fång. Fång är ett vanligt och mycket smärtsamt inflammatoriskt tillstånd i hästens hovar, som orsakar stort lidande för hästar världen över. Den mest centrala komponenten i EMS är insulindysreglering (ID). ID är ett samlingsbegrepp som inkluderar insulinresistens (IR), höga insulinnivåer under fasta samt överdriven insulinproduktion till följd av sockerintag. IR innebär att cellerna svarar sämre på insulin än normalt och därför kräver större mängd insulin för att ta upp glukos. Bukspottkörteln kompenserar för detta genom att producera mer insulin. De höga insulinnivåerna blir giftiga för hästen och resulterar i att den utvecklar fång. Den bakomliggande orsaken till detta är i dagsläget okänd, men det finns en stark koppling mellan höga insulinnivåer och fång.

IR förekommer även hos människa, men där blir bukspottkörtelns funktion ofta nedsatt efter en viss tid. När insulinproduktionen är otillräcklig för normalt glukosupptag utvecklas diabetes typ 2. Hästar å andra sidan tycks besitta en starkare förmåga att bibehålla kompensatoriskt höga insulinnivåer och utvecklar sällan diabetes. Vissa hästtyper och raser är mer benägna att utveckla EMS än andra, till exempel ponnyer och kallblod. En egenskap som potentiellt kan förvärra ID hos hästen är fetma. EMS-hästar får ofta koncentrerade fettdepåer i till exempel nackområdet, snarare än generell fettansättning över hela kroppen.

Genom olika åtgärder kan man förebygga att hästar med EMS utvecklar fång. Man anpassar hästens utfodring för att undvika höga insulinnivåer och ser till att den får korrekt hovvård samt motion. Ibland är dessa åtgärder dock otillräckliga, i de fallen kan läkemedel utgöra ett komplement. Det finns i dagsläget inga läkemedel registrerade för behandling av EMS hos häst, därför finns ett behov av forskning inom detta område.

När man utvärderar om ett läkemedel kan användas för att behandla EMS använder man sig av olika tester som ska imitera glukos- och insulinnivåerna som uppstår efter en utfodringssituation. Ett av dem är oralt sockertest (OST), som innebär att hästen matas med en viktpassad mängd glukossirap i munnen. När hästen äter stiger glukosnivåerna i blodet, vilket stimulerar bukspottkörtelns β -celler att frisätta

insulin. Det finns hormoner i magtarmkanalen som ytterligare stimulerar bukspottkörteln att frisätta insulin efter intag av socker, dessa kallas för inkretiner. Man pratar om en inkretineffekt, som medför en större frisättning av insulin vid glukosintag via munnen, jämfört med om man ger glukos via dropp direkt i blodet. För att få ett mått på β -cellfunktionen i bukspottkörteln oberoende av inkretineffekten kan man alltså ge glukos direkt i blodet. Testet heter Graded Glucose Infusion (GGI) och innebär att man kopplar upp hästen på glukosdropp med gradvis ökande hastighet.

I denna studie har man använt sig av både OST och GGI. Läkemedelssubstansen som undersökts heter exenatid och används för att behandla diabetes typ 2 hos människa. Exenatid är en syntetisk variant av ett inkretinhormon. I en annan studie på häst har man sett att exenatid minskade insulinnivåerna efter ett OST. Som tidigare nämnt ger inkretiner en ökad insulinfrisättning efter sockerintag under vanliga fysiologiska förhållanden. Det är också det som sker när man ger exenatid till människor med diabetes typ 2; vilket även är önskvärt i det fallet eftersom diabetes typ 2 leder till otillräcklig insulinutsöndring. Med detta i beaktning var resultaten från den andra exenatidstudien uppseendeväckande, eftersom de indikerar att läkemedlet har motsatt effekt hos häst. Syftet med den aktuella studien var att undersöka behandlingseffekten av exenatid på insulinsvaret efter ett OST och på bukspottkörtelns β -cellrespons under en GGI.

I studien sågs varierande resultat mellan de olika hästarna. En häst hade tydligt ökad insulinfrisättning under OST samt en ökad β -cellrespons under GGI efter behandling med exenatid. Detta är motsatt effekt från den man vill ha hos hästar med EMS, eftersom problemet är att de har för höga insulinnivåer. Det är de höga insulinnivåerna som leder till att hästen utvecklar fång, vilket innebär att behandling med exenatid skulle kunna riskera att förvärra hästens tillstånd baserat på de resultat som presenteras i den här studien. Eftersom exenatid är relativt ostuderat för behandling av EMS behövs fler studier för att utvärdera vilken effekt det har hos häst.

Tack

Jag vill rikta ett stort tack till min handledare Johan Bröjer och min biträdande handledare Sanna Truelsen Lindåse för deras outtröttliga engagemang och allt hårt arbete de lagt ner för att möjliggöra genomförandet av den här studien. Jag vill även tacka Elin Svonni för hennes medverkan under försöksomgångarna, samt alla djurägare och hästar som ställt upp med sitt deltagande i studien. Utan er hade detta inte varit möjligt!

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.