

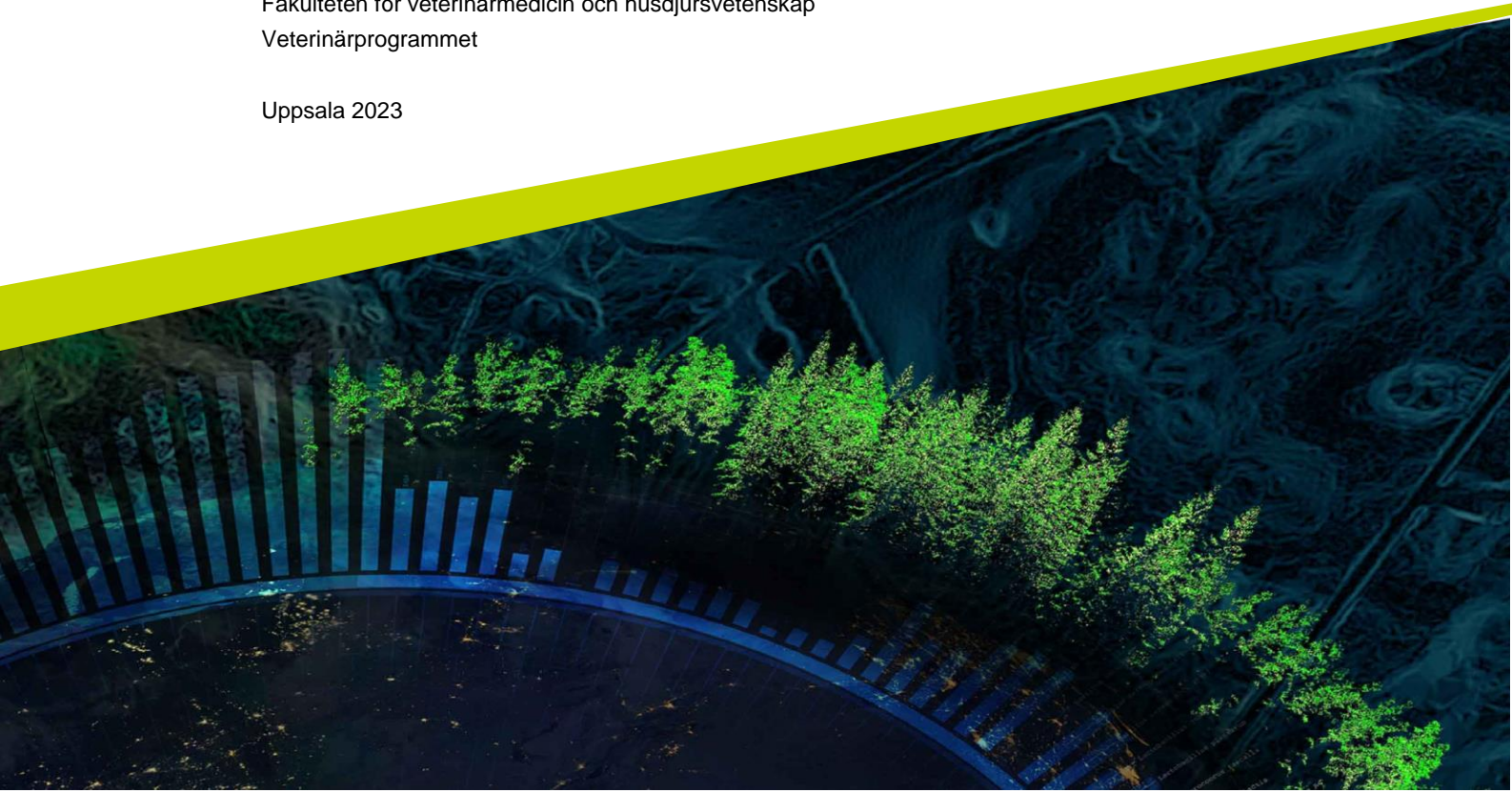


Inkretineffekten hos friska hästar och hos hästar med insulindysreglering

Amanda Sjöberg

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

Uppsala 2023



Inkretineffekten hos friska hästar och hos hästar med insulindysreglering

The incretin effect in horses with normal insulin regulation and in horses with insulin dysregulation

Amanda Sjöberg

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

Bitr. handledare: Sanna Lindåse, Sveriges lantbruksuniversitet,
Institutionen för kliniska vetenskaper

Examinator: Miia Riihimäki, 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: 2024
Upphovsrätt: Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.

Nyckelord: Ekvint metabolt syndrom (EMS), Hyperinsulinemi, Insulinresistens (IR), Inkretiner

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Insulindysreglering (ID) är ett tillstånd där insulinnivåerna i kroppen ej regleras normalt, vilket orsakas av en defekt i insulinmetabolismen. Hos häst definieras tillståndet av hyperinsulinemi och insulinresistens (IR), som är en viktig del i den metabola sjukdomen ekvint metabolt syndrom (EMS). Då kroppen ej svarar adekvat på insulin på grund av IR måste pankreas kompensera genom att producera mer insulin för att upprätthålla normoglykemi. Detta leder till hyperinsulinemi, framförallt postprandiellt. Hyperinsulinemi har i studier visats kunna orsaka endokrinologisk fång, vilket är ett mycket smärtsamt tillstånd som orsakas av en inflammation i hovarnas lameller. Behandling av hästar med insulindysreglering syftar därför till att sänka insulinnivåerna i blodet, vilket främst görs med rätt diet och motion. Idag finns även humanläkemedel som visat god effekt på hästar med ID.

Inkretiner är lokala hormoner som produceras i tarmarna som svar på oralt intag av glukos. Inkretinerna stimulerar till ökad frisättning av insulin från pankreas och bidrar på så sätt till det postprandiella insulinsvaret. Studier inom humanmedicinen har visat att insulinsvaret är kraftigare efter tillförsel av glukos oralt jämfört med när glukoset administreras intravenöst, vilket har kommit att kallas inkretineffekten. Ytterligare humanstudier har visat att människor som lider av diabetes mellitus typ II har en mindre effekt av inkretiner, alternativt ingen effekt alls. Det har funnits teorier om att inkretineffekten spelar roll hos hästar med ID men detta är lite studerat i praktiken.

I studien användes sex friska hästar som ej diagnosticerats med ID och tre i övrigt friska hästar med diagnosticerad ID. Studien syftade till att utvärdera inkretineffekten hos hästar utan ID och hos hästar med ID genom att mäta insulinsvaret efter ett oralt glukostolerans test (OGTT) och en isoglykemisk intravenös infusion av glukos (IIGI) och se skillnaden däremellan.

Samtliga hästar i studien hade en större insulinfrisättning efter OGTT jämfört med efter den intravenösa infusionen. Detta kan förklaras av inkretineffekten och frisättningen av inkretiner, framförallt glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) och glucagon-like peptide-1 (GLP1). Gruppen med ID hästar hade en större inkretineffekt jämfört med den friska gruppen, vilket talar att inkretineffekten kan ha en större betydelse för insulinfrisättningen hos hästar med ID.

Nyckelord: Ekvint metabolt syndrom (EMS), Insulinresistens (IR), Hyperinsulinemi, Inkretiner

Abstract

Insulin dysregulation (ID) is a condition where the levels of insulin in the body is not regulated correctly as a result of a defect in the metabolism of insulin. In horses, the condition is defined by hyperinsulinemia and insulinresistens (IR), which is referred to as ID. Insulin dysregulation is the main components of equine metabolic syndrome (EMS). Hyperinsulinemia has been shown to cause laminitis, which is a very painful condition caused by inflammation in the hoof lamellae. Treatment of EMS is therefore focused on reducing the insulin concentrations in the blood, which is obtained by changes in diet and exercise. Today there are also human drugs that are shown to be effective in horses with EMS.

Incretins are local hormones that are produced in the intestines upon oral intake of glucose. The incretins stimulate the secretion of insulin from the pancreas and contribute to the postprandial insulin response. Studies in human medicine have shown that more insulin is secreted upon oral intake of glucose compared to when glucose is administrated intravenously, a phenomenon that is called the incretin effect. Studies have shown that people with diabetes mellitus type II secrete less insulin and have a lower incretin effect compared to non-diabetic people. There are theories that the incretins might play a roll in the pathophysiology of horses with EMS but this is sparsely studied.

In this study six horses without ID and three horses diagnosed with ID were used. The purpose of the study was to evaluate the incretin effect in healthy horses and horses with ID by measuring the insulin response after an oral glucose tolerance test (OGTT) and after an isoglycemic intravenous infusion of glucose (IIGI) and measure the relative difference in insulin responses.

All of the horses in the study had higher insulin responses after the OGTT compared to the intravenous infusion. The difference can be explained by the incretin effect and the release of incretins, primarily glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) och glucagon-like peptide-1 (GLP1). The group of horses with ID had a larger incretin effect then the group of healthy horses, which suggest that incretins might play a role in the postprandial hyperinsulinemia in horses with ID.

Keywords: Equine metabolic syndrome (EMS), Insulindysregulation (ID), Hyperinsulinemia, Incretins

Innehållsförteckning

Tabellförteckning	8
Figurförteckning	8
Förkortningar	8
1. Inledning	9
2. Litteraturoversikt	10
2.1 Ekvint metabol syndrom.....	10
2.1.1. Fång.....	10
2.1.2. Insulin	11
2.1.3. Insulindysreglering.....	12
2.1.4 Behandling av EMS	12
2.2 Inkretiner	13
2.3 OGTT och IVGTT.....	14
3. Material & metod	15
3.1 Hästar.....	15
3.2 Studiedesign	16
3.2.1 Utförande av OGTT	16
3.2.2. Provtagning vid isoglykemisk intravenös glukosinfusion.....	16
3.2.3 Analys av glukos & insulin	17
3.2.4. Bearbetning av data	17
4. Resultat	18
4.1 Basal- och maxkoncentrationer	18
4.2 Glukosinfusion	18
4.3 Area under kurvan & responsdata	19
4.4 Inkretineffekten	20
5. Diskussion	22
5.1 Inkretineffekten	22
5.2 Glukos- & insulinkurvor	23
5.3 Försöksupplägg & provtagning	24
Konklusion.....	25
Referenser	26
Populärvetenskaplig sammanfattning	30
Tack	32

Tabellförteckning

Tabell 1. Basdata för 9 hästar som använts i en studie om inkretineffekten på hästar med och utan insulindysreglering.	15
Tabell 2. Data erhållen efter ett oralt glukostoleranstest (OGTT) och en isoglykemisk intravenös glukosinfusion (IIGI) för en grupp på 6 friska hästar och en grupp på 3 hästar med insulindysreglering (ID).	21

Figurförteckning

Figur 1. Grafer som illustrerar uppmätta glukos- och insulinnivåer, samt mängd tillförd glukos, erhållna efter ett OGTT och en isoglykemisk intravenös infusion på 6 hästar ej diagnosticerade med ID och 3 hästar med diagnosticerad ID	19
--	----

Förkortningar

AUC	Area under curve
BCS	Body condition score
CNS	Cresty neck score
EMS	Ekvint metabolt syndrom
GIP	Glucose-dependent insulinotropic polypeptide
GLP-1	Glucagon-like peptide-1
GTT	Glukos toleranstest
ID	Insulindysreglering
IIGI	Isoglykemisk intravenös glukosinfusion
IR	Insulinresistens
MMP	Matrix metalloproteinaser
NEFA	Non-esterified fatty acids
NSC	Non- structural carbohydrate
OGTT	Oralt glukostoleranstest
SLU	Sveriges lantbruksuniversitet

1. Inledning

Ekvint metabolt syndrom (EMS) är ett metabolt sjukdomskomplex som drabbar hästar och ponnyer och ökar deras risk för utveckling av endokrinologiskt orsakad fång. Komplexet karaktäriseras av hyperinsulinemi (för höga insulinnivåer i blodet) postprandiellt (efter födointag) samt insulinresistens (IR), vilket kan sammanfattas som insulindysreglering (ID). I nuläget är det okänt hur hyperinsulinemi orsakar fång. Behandling av hästar med ID syftar därför primärt till att kontrollera glukosnivåerna i blodet genom utfodring med grovfoder som innehåller liten andel NSC (*non-structural carbohydrates*) för att förhindra uppkomsten av ett för kraftigt insulinsvar postprandiellt.

Inkretiner är lokala hormoner som frisätts i tarmarna vid födointag och ökar frisättningen av insulin från β -cellerna i pankreas (bukspottskörteln). De mest studerade inkretinerna är glucagon-like peptide-1 (GLP1) och glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP). På humansidan har man i försök sett att insulinsvaret är kraftigare vid oral administration av glukos jämfört med insulinsvaret efter en intravenös injektion av glukos, vilket förklaras av den s.k. ”inkretineffekten”. Inkretineffekten förklaras av frisättningen av GLP1 och GIP efter födointag, vilket stimulerar sekretion av insulin från β -cellerna och ger ett större insulinsvar postprandiellt. Man har sett att människor som lider av diabetes mellitus typ II saknar inkretineffekten vilket orsakar en mindre frisättning av insulin postprandiellt. Det har föreslagits att hästar som lider av ID har en större inkretineffekten, dvs att de frisätter mer GIP och GLP1 jämfört med friska hästar, vilket skulle kunna vara en del i förklaringen till den hyperinsulinemi som uppstår postprandiellt. Detta är dock sparsamt undersökt i praktiken.

Syftet med detta forskningsprojekt är att undersöka och kvantifiera inkretineffekten hos friska hästar och hästar som lider av insulindysreglering genom att mäta och jämföra insulinsvaret efter ett oralt glukostoleranstest (OGTT) med insulinsvaret efter en isoglykemisk intravenös infusion av glukos (IIGI).

Frågeställning:

Hur stor är inkretineffekten och vilken betydelse har den för insulinfrisättningen hos friska hästar och hästar som lider av insulindysreglering?

2. Litteraturöversikt

2.1 Ekvint metabolt syndrom

Ekvint metabolt syndrom (EMS) är ett metabolt sjukdomskomplex hos hästar och ponnyer som definieras av en samling faktorer som ökar risken för utveckling av endokrinologiskt orsakad fång (Frank *et al.* 2010). Begreppet etablerades först 2002 av Johnson för sjukdomens likheter med metabolt syndrom hos människor (Johnson 2002). Metabolt syndrom på humansidan är ett komplex av faktorer som ökar risken för kardiovaskulär sjukdom och som är associerat med diabetes mellitus typ II och insulinresistens (IR) (WHO 1999).

De faktorer som ingår i EMS är generell obesitas och/eller regional adipositas, insulindysreglering (ID) och en predisposition för fång (Frank *et al.* 2010). Alla hästar och ponnyer kan drabbas men vissa raser och typer av hästar verkar vara genetiskt predisponerade. Exempelvis har det setts i studier att bland annat ponnyraser och Andalusier är mindre insulinkänsliga än vanliga varmblood (Bamford 2014). Det finns en teori om att dessa raser är predisponerade då de bakåt i tiden var anpassade till att överleva på sparsam tillgång till föda, vilket ställer till problem i nutid där det finns ett överflöd av kolhydratrikt foder (Durham 2014). Förutom en genetisk predisposition anses EMS orsakas av kronisk överutfodring, reducerad mängd fysisk aktivitet och obesitas.

Obesitas har associerats med reducerad insulin sensitivitet hos hästar och ponnyer. Detta är dock ej alltid fallet. Det finns normalviktiga hästar som är insulinresistenta och överviktiga hästar som har normal insulinkänslighet (Frank 2009).

2.1.1. Fång

Fång är en utbredd och smärtsam sjukdom som orsakas av en inflammation i lamellerna i hästens hovar (Pollitt 2004). Lamellerna håller den distala falangen på plats i hovkapseln genom dess förbindelse med den inre hovväggen. Vid fång sker en separation och elongering av lamellerna, vilket gör att den distala falangen ändrar läge inuti hovkapseln. Detta tillstånd orsakar smärta, karakteristisk hälta och hovväggsdeformationer till följd av den distala falangens lägesförflyttning. Kliniska symtom vid fång innefattar, förutom hälta, ovilja till rörelse, en ökad digitalpuls på affekterat/affekterade ben, ömhet vid tryck över tån och att hästen skiftar vikten bakåt för att avlasta sina framben genom att sätta bakbenen under sig och sträcka frambenen utåt (Patterson-Kane *et al.* 2018). För att bedöma hästens

smärta och kunna följa dess utveckling används universala skalor som graderas utifrån graden av smärta och symtom som hästen uppvisar (Menziés- Gow *et al.* 2010). Den mest vedertagna skalan är den s.k. Obel-skalan som etablerades 1948 där smärtan graderas mellan 1 – 4. Nyare studier visar att detta graderingsystem fortfarande är ganska bra och fortsätter att vara den mest använda i praktiken. Fång kan delas in i olika faser, från att sjukdomen initieras till att den blivit ett kroniskt tillstånd (Pollitt 2004). Utvecklingsfasen är den fas då fången triggas och lamellerna separeras. I denna fas ses ingen hälta. Detta utvecklas vidare till den akuta fasen som definieras av hälta och smärta. Om hästen ej återhämtar sig från den akuta fasen övergår det i den kroniska fasen då den distala falangen har ändrat sitt läge i hovkapseln.

Den vanligaste orsaken till fång är endokrinologiskt orsakad fång (Karikoski *et al.* 2010). Fång kan även orsakas av andra systemiska sjukdomar så som endotoxemi, framförallt kopplat till akuta GI-patologier och kvarbliven efterbörd (Parsons Snook *et al.* 2007), ett överdrivet intag av kolhydrater (oligofruktos) (van Eps 2006) och unilateral överbelastning till följd av hälta/ patologi på motsatt ben (van Eps *et al.* 2010). I flera studier har man påvisat att hyperinsulinemi ger upphov till fång hos tidigare friska hästar, vilket visar att insulinintoxicitet är en viktig faktor för utveckling av fång (Asplin *et al.* 2007, de Laat *et al.* 2010). I en annan studie gjord på en betande ponnyflock gick det att se att insulin-, leptinkoncentration och BCS kunde användas för att förutse utvecklingen av fång (Carter *et al.* 2009).

Det har länge diskuterats vilka mekanismer som sker i hoven som leder till fång (Pollitt 2004). Studier *in vitro* visar att det i en fångdrabbad hov sker en uppreglering av metalloproteinaser (MMP), enzymer som finns naturligt i vävnaden och som sköter remodellering och anpassning av vävnaden till sin omgivning. Det har setts att det framförallt är en uppreglering av MMP-2 och MMP-9, vilket orsakar en överdriven nedbrytning av vävnaden.

2.1.2. Insulin

Insulin är ett peptidhormon vars produktion och sekretion sker i β -cellerna i pankreas Langerhandska öar (Wilcox 2005). Insulinets främsta uppgift är att upprätthålla euglykemi i blodet genom att främja cellernas upptag av glukos, men det påverkar även metabolismen av kolhydrater, proteiner och lipider. Insulin frisätts som ett svar på hyperglykemi i blodet men även hormoner och neurala faktorer kan stimulera sekretion av insulin.

Insulin utövar en direkt, anabolisk effekt på skelettmuskulatur, lever och adipocyter genom bindning till insulinreceptorer (INSR) (Petersen 2017). I skelettmuskulatur stimulerar insulin bland annat bildning och upplagring av glykogen. Insulin stimulerar syntes av glykogen, lipider och proteiner i levern och förhindrar glykogenolys. I adipocyter stimuleras upplagring av lipider och lipolys förhindras.

2.1.3. Insulindysreglering

Insulindysreglering definieras som defekter i insulinmetabolismen, som kan ta sig uttryck i en eller flera av följande; basal hyperinsulinemi, postprandiell hyperinsulinemi och insulinresistens (Frank & Tadros 2014). Insulinresistens innebär att kroppen inte svarar på normala insulinnivåer, vilket leder till att mer insulin måste produceras för att uppnå samma cellulära svar. Om kroppen kan producera mer insulin leder detta till hyperinsulinemi och individen anses då vara i en kompenserad insulinresistens. Hyperinsulinemi kan också orsakas av en sänkt förmåga i levern att göra sig av med insulin.

Hos människor ses initialt en kompenserad IR, som gradvis leder till att β -cellerna mattas ut (Wilcox 2005, Kahn 2001). I detta läge kan kroppen inte längre kompensera för insulinresistensen genom hyperinsulinemi, vilket leder till utvecklingen av diabetes och hyperglykemi. Detta tros blanda annat bero på en minskad β -cells-massa då detta ses hos individer med diabetes typ II (Butler 2003). Hästar hamnar sällan i ett dekomparerat läge utan stannar i ett kompenserat läge (Lindåse 2017).

Obesitas är en känd orsak till insulinresistens hos människor (Kahn *et al.* 2006). Adipos vävnad är endokronologiskt aktiv och frisätter bland annat proinflammatoriska cytokiner och Non-Esterified Fatty Acids (NEFA) som i humanstudier har visats bidra till utvecklingen av IR. Där spelar fettdistribution en stor roll där framförallt en hög andel abdominalt fett anses öka risken för utvecklingen av IR.

Hos hästar har försök visat att dietens komposition har större påverkan på insulinsensitivitet än viktuppgång. Hästarna måste ej ha obesitas för att utveckla IR (Lindåse 2017).

2.1.4 Behandling av EMS

Behandling av EMS syftar till att kontrollera glukos- och insulinkoncentrationen i blodet (Frank *et al.* 2010). De allra viktigaste åtgärderna innefattar en diet låg på kolhydrater, viktnedgång vid obesitas och motion. En höbaserad diet som supplementeras med vitaminer och mineraler är rekommenderat där höet ska ha en låg andel NSC (*non-structural carbohydrates*). Då innehållet i gräs är svårt att bestämma rekommenderas restriktiv vistelse i gräshagar och i vissa fall ingen vistelse i gräshagar alls. Motion efter förmåga och aktuell smärta är också rekommenderat. I en studie gjord på kortvarig motion sågs att motion ökar insulinsensitiviteten (Stewart- Hunt 2010).

Insulinresistens har en stark koppling till obesitas hos människor och gnagare (Carter 2009). Hos hästar har det visats i studier att obesitas är starkt kopplat till utvecklingen av fång. I en annan studie har man visat att en reduktion av vikt och en restriktiv utfodring hos hästar med insulinresistens ökade deras insulinkänslighet (McGowan 2013). Detta styrks av en studie av det motsatta där insulinkänsligheten minskade med ökande vikt och fettprocent hos de studerade hästarna (Vick *et al.* 2007).

Metformin är ett läkemedel som först introducerades inom humanmedicinen för patienter med diabetes typ II för att sänka glukosnivåerna i blodet (Clifford *et al.* 1996). Detta sker bland annat genom en reduktion av hepatisisk glukosproduktion under fasta samt ett ökat upptag av glukos perifert. En studie har visat goda resultat hos hästar med insulinresistens där behandling med metformin verkar öka insulin-känsligheten (Durham *et al.* 2008). Senare studier har dock visat att metformin inte har någon effekt på glukosnivåerna hos hästar (Colmer *et al.* 2024).

SGLT-2 hämmare är ett annat humanläkemedel som används i behandling av diabetes typ II (Rosenwasser *et al.* 2022). SGLT-2 är receptorer som reabsorberar 90 % av allt glukos i njurarna. Dessa receptorer uppregleras vid diabetes, vilket leder till att mer glukos kan reabsorberas som förvärrar patientens hyperglykemi. Hämmning av SGLT-2 leder till att glukos försvinner ut i urinen, vilket minskar graden av hyperglykemi. Fallstudier på hästar har visat att behandling med SGLT2-hämmare minskar graden av hyperinsulinemi och kan reversera pågående fångperioder (Kellon *et al.* 2022).

2.2 Inkretiner

”Entero-insular axis” innefattar all stimuli från tunntarmen som stimulerar de Langerhanska öarna i pankreas (Creutzfeldt *et al.* 1993). Här ingår inkretiner som är lokala hormoner med en insulinotropisk effekt. Hormonerna sesenseras vid intag av näringsämnen oralt där glukos passerar tarmarna. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) och glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) är de inkretinhormoner som är mest studerade (Drucker 2006). När näringsämnen absorberas i GI sker en sekretion av GLP-1 och GIP av celler i tunntarmen.

GLP-1 och GIP binder till receptorer i pankreas, vilket sätter igång den cellulära signalering som leder till sekretion av insulin. GLP-1 inhiberar även sekretionen av glucagon från α -cellerna, vilket ytterligare sänker glukosnivåerna i blodet. På humansidan har studier utförts för att jämföra insulinsvaret vid intag av glukos oralt jämfört med insulinsvaret efter administrering av glukos intravenöst (Perley *et al.* 1967). Dessa studier har visat att insulinsvaret är kraftigare vid oralt intag av glukos jämfört med det som ses vid administrering av glukos intravenöst. Detta förklaras av ”inkretineffekten”. Studier som gjorts hos människor med diabetes mellitus visar att inkretineffekten är reducerad eller helt förlorad (Nauck *et al.* 1986).

Studier har visat att exogen tillförsel av GLP-1 har potential att normalisera hyperglykemi i fastande stadie och postprandiellt hos människor med diabetes typ II (Nauck *et al.* 1993, Willms 1996).

Det finns teorier om att inkretineffekten även existerar hos hästar (Duhlmeier *et al.* 2001). I en studie gjord på nio friska hästar och ponnyer sågs ett högre insulinsvar vid oral glukosgiva jämfört med vid en intravenös infusion av glukos. Det sågs även att nivåerna av GIP var högre vid den orala glukosgivan jämfört med den intravenösa, vilket styrker teorin om en befintlig inkretineffekt.

2.3 OGTT och IVGTT

Det finns olika metoder för att diagnosticera ID hos hästar (Firshman *et al.* 2007). Ett sätt som är vanligt att använda är att mäta fastenivåerna av glukos och insulin.

Om hyperinsulinemi föreligger vid fasta kan man misstänka att individen lider av ID. Problemet med denna metod är att alla hästar med ID inte har tydligt förhöjda fastenivåer av insulin. Det förekommer även individuella variationer i glukos- och insulinkoncentrationer som kan påverkas av flera faktorer, t.ex. stress. Glukos-toleranstest är dynamiska test som ger ett mått på clearance av glukos hos människor med typ II diabetes mellitus. Testet används även på häst. Ett kraftigare glukos svar eller en förskjuten glukoskurva kan indikera insulinresistens eller en reducerad pankreaskapacitet hos människa.

Oralt glukos tolerans test (OGTT) är det vanligaste dynamiska testet för diagnostisering av ID hos häst (de Laat *et al.* 2023). Testet går ut på att mäta glukos- och insulinkoncentrationen i blodet före och efter en oral glukosgiva. Inom humanmedicinen är glukoskoncentrationen efter ett OGTT diagnostiskt för diabetes typ II, hos hästar är glukosnivåerna inte lika relevanta. I studier har det setts en liten skillnad i glukoskurvorna mellan sjuka och friska individer efter ett OGTT. Glukos är svårt att använda som parameter då glukosnivåerna kan påverkas av flera faktorer, t.ex. stress. Vid diagnostisering av EMS hos häst är det istället insulinivåerna som är av största relevans.

Enligt American Diabetes Association rekommendationer bör ett OGTT utföras efter minst 8 h fasta (American Diabetes Association 1969). Därefter administreras glukos oralt efter vikt. Ett nollprov tas innan giva av glukos, därefter tas upprepade prover under tre timmar.

Intravenöst glukos tolerans test (IVGTT) är ett annat dynamiskt test som kan användas för diagnostisering av ID där glukos administreras intravenöst (Firshman *et al.* 2007). Skillnaden från ett OGTT är att glukos når blodet direkt och att eventuell enteral påverkan undviks. Det är därför ett direkt mått på en individs insulin-känslighet. Vid ID kan högre glukosvärden ses efter injektion jämfört med individer som ej har ID. Det kan också ta längre tid till normoglykemi jämfört med en frisk individ.

3. Material & metod

3.1 Hästar

Studien utfördes vid institutionen för kliniska vetenskaper (KV), Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU) under hösten 2023 som ett pilotförsök. Försöket är godkänt av Uppsalas djurförsöksetiska nämnd (Diarienummer: 5.8.18-15533/2018). Hästarna i studien tillhörde delvis KVs undervisningshästar och var delvis privatägda (se tabell 1). Den friska gruppen bestod av sex slumpmässigt valda hästar från KVs undervisningshästar. Inklusionskriterierna innefattade att hästarna skulle vara kliniskt friska och inte sedan tidigare diagnosticerade med ID. Den andra gruppen bestod av tre privatägda hästar, som tidigare diagnosticerats med ID genom oralt glukostoleranstest. Innan försöket undertecknades ett djurägarmedgivande. Klinisk undersökning utfördes av alla hästar innan försöket påbörjades där bland annat *body condition score* och *cresty neck score* bedömdes (se tabell 1). Hästarna var utan foder i 8 h innan varje provokation. Övrig tid åt de sitt vanliga grov- och kraftfoder. Hästarna hade alltid tillgång till färskt vatten under hela försöket. Under försöket gick hästarna i hagar utan gräs 4 h om dagen.

Tabell 1. Basdata för 9 hästar som ingår i en studie där inkretineffekten hos häst undersöks. SVT (Svensk varmblodig travare), BCS (*body condition score*), CNS (*cresty neck score*).

HÄST	RAS	ÅLDER (ÅR)	KÖN	EMS	GRUPP	BCS	CNS
A	SVT	15	Valack	N	1	6,0	2,0
B	SVT	5	Valack	N	1	5,5	1,5
C	SVT	14	Sto	N	1	6,0	2,5
D	SVT	12	Sto	N	1	6,0	2,5
E	SVT	10	Sto	N	1	5,5	2,0
F	SVT	12	Sto	N	1	5,5	1,5
G	Welsh-ponny	22	Valack	J	2	6,5	3,0
H	Welsharab	20	Valack	J	2	5,5	2,5
I	Haflinger	19	Sto	J	2	8,0	4,0

3.2 Studiedesign

De friska hästarna var under provtagningen uppstallade i sin hemmamiljö på KV's stall på SLU. De privatägda hästarna, som tidigare diagnosticerats med ID, stallades upp i ett forskningsstall som tillhör Universitetsdjursjukhuset, SLU. De privatägda hästarna anlände till SLU två dagar innan försöksstart för att acklimatisera sig till den nya miljön. Varje häst undersöktes två dagar i rad. Under den första försöksdagen utfördes ett OGTT under 180 minuter och under den andra försöksdagen utfördes en isoglykemisk intravenös glukosinfusion (IIGI) under 180 minuter med syfte att efterlikna responskurvan av glukos vid per oral giva av glukos (OGTT). Dagen före försöket förberedes hästarna i studien och undersöktes kliniskt. En permanentkateter (Vygon intranule 14 G, 105 × 2.0 mm) anlades sterilt i ena sidans *vena jugularis* efter att stickområdet lokalbedövats med Emla (lidokain 25 mg/g, prilokain 25 mg/g, Aspen Nordic) intrakutant samt Carbocain (Mepivacain 20 mg/ml, Aspen Nordic) subkutant. Under den första försöksdagen efter att ett OGTT utförts anlades en permanentkateter sterilt i andra sidans jugularven enligt ovan beskriven metod.

3.2.1 Utförande av OGTT

Hästarna vägdes på morgonen innan försökets start. Ett nollprov togs från permanentkatetern 10 min och 1 min innan glukossirapen administrerades per oralt. Fem eller 10 ml blod togs ut vid varje provtagningstillfälle efter att 7 ml blod dragits ut med en separat spruta och kasserats. Efter varje provtagning spolades kanylen med 10 ml NaCl-lösning (Natriumklorid Fresenius Kabi 9 mg/ml). För att lättare kunna administrera glukossirapen stod den i ett varmt vattenbad innan den drogs upp i 100 ml sprutor. Mängden glukossirap bestämdes enligt följande formel: hästens vikt i kg × 0,50 ml/kg = antal ml glukossirap. Glukossirapen (Dan Sukker, Nordic Sugar A/S, Copenagen, Denmark) administrerades per oralt med en 100 ml spruta. Mullen torkades med papper för att undvika kontamination med glukossirap. Provtagningen upprepades därefter i

10 minuters intervaller under totalt 180 minuter. Blodet överfördes till ett litiumheparinrör och var 30 minut dessutom till ett EDTA-rör. Rören centrifugerades inom 5 minuter, plasman överfördes till eppendorfrör och frystes sedan in i -80 °C för förvaring inför analys.

3.2.2. Provtagning vid isoglykemisk intravenös glukosinfusion

Ett infusionsaggregat (Infusomat® Space® Line Basic PVC) kopplades till en infusionspåse med glukos (Glukos Fresenius Kabi 500 mg/ml) och infusionsaggregatet spolades igenom. Därefter kopplades infusionsaggregatet till en infusionspump (Braun Infusomat® Space® Large Volume Pump, Braun) och kopplades till ena sidans permanentkateter. Ett nollprov togs från andra sidans permanentkateter

10 och 1 min innan infusionsstart. Fem eller 10 ml blod togs ut vid varje provtagningstillfälle efter att 7 ml blod dragits ut med en separat spruta och kasserats. Efter varje provtagning spolades kanylen med 10 ml NaCl-lösning (Natriumklorid Fresenius Kabi 9 mg/ml). Infusionen av glukos startades.

Provtagningen upprepades därefter i 10 minuters intervaller under totalt 180 minuter. Infusionshastigheten av glukos justerades så att glukoskoncentrationen i blodet efterliknade glukosresponskurvan som erhöles efter OGTT dagen innan.

Blodet överfördes till ett litiumheparinrör och var 30 minut dessutom till ett EDTA-rör. Rören centrifugerades inom 5 minuter, plasman överfördes till eppendorfrör och frystes sedan in i -80 °C för förvaring inför analys.

3.2.3 Analys av glukos & insulin

Mätning av blodglukosnivåerna gjordes i direkt anslutning till provtagningen innan centrifugering. Mätningen gjordes på helblod med en glukosmätare (AccuCheck Aviva, Roche Diagnostics Scandinavia AB, Bromma, Sweden).

Insulinkoncentrationerna analyserades i plasma, som erhöles från litiumheparinrör.

Plasman analyserades med en ELISA (Mercodia Equine Insulin ELISA, Mercodia AB, Uppsala, Sverige). Analysen genomfördes på kliniska vetenskapers laboratorium på SLU.

3.2.4. Bearbetning av data

All data presenteras deskriptivt. Arealen under kurvan (AUC) för glukos (AUC_t glukos och AUC_t insulin) och insulin beräknades enligt trapetsmetoden med GraphPad Prism 10 för tiden 0 – 180 minuter under OGTT och under isoglykemisk intravenös glukosinfusion. *Incremental* AUC för glukos (AUC_i glukos) och insulin (AUC_i insulin) beräknades genom att basresponsen (fasteprov för insulin eller glukos multiplicerat med 180 minuter) subtraherades från totala AUC för respektive parameter. Inkretineffekten beräknades i procent både som total och incremental enligt följande två formler:

- 1) $(OGTT AUC_t \text{ insulin} - IIGI AUC_t) / OGTT AUC_t \text{ insulin} \times 100$
- 2) $(OGTT AUC_i \text{ insulin} - IIGI AUC_i) / OGTT AUC_i \text{ insulin} \times 100$

4. Resultat

4.1 Basal- och maxkoncentrationer

Basal- och maxkoncentrationerna för insulin och glukos presenteras i tabell 2. Värden inom parentes visar det numeriska spannet inom gruppen. Differensen avser skillnaden mellan de två grupperna.

Hästarna med ID hade en högre basalkoncentration av glukos vid båda testerna jämfört med de friska hästarna (5,0 & 5,1 jämfört med 4,8 mmol/L). De hade även ett högre C_{\max} för glukoskoncentrationen jämfört med de friska hästarna (0,7 mmol/L skillnad vid OGTT och 0,1 mmol/L skillnad vid IIGI).

Basalkoncentrationen av insulin låg högre hos hästarna med ID än hos de friska hästarna. Där var differensen 14,9 mU/L vid OGTT och 44,9 mU/L vid IIGI. Även här var C_{\max} insulinkoncentrationen högre hos hästarna med ID. Den största differensen sågs vid OGTT där ID hästarnas C_{\max} medelvärde låg 218 mU/L högre än för de friska hästarna.

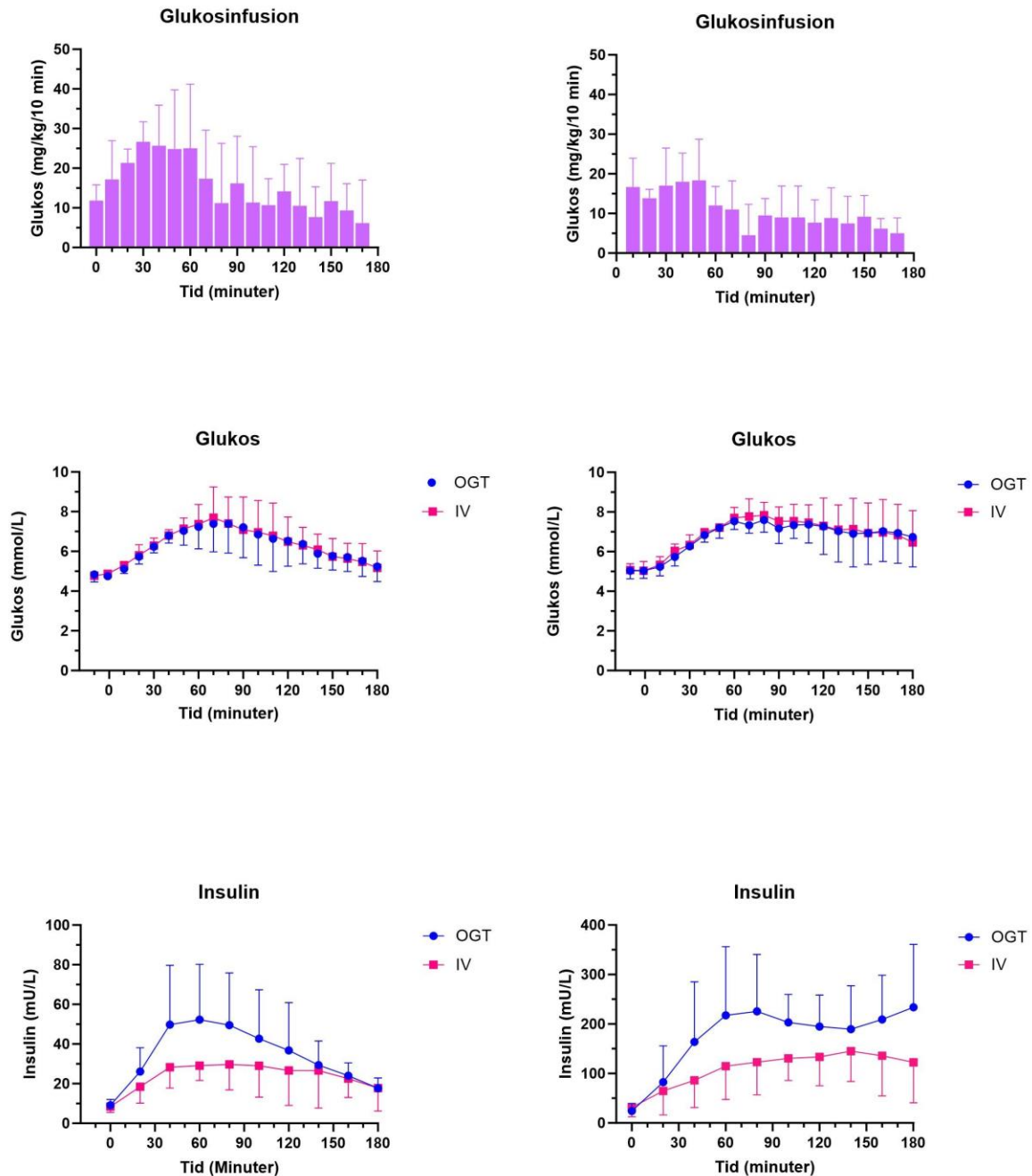
Samtliga hästar hade en högre C_{\max} insulin vid OGTT jämfört med vid den intravenösa infusionen.

4.2 Glukosinfusion

Glukosinfusionskurvorna som erhöles vid den isoglykemiska intravenösa infusionen presenteras i figur 1. Medelvärdet för den totala mängd glukos som behövde tillföras under 180 minuter för att imitera den glukoskurva som erhållit vid OGTT var 278,7 mg/kg för den friska gruppen. För den sjuka gruppen var medelvärdet 191,7 mg/kg.

4.3 Area under kurvan & responsdata

Figur 1. Grafer erhållna efter ett oralt glukostoleranstest (OGTT) och en isoglykemisk intravenös infusion (IIGI) för en grupp friska hästar och en grupp hästar med insulindysreglering (ID). Data presenteras som medelvärde \pm standardavvikelse. Graferna till vänster representerar de friska hästarna och graferna till höger hästarna med ID.



I tabell 2 presenteras AUC numeriskt för glukos- och insulinkurvorna. I figur 1 illustreras glukos- och insulinkurvorna som erhöles efter OGTT och den intravenösa infusionen för respektive grupp. Den glukoskurva som erhöles efter den

intravenösa infusionen var näst intill identisk med den som erhöles efter OGTT för respektive grupp. De kan därför benämnas som isoglykemiska.

AUC för glukos var större hos hästarna med ID jämfört med de friska hästarna. Både den totala och incrementala AUC för insulin var betydligt större för hästarna med ID. Den största differensen sågs vid OGTT där hästarna med IDs incrementala AUC låg 23 110,3 mU/L * min högre än de friska hästarna.

AUC för insulinkurvorna var större vid OGTT jämfört med den intravenösa infusionen för båda grupperna. Hästarna med ID hade en större AUC vid båda testerna jämfört med de friska hästarna.

Glukoskurvorna var likvärdiga mellan grupperna, den stora skillnaden sågs i att kurvan ej hann vända nedåt för grupp 2. Insulinkurvan för grupp 2 låg högre än för grupp 1 vid båda testerna. Det sågs en stor skillnad i insulinkurvorna från de olika testerna där den som erhöles från OGTT låg högre för båda grupperna.

4.4 Inkretineffekten

Inkretineffekten presenteras i tabell 2 både numeriskt och procentuellt för respektive grupp. Δ AUC avser skillnaden i AUC mellan OGTT och den isoglykemiska intravenösa infusionen.

Det var en större skillnad i AUC mellan testerna för de hästarna med ID (1878.7 för de friska hästarna respektive 12 091.3 för hästarna med ID). Det var även en större procentuell skillnad mellan testerna för hästarna med ID. För de friska hästarna beräknades inkretineffekten till 28,8 % totalt och 31,5 % incremental. För hästarna med ID beräknades inkretineffekten till 36,6 % totalt och 46,7 % incremental.

Tabell 2. Data erhållen efter ett oralt glukostoleranstest (OGTT) och en isoglykemisk intravenös glukosinfusion (IIGI) för en grupp på 6 friska hästar och en grupp på 3 hästar med insulin-dysreglering (ID). All data presenteras som medelvärden och variationsvidd inom parantes. Differensen avser skillnaden mellan grupperna. AUC (area under kurvan), C_{max} (Maxkoncentration), Δ (Skillnaden mellan testerna).

	FRISKA	ID	DIFFERENS
OGTT			
Fasteglukos (mmol/L)	4,8 (4,4-5,3)	5,0 (4,6-5,4)	0,2
C_{max} glukos (mmol/L)	7,4 (6,5-9,7)	8,1 (7,6-8,7)	0,7
Fasteinsulin (mU/L)	9,1 (5,9-13,9)	24,0 (13,59-41,7)	14,9
C_{max} insulin (mU/L)	52,3 (36,1-107,2)	270,9 (162,9-350,5)	218,6
AUC glukos (mmol/L*min)	1143,8 (1006-1321)	1236,0 (1128-1353)	92,2
AUC_t insulin (mU/L*min)	6479,8 (4211-9341)	32 299,0 (19 711-50 214)	25 819,2
AUC_i insulin (mU/L*min)	4861,0 (1842-7942)	27 971,3 (16 679,8-42 708)	23 110,3
IIGI			
Fasteglukos (mmol/L)	4,8 (4,4-5,3)	5,1 (4,7-5,3)	0,3
C_{max} glukos (mmol/L)	7,7 (6,7-10,0)	7,8 (7,5-8,8)	0,1
Fasteinsulin (mU/L)	8,5 (5,8-13,7)	53,4 (19,4-87,2)	44,9
C_{max} insulin (mU/L)	29,7 (24,8-60,7)	145,3 (113,8-217,9)	115,6
AUC glukos (mmol/L*min)	1153,5 (1020-1319)	1257,7 (1169-1371)	104,2
AUC_t insulin (mU/L*min)	4471,2 (3067-7749)	20 207,7 (13 563-32 087)	15 736,5
AUC_i insulin (mU/L*min)	2982,3 (1616-5283)	14 519 (10 071- 22 437,2)	11 536,7
INKRETINEFFEKT			
ΔAUC insulin (mU/L*min)	1878,7	12 091,3	10 212,6
AUC_t insulin (%)	28,8	36,6	7,8
AUC_i insulin (%)	31,5	46,7	15,2

5. Diskussion

Denna pilotstudie syftade till att undersöka hur stor inkretineffekten är och vilken betydelse den har för insulinfrisättningen hos friska hästar och hästar med insulindysreglering. Detta gjordes genom att mäta insulinsvaret efter ett OGTT och jämföra det med insulinsvaret efter en isoglykemisk intravenös infusion av glukos. Alla nio hästarna i studien hade ett kraftigare insulinsvar efter den orala givan av glukos jämfört med efter den intravenösa infusionen. Denna skillnad kan förklaras av inkretineffekten och frisättningen av inkretiner. Inkretineffekten var procentuellt och numeriskt större hos gruppen med insulindysreglering jämfört med hos den friska gruppen. Dessa resultat indikerar att hästar med insulindysreglering har en större inkretineffekt, med andra ord än större frisättning av GIP och GLP1, än friska hästar. Detta skulle kunna vara en del av förklaringen till den hyperinsulinemi som uppstår postprandiellt hos hästar som lider av ID.

5.1 Inkretineffekten

För att undersöka inkretineffekten jämfördes insulinresponsen efter ett OGTT med insulinresponsen efter en isoglykemisk intravenös glukosinfusion. Alla de sex hästar som ingick i den friska gruppen hade en högre insulinfrisättning vid OGTT jämfört med när glukos administrerades intravenöst. Detta sågs både numeriskt som en skillnad i AUC mellan testerna och procentuellt. Den totala inkretineffekten för dessa hästar beräknades till 28,8 % och 31,5 % incrementalt. Detta kan jämföras med studier som gjorts på friska människor där den incrementala inkretineffekten beräknats till ca 73 % (Nauck *et al.* 1986). I gruppen med insulindysreglerade hästar sågs också en högre insulinfrisättning vid OGTT, både numeriskt och procentuellt. Inkretineffekten beräknades till 36,6 % totalt och 46,7 % incrementalt, vilket indikerar att dessa hästar har en större inkretineffekt än gruppen med friska hästar. I samma humanstudie av Nauck *et al.* beräknades inkretineffekten för människor med diabetes mellitus typ II till 36 %. Till skillnad från människor med ID där inkretineffekten är reducerad indikerar resultaten att inkretineffekten är större hos hästar med ID.

Trots att de finns evidens för att hästar med ID har en större inkretineffekt uppmättes det i en studie en liten skillnad i koncentration av GLP-1 mellan friska och sjuka hästar (Chameroy *et al.* 2010). Detta skulle kunna indikera att det finns

en dålig överensstämmelse mellan koncentrationen av inkretiner och inkretin-effekten.

Det har diskuterats att en större inkretineffekt är en del av patofysiologin bakom den hyperinsulinemi som ses hos hästar med ID (de Laat *et al* 2016). Detta skulle potentiellt kunna bana väg för nya behandlingsalternativ för att kontrollera insulinnivåerna hos dessa hästar. Inom humanmedicinen används redan inkretiner som en del av behandlingen för människor med diabetes mellitus typ II (Ahrén 2011). De former av behandling som finns idag består av en GLP-1 receptor agonist samt en DPP-4 inhibitor. GLP-1 receptor agonisterna har visats ha god förmåga att sänka de basala och postprandiella glukosnivåerna hos diabetiker samt hjälpa till med viktnedgång. DPP-4 är ett enzym som inaktiverar GLP-1 och genom att inhibera enzymet förlängs det endogena GLP-1s verkningsstid. Man kan tänka sig att denna kunskap kan användas för att utveckla läkemedel med motsatt effekt för hästar med ID.

Exendin- (9,39) har visats fungera som en komparativ antagonist på GLP-1 receptorn (Stirra *et al.* 1998). Detta skulle i teorin kunna användas för att sänka insulinnivåerna vilket också har visats i praktiken inom humanmedicinen (Sathanathan *et al.* 2013). Huruvida detta potentiellt skulle kunna användas för att sänka insulinnivåerna hos hästar återstår att forskas på.

5.2 Glukos- & insulinkurvor

Det fanns en del skillnader mellan den friska och den sjuka gruppen i de glukos- och insulinkurvor som erhöles efter OGTT och den intravenösa infusionen. Den sjuka gruppen krävde generellt en mindre tillförsel av glukos intravenöst för att imitera den kurva som erhöles vid OGTT jämfört med den friska gruppen. Detta skulle kunna förklaras av att den sjuka gruppen lider av insulinresistens, som är en del av ID. Då vävnaden inte kan ta upp samma mängd glukos stannar en större mängd glukos i blodet till skillnad från den friska gruppen där glukoset tas upp i vävnaden och försvinner ifrån blodet.

Den friska och sjuka gruppen låg på ungefär samma glukosnivåer vid båda testerna. Detta stämmer överens med tidigare forskning där det konstaterats att hyperglykemi sällan ses hos hästar med ID då de kan kompensera genom att producera mer insulin (Frank *et al.* 2010). Den skillnad som sågs i glukoskurvorna var att de friska hästarna snabbare gick tillbaka till baseline jämfört med hästarna med ID. Detta kan förklaras av att β -cellerna ej fungerar optimalt hos hästarna med ID och inte kan anpassa insulinfrisättningen lika snabbt.

I båda testerna låg insulinkurvorna hos de sjuka hästarna högre än hos de friska hästarna. Hyperinsulinemi är en del av det som definierar ID hos hästar och är också ett sätt att upptäcka ID. I studier där man studerat skillnader i insulinnivåer hos friska och sjuka hästar har man sett samma skillnad (Macon *et al.* 2021).

5.3 Försöksupplägg & provtagning

Studien utfördes delvis på privatägda hästar och delvis på hästar som tillhör Kliniska vetenskaper, SLU. Alla hästarna var uppstallade på SLU vid försökstillfället och följde i största möjliga mån samma rutiner under försöksperioden. Detta minskar risken att skillnader i rutiner har inverkat på resultatet. Det förekom dock vissa skillnader mellan de friska hästarna och de med ID som kan ha påverkat resultatet. Den friska gruppen som tillhör SLU följde vid försöket samma rutiner som de normalt sett har och vistades i deras hemmiljö, vilket minskar risken för stress. Den sjuka gruppen följde inte samma rutiner som de har hemma och vistades inte i sin hemmamiljö vilket kan ha gett upphov till stress som påverkar glukos- och insulinnivåerna.

Ett av testen som utfördes under försöket var ett OGTT. Vid ett OGTT administrerades glukossirap i munnen genom en spruta. Metoden utgör en risk för spill då det är lätt att glukos hamnar utanför munnen. Detta kan ha bidragit till att glukosmängden hästarna har fått i sig ej är exakt den mängd som var uträknad för dem. För att försöka eliminera denna felkälla kompensterades eventuellt spill med samma mängd glukossirap. Då vissa individer var mer skeptiska än andra kan tiden för administrering ha varierat.

Det andra testet som utfördes var en isoglykemisk intravenösa glukosinfusion. Infusionshastigheten ändrades utifrån hästarnas blodglukosnivåer för att matcha den glukoskurva som erhållits efter OGTT. Då det ej gick att förutspå hur glukosnivåerna skulle förändras efter ändringarna som skedde i infusionshastigheten fanns det en viss skillnad i glukoskurvorna mellan OGTT och den intravenösa infusionen. Detta kan ha inverkat på insulinsvaret som uppmättes vid de olika glukosvärdena. Dessa skillnader är dock så små att de inte kommer att ha någon praktisk betydelse för resultaten.

I denna studie användes varmblodiga travare och kallblod/ponnysar för att studera skillnaden i inkretineffekt mellan hästar med och utan ID. Det hade även varit intressant att studera hur inkretineffekten skiljer sig mellan olika raser och mellan hästar med olika aktivitetsnivåer. Studier har visat att det finns skillnad i insulinsensitivitet hos vissa hästraser (Bamford 2014). Insulinsensitiviteten kan även påverkas av ex. motion (Stewart- Hunt 2010). Hur insulinsensitivitet relaterar till inkretineffekten är ej undersökt hos hästar men hade potentiellt kunnat vara en faktor som påverkar utsöndringen av inkretiner.

För ett ännu mer tillförlitligt resultat bör studien utföras på en större grupp där det även går att jämföra inkretineffekten mellan hästar i olika stadier av ID. Det hade också varit av värde att mäta GIP- och GLP-1-nivåerna i blodet för att se exakt hur stor inkretinfrisättningen är hos de olika grupperna och hur väl koncentrationen av inkretiner stämmer överens med inkretineffekten.

Konklusion

Samtliga hästar i studien hade en högre insulinfrisättning efter oral administrering av glukos jämfört med efter intravenös administrering. Detta kan förklaras av frisättning av inkretiner från tarmarna, vilket stimulerar sekretion av insulin från betacellerna i pankreas, s.k. inkretineffekten. Resultaten indikerar att inkretineffekten finns hos hästar och spelar en roll i insulinfrisättningen vid oralt intag av näringsämnen. Gruppen med ID hästar hade en större inkretineffekt jämfört med den friska gruppen, vilket talat för att inkretinfrisättningen spelar en större roll hos hästar med ID. Detta skulle potentiellt kunna ligga till grund för nya behandlingsalternativ för att kontrollera insulinnivåerna hos dessa hästar.

Referenser

- Ahrén, B., 1998, Glucagon-like peptide-1 (GLP-1): A gut hormone of potential interest in the treatment of diabetes. *Bioessays*, 20: 642–651. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-1878\(199808\)20:8<642::AID-BIES7>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-1878(199808)20:8<642::AID-BIES7>3.0.CO;2-K)
- Alberti, K.G.M.M., Zimmet, P.Z., 1998. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabetic Medicine*, 15, 539–553. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9136\(199807\)15:7<539::AID-DIA668>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9136(199807)15:7<539::AID-DIA668>3.0.CO;2-S)
- American Diabetes Association, 1969. Standardization of the oral glucose tolerance test: Report of the Committee on Statistics of the American Diabetes Association, June 14, 1968. *Diabetes*, 18, 299–310. <https://doi.org/10.2337/diab.18.5.299>
- 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, 530–535. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.003>
- Bailey, C.J., Turner, R.C., 1996. Metformin. *New England Journal of Medicine*, 334, 574–579. <https://doi.org/10.1056/NEJM199602293340906>
- 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>
- Baxter, G.M., Morrison, S., 2008. Complications of unilateral weight bearing. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 24, 621–642. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2008.10.006>
- Belknap, J.K., Parks, A.H., 2017. Laminitis associated with acute abdominal disease. I: *The Equine Acute Abdomen*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 639–662. <https://doi.org/10.1002/9781119063254.ch49>
- Butler, A.E., Janson, J., Bonner-Weir, S., Ritzel, R., Rizza, R.A., Butler, P.C., 2003. β -cell deficit and increased β -cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes*, 52, 102–110. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.1.102>
- Carter, R.A., Treiber, K.H., Geor, R.J., Douglass, L., Harris, P.A., 2009. Prediction of incipient pasture-associated laminitis from hyperinsulinaemia, hyperleptinaemia and generalised and localised obesity in a cohort of ponies. *Equine Veterinary Journal*, 41, 171–178. <https://doi.org/10.2746/042516408X342975>
- Colmer, S.F., Adams, A.A., Adam, E., Miller, R., Stefanovski, D., Kulp, J.C., van Eps, A., (2024). The effect of pre-dosing with metformin on the insulin response to oral sugar in

- insulin-dysregulated horses. *Equine Veterinary Journal*, 56 (2), 318-325. doi: 10.1111/evj.13979
- de Laat, M.A., Fitzgerald, D.M., 2023. Equine metabolic syndrome: Role of the enteroinsular axis in the insulin response to oral carbohydrate. *The Veterinary Journal*, 294, 105967. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2023.105967>
- 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, 129–135. <https://doi.org/10.2746/042516409X475779>
- de Laat, M.A., Sillence, M.N., 2023. Diagnosis of equine endocrinopathies: The value of measuring blood glucose during an oral glucose test. *The Veterinary Journal*, 300 302, 106034. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2023.106034>
- Drucker, D.J., 2006. The biology of incretin hormones. *Cell Metabolism*, 3, 153–165. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.01.004>
- Durham, A.E., 2011. Equine metabolic syndrome: the issues. *Equine Health*, 2011, 30–34. <https://doi.org/10.12968/eqhe.2011.1.2.30>
- 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, 335–349. <https://doi.org/10.1111/jvim.15423>
- Durham, A.E., Rendle, D.I., Newton, J.R., 2008. The effect of metformin on measurements of insulin sensitivity and β cell response in 18 horses and ponies with insulin resistance. *Equine Veterinary Journal*, 40, 493–500. <https://doi.org/10.2746/042516408X273648>
- Firshman, A.M., Valberg, S.J., 2007. Factors affecting clinical assessment of insulin sensitivity in horses. *Equine Veterinary Journal* 39, 567–575. <https://doi.org/10.2746/042516407X238512>
- Frank, N., 2009. Equine metabolic syndrome. *Journal of Equine Veterinary Science*, 29, 259–267. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2009.04.183>
- Frank, N., Geor, R.J., Bailey, S.R., Durham, A.E., Johnson, P.J., 2010. Equine metabolic syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24, 467–475. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0503.x>
- Frank, N., Tadros, E.M., 2014. Insulin dysregulation. *Equine Veterinary Journal*, 46, 103–112. <https://doi.org/10.1111/evj.12169>
- Holst, J.J., Knop, F.K., Vilsbøll, T., Krarup, T., Madsbad, S., 2011. Loss of incretin effect is a specific, important, and early characteristic of type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 34, S251–S257. <https://doi.org/10.2337/dc11-s227>
- Johnson, P.J., 2002. The equine metabolic syndrome: Peripheral Cushing's syndrome. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 18, 271–293. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(02\)00006-8](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(02)00006-8)
- Kahn, S.E., 2001. The importance of β -cell failure in the development and progression of type 2 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86, 4047–4058. <https://doi.org/10.1210/jcem.86.9.7713>

- Kahn, S.E., Hull, R.L., Utzschneider, K.M., 2006. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, 444, 840–846. <https://doi.org/10.1038/nature05482>
- 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, 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2011.05.004>
- Kellon, E., Gustafson, K., 2022. Use of the SGLT2 inhibitor canagliflozin for control of refractory equine hyperinsulinemia and laminitis. *Open Veterinary Journal*, 12, 511. <https://doi.org/10.5455/OVJ.2022.v12.i4.14>
- Kelly A. Chameroy, Nicholas Frank, Sarah B. Elliott, Raymond C., 2016. Comparison of plasma active glucagon-like peptide 1 concentrations in normal horses and those with equine metabolic syndrome and in horses placed on a high-grain diet. *Journal of Equine Veterinary Science*, 40, 16-25, <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2016.01.009>.
- Macon, E.L., Harris, P., Bailey, S., Barker, V.D., Adams, A., 2022. Postprandial insulin responses to various feedstuffs differ in insulin dysregulated horses compared with non-insulin dysregulated controls. *Equine Veterinary Journal*. 54, 574–583. <https://doi.org/10.1111/evj.13474>
- McGowan, C.M., Dugdale, A.H., Pinchbeck, G.L., Argo, C.McG., 2013. Dietary restriction in combination with a nutraceutical supplement for the management of equine metabolic syndrome in horses. *The Veterinary Journal*, 196, 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.10.007>
- Menzies-Gow, N.J., Stevens, K.B., Sepulveda, M.F., Jarvis, N., Marr, C.M., 2010. Repeatability and reproducibility of the Obel grading system for equine laminitis. *Veterinary Record*, 167, 52–55. <https://doi.org/10.1136/vr.c3668>
- Nauck, M., Stöckmann, F., Ebert, R., Creutzfeldt, W., 1986. Reduced incretin effect in Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia*, 29, 46–52. <https://doi.org/10.1007/BF02427280>
- Parsons, C.S., Orsini, J.A., Krafty, R., Capewell, L., Boston, R., 2007. Risk factors for development of acute laminitis in horses during hospitalization: 73 cases (1997– 2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 230, 885–889. <https://doi.org/10.2460/javma.230.6.885>
- Patterson-Kane, J.C., Karikoski, N.P., McGowan, C.M., 2018. Paradigm shifts in understanding equine laminitis. *The Veterinary Journal*, 231, 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.11.011>
- Perley, M.J., Kipnis, D.M., 1967. Plasma insulin responses to oral and intravenous glucose: studies in normal and diabetic subjects. *Journal of Clinical Investigation*, 46, 1954–1962.
- Petersen, M.C., Shulman, G.I., 2018. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiological Reviews*, 98, 2133–2223. <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017>
- Pollitt, C.C., 2004. Equine laminitis. *Clinical Techniques in Equine Practice* 3, 34–44. <https://doi.org/10.1053/j.ctep.2004.07.003>
- Rosenwasser, R.F., Sultan, S., Sutton, D., Choksi, R., Epstein, B.J., 2013. SGLT-2 inhibitors and their potential in the treatment of diabetes. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 6, 453–467. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S34416>

- Sathananthan, M., Farrugia, L.P., Miles, J.M., Piccinini, F., Dalla Man, C., Zinsmeister, A.R., Cobelli, C., Rizza, R.A., Vella, A., 2013. Direct effects of exendin-(9,39) and GLP-1-(9,36)amide on insulin action, β -cell function, and glucose metabolism in nondiabetic subjects. *Diabetes*, 62 (8), 2752–2756. <https://doi.org/10.2337/db13-0140>
- Schirra, J., Sturm, K., Leicht, P., Arnold, R., Göke, B., Katschinski, M., 1998. Exendin(9-39)amide is an antagonist of glucagon-like peptide-1(7-36)amide in humans. *Journal of Clinical Investigation*, 101 (7), 1421-30. doi: 10.1172/JCI1349. PMID: 9525985; PMCID: PMC508720.
- Stewart-Hunt, L., Geor, R.J., McCutcheon, L.J., 2006. Effects of short-term training on insulin sensitivity and skeletal muscle glucose metabolism in Standardbred horses. *Equine Veterinary Journal*, 38, 226–232. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2006.tb05544.x>
- Van Eps, A., Collins, S.N., Pollitt, C.C., 2010. Supporting limb laminitis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 26, 287–302. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.06.007>
- van EPS, A.W., Pollitt, C.C., 2006. Equine laminitis induced with oligofructose. *Equine Veterinary Journal*, 38, 203–208. <https://doi.org/10.2746/042516406776866327>
- WHO 1999. Metabolic syndrome. I: *Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. World Health Organization. [WWW Document], URL https://www.staff.ncl.ac.uk/philip.home/who_dmc.htm#MetabSynd [accessed 9.12.23]
- Wilcox, G., 2005. Insulin and insulin resistance. *Clinical Biochemist. Reviews*, 26, 19–39.

Populärvetenskaplig sammanfattning

Insulin är ett hormon som produceras i bukspottkörteln och som kontrollerar koncentrationen av glukos i blodet och kroppens celler. När insulin binder till cellerna i kroppen fungerar det som en nyckel som öppnar dörren för glukos, vilket gör att det kan tas upp ifrån blodet och används som energi.

Insulindysreglering är ett tillstånd där kroppen inte svarar som den ska på insulin vilket leder till olika konsekvenser. Hos hästar ses insulindysreglering som en del av EMS (ekvint metabolt syndrom), en hormonell sjukdom hos hästar som ökar risken för utveckling av fång. Dessa hästar lider av insulinresistens, vilket innebär att kroppens celler inte längre är känsliga för insulin och dess effekter. Detta leder till att bukspottkörteln måste producera mer insulin för att kompensera tills det når en nivå där cellerna svarar på insulinet. Detta leder till för höga nivåer av insulin i blodet.

För höga insulinnivåer hos hästar har i studier visats kunna leda till utvecklingen av fång. Fång är en sjukdom som drabbar den vävna som sammanbinder hovbenet och hovkapseln. Detta är ett mycket smärtsamt tillstånd, som i värsta fall kan bli kroniskt och som kan leda till att hovbenet ändrar läge.

I studier på människor har man sett att kroppen producerar mer insulin när man äter socker jämfört när man får socker direkt i blodet. Detta kan förklaras av den så kallade inkretineffekten. Inkretiner är hormoner som produceras i tarmarna när man äter. Dessa hormoner stimulerar bukspottkörteln att frisätta mer insulin för att förbereda för att det kommer mer glukos till blodet. I andra humanstudier har man sett att människor som lider av diabetes mellitus typ II, i folkmun kallat ”sockersjukan”, har en mindre eller en helt frånvarande inkretineffekt. Detta bidrar till att de inte producerar tillräckligt med insulin, vilket leder till skadligt höga nivåer av glukos i blodet.

Det har diskuterats hur stor inkretineffekten är hos hästar och vilket betydelse den har för insulinfrisättningen hos hästar med ID. Detta är dock sparsamt studerat i praktiken. Denna studie syftade därför till att undersöka hur stor inkretineffekten är och vilken betydelse den har hos friska hästar och hos hästar med ID.

Nio hästar deltog i studien varav sex av dem var friska och tre var diagnosticerade med ID. Hästarna genomgick två tester, ett test där de fick glukos direkt i munnen

och ett där de fick glukos direkt i blodet. Därefter mättes insulinnivåerna i blodet för att jämföra och se skillnaden mellan testerna.

Resultatet visade att både de sjuka och friska hästarna producerade mer insulin när de fick glukos i munnen jämfört med när de fick det i blodet. Detta kan förklaras av frisättningen av inkretiner och inkretineffekten. Den sjuka gruppen hade en större inkretineffekt än den friska gruppen, vilket skulle kunna vara en del i förklaringen till att de producerar för mycket insulin. Försöket kommer att dock att behöva upprepas på fler hästar innan definitiva slutsatser kan dras.

Tack

Sanna & Johan, för ert engagemang och fantastiska handledning. Jag är så tacksam att jag fått jobba ihop med just *er*.

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-ochpublicera/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.