



Långtidsbehandling av insulindysreglerade hästar med SGLT2-hämmare

Anna Bernström

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

Uppsala 2024



Långtidsbehandling av insulindysreglerade hästar med SGLT2-hämmare

Long-term treatment of insulin dysregulated horses using SGLT2 inhibitors

Anna Bernström

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

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

Examinator: Cecilia Müller, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens utfodring och vård

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

Omslagsbild: Fotografi taget av Anna Bernström

Upphovsrätt: Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.

Nyckelord: ekvint metabolt syndrom, insulinresistens, hyperinsulinemi, kanagliflozin, långtidseffekt

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Ekvint metabolt syndrom (EMS) är en relativt ny men vanligt förekommande diagnos som innefattar riskfaktorer som predisponerar för fång. Fång är en förödande sjukdom för många hästar och leder inte sällan till avlivning. Den riskfaktor som i nuläget anses mest betydande för utvecklandet av fång är insulindysreglering, vilket inkluderar insulinresistens och hyperinsulinemi. Hyperinsulinemi tros direkt kunna framkalla fång, varför det inom dagens fångrelaterade forskning ligger mycket fokus på att sänka samt förebygga utvecklandet av för höga insulinnivåer i blodet. Hästar med EMS behandlas generellt konservativt med förändringar av diet och livsstil, men för de fall där detta inte räcker till finns förhoppningar om kompletterande medicinsk behandling.

Det läkemedel som i dagläget anses ha störst potential är så kallade natrium-glukos-ko-transportör 2-hämmare (SGLT2-hämmare). Det är ett läkemedel som används mycket inom humanvården på människor med *diabetes mellitus*. Läkemedlet minskar blodglukoskoncentrationerna genom att inhibera återupptaget av glukos från primärurinen och således orsaka glukosuri. Förhoppningen inom EMS-forskningen har varit att den sänkta halten blodglukos ska leda till en lägre insulinkoncentration i blodet. De korttidsstudier som gjorts med SGLT2-hämmare på hästar har visat att läkemedlet framkallat anmärkningsvärda sänkningar av både glukos- och insulinnivåerna.

I denna studie valdes fem insulindysreglerade hästar ut från en större studie för att undersöka läkemedlets effekt efter behandling i ett och två år. Syftet var att undersöka huruvida läkemedlets påverkan på hästarnas glukos- och insulinnivåer bibehölls över tid. Vid provtagningstillfällena (före behandling, efter ett år samt efter två år) vägdes hästarna och bedömning av generellt hull samt fettinlagring i mankammen (så kallad fettack) utfördes. Både oralt glukostoleranstest (OGT) och fodertoleranstest (MTT) utfördes därefter. Vid studiens start samt efter två års behandling gjordes även en graderad glukosinfusion (GGI) för att bedöma förändring av β -cellernas funktion i pankreas.

De resultat som erhöles tydde på en fortsatt god effekt av läkemedlet även vid långtidsbehandling. Viktminskning samt lägre hull- och fettackpoäng noterades, liksom kortare duration av postprandiellt glukos- och insulinsvar samt ett minskat totalt glukos- och insulinsvar vid OGT. Vid flera av mätningarna sågs en mindre tillbakagång mot startvärdena mellan år ett och två, dock var denna ofördelaktiga förändring statistiskt säkerställd endast för total insulinkoncentration vid MTT. Vid den sammanvägda tolkningen av resultaten hölls det i åtanke att denna förändring verkade vara orsakad av en outlier, att det vid MTT används foder som ej analyserats inom studien och att det därmed kan finnas stora variationer i hur mycket socker hästarna fick i sig vid provtagningen, samt att det totala insulinsvaret vid OGT var bibehållet förändrad. Således tolkades resultaten trots förändringen som att läkemedlet fortsatt hade god effekt efter både ett och två år. Resultaten från GGI visade också en förbättring av β -cellernas funktion, vilket kan tänkas innebära att SGLT2-hämmare påverkade insulinnivåerna inte enbart genom blodglukossänkning, men även genom direkt eller indirekt påverkan på pankreas β -celler. Resultaten styrker det som tidiga korttidsstudier kommit fram till och tyder på att läkemedlet kan fungera som en adekvat långtidsbehandling av EMS, dock är fler långtidsstudier med en mer omfattande kontroll av diet och skötselrutiner av intresse.

Nyckelord: ekvint metabolt syndrom, insulinresistens, hyperinsulinemi, kanagliflozin, långtidseffekt

Abstract

Equine metabolic syndrome (EMS) is a relatively new but commonly occurring diagnosis which is comprised of predisposing risk factors for laminitis. Laminitis is a devastating condition for many horses and does not infrequently lead to euthanasia. The risk factor currently regarded as the top contributor to the development of laminitis is insulin dysregulation, which includes insulin resistance and hyperinsulinemia. Hyperinsulinemia is believed to have the ability to directly cause laminitis, and therefore the focus in today's laminitis related research is on reducing and preventing the development of elevated insulin levels in the blood. Horses diagnosed with EMS are generally treated conservatively with changes in diet and lifestyle, but in cases where this is insufficient, a complementary medicinal treatment may be an option.

The drug currently considered to have the highest potential is the so-called sodium glucose linked transporter 2 inhibitor (SGLT2-inhibitor), a drug commonly used in human medicine to combat *diabetes mellitus*. The drug decreases the blood glucose levels by inhibiting the reabsorption of glucose from the primary urine, thereby causing glucosuria. The hypothesis in EMS research has been that reduced blood glucose levels would result in a lower insulin concentration in the blood. Results from short-term studies conducted on horses treated with SGLT2 inhibitors have shown reductions in both glucose and insulin levels across all studies.

For this study, five insulin dysregulated horses were selected from a larger study to investigate the effect of the medication after one and two years of treatment, with the hypothesis that there was a maintained impact of the drug on the blood glucose and insulin levels. During sampling sessions (before treatment, after one year and after two years), the horses were weighed and their body condition score (BCS) and cresty neck score (CNS) were assessed, after which an oral glucose tolerance test (OGT) and a meal tolerance test (MTT) were conducted. At the beginning of the study period and after two years of treatment an additional graded glucose infusion test (GGI) was conducted to assess changes in β -cell function.

The results showed that the drug was likely to remain effective in long-term treatment protocols. Weight loss as well as lower BCS and CNS scores were noted, along with shorter duration of the postprandial glucose and insulin response and lower total response in the OGT. In many of the measurements, a minor regression towards baseline values was noted between year one and two, however, this unfavourable change was only present for total insulin response in the MTT. When interpreting the results, it was taken into consideration that the increase may be caused by presence of an outlier, that the feed used in the MTT was not analyzed within the study, enabling the possibility that the intake of glucose varied between horses, and that the total insulin response in the OGT was unchanged between year one and two. Therefore, the results were interpreted as indicating that the drug continued to have a positive effect after both one and two years. The results of the GGI also showed an improvement of β -cell function, which could mean that SGLT2-inhibitors affects insulin levels not only through lowered blood glucose, but through influence on pancreatic β -cells as well. The findings in this study corroborate earlier short-term studies and indicate that the drug could be used as an adequate long term treatment option for horses with EMS, however further long-term studies with more comprehensive control of diet and management practices are of interest.

Keywords: equine metabolic syndrome, insulin resistance, hyperinsulinemia, canagliflozin, long-term effect

Innehållsförteckning

Tabellförteckning	9
Figurförteckning.....	10
Förkortningar	11
1. Inledning	13
2. Litteraturoversikt.....	14
2.1 Ekvint Metabolt Syndrom	14
2.1.1 Insulindysreglering.....	15
2.1.2 Obesitas i relation till insulindysreglering och fång.....	15
2.1.3 Fång.....	16
2.1.4 Diagnostik och monitorering av ekvint metabolt syndrom	18
2.1.5 Behandlingsprinciper	19
2.2 SGLT2-funktion	20
2.2.1 SGLT2-hämmare	21
2.2.2 Resultat vid korttidsstudier på häst.....	21
3. Material och metod	24
3.1 Hästar.....	24
3.2 Försöksupplägg.....	24
3.2.1 Oralt glukostoleranstest	25
3.2.2 Fodertoleranstest.....	26
3.2.3 Graderad Glukosinfusion	26
3.3 Analyser och bearbetning av data	27
4. Resultat	28
4.1 Kroppsvikt samt bedömning av hull och fettacka.....	28
4.2 Glukos- och insulinsvar vid oralt glukostoleranstest och fodertoleranstest	29
4.3 Graderad glukosinfusion	30
5. Diskussion	32
5.1 Kroppsvikt samt bedömning av hull och fettacka.....	32
5.2 Glukos- och insulinsvar vid oralt glukostoleranstest och fodertoleranstest	33
5.3 Graderad Glukosinfusion	35
Konklusion.....	36

Referenser	37
Populärvetenskaplig sammanfattning	43
Tack	45

Tabellförteckning

Tabell 1. Grundinformation (ras, kön, ålder) om de hästar som ingick i studien samt förekomst av fång hos hästarna innan studiens start	24
Tabell 2. Förändring i kroppsvikt i kilogram hos hästarna under studietiden. Vikt ₀ är hästens vikt vid studiens start, Vikt ₁ är hästens vikt efter ett års medicinering och Vikt ₂ är hästens vikt efter två års medicinering. Tabellen visar även den procentuella förändringen i kroppsvikt i förhållande till startvikten efter ett (Δ Vikt ₀₋₁) respektive två (Δ Vikt ₀₋₂) år	28
Tabell 3. Förändring i body condition score (BCS) och cresty neck score (CNS) vid start (BCS ₀ , CNS ₀), efter ett år (BCS ₁ , CNS ₁) samt efter två år (BCS ₂ , CNS ₂) hos samtliga hästar i studien	29

Figurförteckning

- Figur 1. Grafer som visar glukos- samt insulinsvar över 240 minuter efter oralt glukostoleranstest (OGT) och fodertoleranstest (MTT). Figur 1A visar glukosrespons efter OGT, figur 1B visar insulinrespons efter OGT, figur 1C visar glukosrespons efter MTT och figur 1D visar insulinrespons efter MTT. Varje punkt representerar medelvärde \pm standardavvikelse för de 5 hästar som deltog i studien. 29
- Figur 2. Grafer som visar arean under kurvan (AUC) för glukos och insulin vid oralt glukostoleranstest (OGT) och fodertoleranstest (MTT) för samtliga hästar i studien enligt följande: Figur 2A) AUC för glukos vid OGT, Figur 2B) AUC för insulin vid OGT, Figur 2C) AUC för glukos vid MTT och Figur 2D) AUC för insulin vid MTT. Varje punkt representerar en häst, horisontella svarta streck representerar medelvärdet för hela gruppen vid varje tidpunkt. Data med olika bokstäver inom ett diagram är visat statistiskt säkerställda skillnader vid $p < 0,05$ 30
- Figur 3. Graf som visar β -cellsvar i form av lutningskoefficienter från dos-responskurvor mellan plasmaglukos och plasmainsulin hos hästar före och efter två års behandling med kanagliflozin. Varje punkt i en kolumn representerar en häst. Den svarta horisontella linjen visar medelvärdet. Stjärna indikerar statistiskt säkerställd skillnad ($p < 0,05$) mellan undersökningstillfällena. 31

Förkortningar

AUC	Arean under kurvan
EMS	Ekvint metabolt syndrom
DM	Diabetes mellitus
ID	Insulindysreglering
MTT	Meal Tolerance Test, Fodertoleranstest
NSC	Non Structural Carbohydrates
OGT	Oralt Glukostoleranstest
PPID	Pituitary Pars Intermedia Dysfunction
SGLT	Sodium-Glucose Linked Transporter, Natrium-Glukos-Ko-transportör

1. Inledning

Insulindysreglering, en obalans i glukos- och insulinmetabolismen som främst uttrycks som insulinresistens och hyperinsulinemi, anses idag vara en av de främsta orsakerna till utvecklandet av fång (Patterson-Kane *et al.* 2018). Fång är en av de mest välkända och vanligast förekommande åkommorna som drabbar hästar världen över, och trots många års dedikerad forskning anses det fortfarande vara en svårhanterbar sjukdom som kan få förödande konsekvenser. Sjukdomen är mycket smärtsam och kan orsaka så stora skador på hovarna att den drabbade hästen behöver avlivas.

Den stora majoriteten av de hästar som drabbas av fång lider av en underliggande endokrinopati som orsakar en störd glukos- och insulinmetabolism (Karikoski *et al.* 2011). Insulindysreglering och andra faktorer som predisponerar för endokrinologiskt orsakad fång samlas numera ihop i ett sjukdomskomplex benämnt ekvint metabolt syndrom (EMS). Då det än så länge inte finns fullgoda medicinska behandlingsalternativ, behandlas EMS vanligen enbart konservativt genom förändringar i diet och livsstil. Ibland räcker dock inte dessa förändringar till för att förebygga fång, varför man nu letar efter en kompletterande medicinsk behandling.

Ett av de nyare rönen inom EMS-forskningen är behandling med natrium-glukosko-transportör 2-hämmare (SGLT2-hämmare), ett blodglukossänkande läkemedel som hittills främst använts för att motverka *diabetes mellitus* typ 2 inom humanvården. Läkemedlet verkar genom att öka utsöndringen av glukos i urinen, och med hjälp av den minskade glukoskoncentrationen i blodet hoppas man också kunna sänka insulinnivåerna. Inledande korttidsstudier har visat överväldigande goda resultat på häst (Meier *et al.* 2018; Kellon & Gustafson 2022; Sundra *et al.* 2022), men studier om läkemedlets effekt, biverkningar och andra farmakodynamiska egenskaper under ett längre tidsperspektiv saknas.

Denna studies syfte var att undersöka om effekten av behandling med SGLT2-hämmare var konstant över en längre tid hos hästar genom att jämföra koncentrationerna av blodglukos och insulin vid behandlingsstart, efter 12 månader samt efter 24 månader.

2. Litteraturöversikt

2.1 Ekvint Metabolt Syndrom

Ekvint metabolt syndrom (EMS) är ett relativt nytt begrepp inom veterinärmedicinen och beskriver en av de vanligaste endokrinopatierna man ser hos häst idag. Begreppet EMS definieras som ett sjukdomskomplex eller en samling riskfaktorer, som predisponerar för endokrinologiskt orsakad fång. Riskfaktorerna som ingår i komplexet är i huvudsak insulindysreglering (innefattande insulinresistens och hyperinsulinemi) och en fenotyp med generell obesitas med eller utan regionala fettansättningar, men även rubbad glukos- och fettmetabolism samt klinisk eller subklinisk fång kan inkluderas (Frank *et al.* 2010; Morgan *et al.* 2015). Inkludering av ytterligare faktorer såsom hyper- eller dystriglyceridemi, hyperleptinemi, arteriell hypertension, störd reproduktionscykel samt ökade inflammationsmarkörer har också föreslagits (Frank *et al.* 2010). De faktorer som Frank *et al.* (2010) nämnde har alla påvisats hos hästar med EMS, men anses förekomma inkonsekvent (Durham *et al.* 2019) och ingår i dagens läge inte i någon officiell definition av begreppet.

Den typiska kliniska bilden som ses vid fall av EMS är lättfödda hästar som ofta har en sjukdomstypisk obesitas med regionala fettansättningar (Frank *et al.* 2010). Den vanligaste lokaliseringen för dessa fettansättningar är vid mankammen, så kallad "fettnacke", men de kan även ses bakom bogbladen, vid manken och runt svansroten. Det finns troligtvis en genetisk predisposition för EMS då sjukdomen är överrepresenterad hos bland annat ponnyer, miniatyrhästar och ursprungsraser som islandshästar och iberiska raser (Frank 2011; Truelsen Lindåse 2017). Utöver genetisk predisposition är utfodringsstrategi och träningsstatus faktorer som kan påverka utvecklandet och graden av sjukdom (Frank 2011). Då etiologi och patofysiologi för sjukdomen fortfarande inte är helt klarlagd, är upptäckt, diagnostisering och behandling en utmaning i dagsläget.

2.1.1 Insulindysreglering

Den faktor som anses vara den mest betydande komponenten vid utvecklandet av EMS är insulinresistens (Treiber *et al.* 2006). Begreppet insulinresistens (IR) sammankopplas med samtidig hyperinsulinemi, och denna kombination benämns insulindysreglering (ID) (Frank & Tadros 2013). Insulindysreglering definieras som en obalans i insulin-, glukos-, och lipidmetabolismen och resulterar i ett inadekvat svar på normal insulinutsöndring hos insulinets målceller. Det inadekvata svaret leder till en ökad insulinutsöndring för att behålla normoglykemi, och således ses förhöjda plasmanivåer av insulin, dvs hyperinsulinemi (Wilcox 2005). Så länge de förhöjda insulinnivåerna kan behålla normoglykemi hos den insulinresistenta hästen benämns insulinresistensen som kompenserad. I de fall pankreas celler efter en tids ökad belastning tröttnas ut och tillräckliga mängder insulin inte kan produceras för att upprätthålla normoglykemi övergår insulinresistensen till att vara okompenserad. Den förhöjda blodglukosnivån som följer en okompenserad insulinresistens resulterar i utvecklandet av *diabetes mellitus* (DM) typ 2. *Diabetes mellitus* typ 2 är en relativt vanlig sjukdom hos till exempel människor och katter, men det är ovanligt att hästar drabbas. I stället fortsätter insulinresistensen kompenseras med hjälp av hyperinsulinemi, vilken är en av de mest centrala delarna i EMS. Hos hästar med ID kan hyperinsulinemi ses både vid fasta och postprandiellt. De postprandiella insulinnivåerna är de som lämpar sig bäst för bedömning av graden av ID, och är således de som vanligen provtas vid diagnostisering och bedömning (Frank & Tadros 2013).

Trots att patofysiologin för endokrinologiskt orsakad fång inte är helt klarlagd än, har experimentella studier visat att hyperinsulinemi skulle kunna vara en direkt bidragande faktor för utvecklandet av sjukdomen. Både Asplin *et al.* (2007) och De Laat *et al.* (2010) har påvisat detta genom att med infusion av insulin inducera fång hos friska hästar. Resultatet av dessa studier har ansetts vara ett paradigmskifte inom forskningen om fång (Patterson-Kane *et al.* 2018). Mot bakgrund av detta tryckte författarna framför allt på vikten av en korrekt diagnos av den bakomliggande orsaken vid behandlingsval för den fångdrabbade hästen.

2.1.2 Obesitas i relation till insulindysreglering och fång

Obesitas, både generell och regional, har identifierats som en riskfaktor för fång och har länge ansetts vara som en av grundpelarna inom sjukdomskomplexet EMS. European College of Equine Internal Medicine har dock i ett konsensusuttalande frångått teorin om att fetma i sig skulle vara en direkt orsak till EMS, utan att fetma snarare är en sjukdomsassocierad egenskap som, då den förekommer, kan förvärra befintlig ID (Durham *et al.* 2019). Detta påstående styrks bland annat av resultat från en studie där en möjlig konsekvens till obesitas var en dysreglering av adipokiner och inflammatoriska mediatorer, vilken kan påverka glukosreglering och

inflammation (Selim *et al.* 2015). Adipokiner såsom adiponektin och leptin är en typ av cytokiner som reglerar bland annat metabolism och immunförsvar (Hutley & Prins 2005). Det har i flera studier undersökts huruvida fettvävnad hos överviktiga hästar bidrar till inflammation genom frisättning av proinflammatoriska cytokiner, dock utan konsekventa, entydiga resultat. Durham *et al.* (2019) fastslog att relationen mellan inflammation, ID och fetma fortfarande inte är helt klarlagd.

Det finns ett flertal studier som undersökt sambandet mellan obesitas och utvecklandet eller förvärrandet av fång. Då den exakta patofysiologin för endokrinologiskt orsakad fång och sambanden mellan inflammation och fång samt inflammation och obesitas fortfarande alla är omdiskuterade, finns det ännu inte entydighet i vad detta samband är. Att ett samband existerar verkar de flesta författare dock vara överens om, och det finns ett flertal studier som belyser detta från olika håll. I en retrospektiv studie med 107 hästar inkomna med akut fång till en hästklirik i Storbritannien, fastställdes det att 83% led av samtidig övervikt eller obesitas (Menziés-Gow *et al.* 2010). I flera studier har samband mellan ID, som kan vara en direkt bidragande orsak till fång, och obesitas påvisats (Jeffcott *et al.* 1986; Frank *et al.* 2006; Vick *et al.* 2007; Selim *et al.* 2015), och i en studie sågs insulinkänsligheten hos ponnyer med obesitas förbättras vid viktneđgång (van Weyenberg *et al.* 2008). I andra studier har dock normala insulinnivåer påvisats hos hästar med obesitas (Carter *et al.* 2009b; Carter *et al.* 2010) samt ID påvisats hos hästar utan obesitas (Borer *et al.* 2012). Det bör även nämnas att obesitas kan ha en direkt effekt på utvecklande och förvärrande av fång genom en ökad mekanisk belastning på hovarna. Hästar med EMS kan således ofta hamna i en ond cirkel, där utvecklandet av fång orsakar en ovilja att röra sig, vilket leder till viktökning, som i sin tur ökar belastningen på hovarna och därmed även smärtan.

2.1.3 Fång

Fång är idag en av de vanligaste sjukdomarna som drabbar hästar som hålls som sällskapsdjur. Vid fång störs förbindelsen mellan hovben, lameller och hovvägg, vilket leder till instabilitet och nedsatt eller upphörd sammankoppling mellan hovbenet och hovväggen. Instabilitet i kombination med hästens vikt och rörelse kan orsaka en lägesförändring av hovbenet, och vid större förluster av förbindelsen kan hovbenssänkning och -rotation uppstå. Kliniskt visar sig fång som smärta i hovarna vilken ger upphov till hälta, stel gång och ovilja att röra sig. I allvarigare eller längre gångna fall där lägesförändring uppstått, kan denna ses med hjälp av röntgen. Sedan 1948 har den så kallade Obelskalan använts för att diagnosticera och bedöma graden av fång baserat på uttrycket av olika kliniska symptom, där fången kan klassificeras från normal till grad 4 (Obel, 1948). Idag används oftare en uppdaterad, modifierad version av skalan (Meier *et al.* 2019a). Det är inte

ovanligt att sjukdomen orsakar mycket lidande och en kraftigt negativ påverkan på hästens livskvalitet, varför avlivning av djurskyddsskäl förekommer relativt ofta.

Konsensus i dagsläget är att fång kan ha tre olika huvudsakliga etiologier: endokrinologiskt orsakad, belastningsorsakad samt orsakad av sepsis eller systemic inflammatory response syndrome (SIRS) (Eades 2010; Durham *et al.* 2019). Endokrinologiskt orsakad fång beror på en endokrinopati eller hormonell obalans som påverkar glukos- och insulinmetabolismen och sedermera leder till hyperinsulinemi, vilken är en huvudsaklig bidragande orsak till fång. Belastningsorsakad fång uppstår på grund av mekanisk överbelastning på ett eller flera ben, vanligtvis till följd av en skada som orsakat onaturlig viktfordelning eller rörelsemönster (van Eps *et al.* 2021). Fång som resultat av SIRS eller sepsis beror i grund och botten på en primär inflammatorisk sjukdom såsom kolit, ischemisk tarmskada, pneumoni eller metrit i kombination med ett dysreglerat systemiskt inflammationssvar som påverkar hovens lamellager (Leise & Fugler 2021). Det har länge ansetts att majoriteten av fångdrabbade hästar insjuknat på grund av utfodringsrelaterade orsaker, och detta har på senare år utvecklats till att innefatta samspelet mellan utfodringsstrategi, endokrinologiska rubbningar och fångutveckling. År 2000 utförde USAs jordbruksdepartement (USDA) en retrospektiv studie om förekomst av hälta hos hästar i USA där 50 % av de fångdrabbade hästarna ansågs ha insjuknat på grund av att ha vistats på ”kraftigt bete” eller annan typ av överutfodring. År 2011 undersöktes förekomsten av bevis på endokrinopatier hos hästar inkomna med fång på ett djursjukhus i Finland, där hyperinsulinemi och pituitary pars intermedia syndrome (PPID) hittades hos 89 % av patienterna (Karikoski *et al.* 2011).

Det vetenskapliga namnet för fång, laminit, betyder “inflammation i lamellagret”, och beskriver den patogenes som främst förknippats med fång i litteraturen. De senaste åren har det dock ifrågasatts vilken roll inflammation spelar vid utvecklandet av fång, och om de olika etiologierna resulterar i samma patogenes. I en översiktsartikel sammanställdes år 2018 ett flertal forskningsresultat som visat att endokrinologiskt orsakad fång hade en oväntat låg nivå av inflammation på histologisk nivå vid både kronisk och akut fång, jämfört med SIRS-associerad fång (Patterson-Kane *et al.* 2018). Med bakgrund av detta föreslog författarna att termen “laminopati” skulle vara mer passande för hästar med endokrinologiskt orsakad fång. Van Eps & Burns (2019) frågade sig också om patofysiologin hos fång var densamma trots olika etiologier, och nämnde att det inte fanns någon publicerad studie som jämförde tidiga lesioner vid fång med olika bakomliggande orsaker. De ansåg även att det var mer sannolikt att vilken typ av skada som helst på lamellagrets epitelceller skulle kunna störa den känsliga dynamiken i dess förbindelser än att olika systemiska sjukdomar skulle ha en ensam gemensam väg vilken fång utvecklades från.

2.1.4 Diagnostik och monitorering av ekvint metabolt syndrom

Ekvint metabolt syndrom diagnosticeras vanligen med hjälp av en sammanvägning av anamnestiska uppgifter, klinisk undersökning inklusive bedömning av generell hull och regionala fettansättningar samt utvärdering av hästens insulinkänslighet (Truelsen Lindåse 2017). Utvärdering av hästens insulinkänslighet och diagnostisering av möjlig IR eller ID görs med fördel i form av dynamiska tester såsom glukosbelastningstest. Praxis i Sverige är att utföra ett modifierat oralt glukos-toleranstest (OGT) för detta ändamål. Glukosbelastningstest kan göras genom att glukos tillförs hästen antingen peroralt eller intravenöst. Anledningen till att man i Sverige vanligen föredrar oral över intravenös tillförsel är dels av tillgänglighets-skäl då det enkelt kan utföras i fält, dels för att man med det orala testet får ett resultat som speglar verkligheten mer än med intravenös tillförsel. Skillnaden beror på att insulinnivåerna vid oral glukostillförsel påverkas av andra faktorer än blodets glukoskoncentration, såsom inkretinfrisättning, och vid provtagning därmed enbart ger en estimering av pankreas β -cellsvar, medan intravenös tillförsel ger en mer exakt mätning av svaret (Schuver *et al.* 2014). Den modifiering som gjorts på svenska test jämfört med amerikanska OGT är att glukossubstratet ersatts med en produkt som finns mer lättillgänglig i Sverige (Lindåse *et al.* 2016).

För att erhålla så jämförbara resultat som möjligt används vid OGT en standardiserad mängd glukossirap (0,2 ml/kg) som tillsätts oralt, efter 8-10 timmars svält. Blodprov tas sedan 60 – 90 minuter efter glukosgiva och glukos- och insulinnivåer analyseras. Vanligen tas även ett fasteprovningsstrax innan glukosgivan för att kunna bedöma fastenivåer av insulin. Vid analys av insulin vid diagnostisering av ID gäller i dagens läge följande referensvärden för prover som tas 60 – 90 minuter efter glukosgiva: <45 mU/L klassificeras som negativt resultat där ID är osannolikt, och >45 mU/L som indikation för ID där behandling bör övervägas. Det är viktigt att ha i åtanke att stress och smärta påverkar blodglukos och vävnadens insulinkänslighet, varför vikt läggs vid att hästen är trygg i provtagningsmiljön och att den inte lider av några samtidigt smärtsamma åkommor (Truelsen Lindåse 2023).

Vid diagnosticering, men framför allt vid monitorering av behandlingssvar vid medicinsk EMS-behandling, kan även ett fodertoleranstest (MTT) göras. Grundprincipen och provtagningen är snarlik ett OGT, med den stora skillnaden att hästen utfodras med en specifik mängd av sitt vanliga vallfoder, snarare än glukossirap. Glukos- och insulinsvar blir vid ett sådant test sällan lika kraftigt förhöjda som vid ett OGT, men i stället blir resultaten mer verklighetsförankrade då resultatet är likvärdigt med hästens dagliga postprandiella glukos- och insulinsvar.

Utöver analys av insulinkänslighet är även utvärdering av hästens β -cellsvar ofta av intresse, då sjukdomen är starkt förknippad med insulinutsöndringen. Med hjälp av en modifierad graderad glukosinfusion (GGI) (Jacobson 2020) kan insulin-

utsöndringen per glukosenhet mätas utan påverkan av inkretineffekten som uppstår vid oral giva, och således kan β -cellsvaret då beräknas.

2.1.5 Behandlingsprinciper

Konservativ behandling

Hästar som diagnosticerats med EMS, eller bedöms vara i riskzonen, behandlas generellt konservativt med förändringar i diet och livsstil. Med hjälp av förändringarna önskar man uppnå två huvudmål: ökad insulinkänslighet och lägre postprandiell glukosnivå, som båda förväntas leda till minskad hyperinsulinemi och därmed en minskad risk att utveckla fång. Ökad motion, minskning av överhull samt en foderstat med anpassningar av energimängd och halten icke strukturella kolhydrater (NSC) är grundpelare i den konservativa behandlingen. Utöver det är det även viktigt med fokus på hästvälfärd för att minska risken för stress och smärta, som båda kan påverka blodglukoshalt och vävnadskänsligheten för insulin (Frank *et al.* 2010).

Det har under lång tid varit konsensus att det finns ett starkt samband mellan utvecklandet av obesitas och minskad insulinkänslighet. Det är numera om-diskuterat hur detta samband fungerar och hur övergripande det är hos hästar, vilket beskrivs mer under “Obesitas i relation till insulindysreglering och fång” i denna litteratursammanfattning. Dock baseras dagens behandlingsprinciper fortfarande på detta sambands existens, och viktnedgång för hästar i överhull är centralt i behandlingen av EMS. Utöver den troliga effekten på hästens insulinkänslighet, bidrar även överhull till ökad mekanisk belastning på hovar och leder, samt är en riskfaktor för andra systemiska sjukdomar.

Ökad fysisk aktivitet är viktigt både för att minska eventuellt överhull hos den drabbade hästen, och för att öka insulinkänsligheten. En studie har visat att hästar som motionerades med lågintensiv träning regelbundet i kombination med en diet i form av hö samt en liten giva sojamjöl, hackad lusern samt vitaminer och mineraler hade en ökad insulinkänslighet jämfört med hästar som utfodrades med samma diet under samma tid men som inte motionerades (Bamford *et al.* 2018).

Vid anpassning av foderstaten läggs fokus på att hålla energimängden på rätt nivå för individen, samt att utfodra med låga nivåer av NSC. Icke-strukturella kolhydrater bryts ned till enkla sockerarter som tas upp i tarmen och bidrar till ett ökat blodglukos- och insulinsvar. För hästar som är i riskzonen eller redan har utvecklat EMS rekommenderas begränsningar av både vistelse på bete och utfodring med kraftfoder (Geor & Harris 2009), samt att vallfodret har en NSC-halt på under 10 % av torrsubstansen (Borgia *et al.* 2011; Durham *et al.* 2019). Genom att ge foder lite och ofta snarare än mycket och sällan, eller genom att med hjälp av

exempelvis småmaskiga hönät förlänga hästens ättid (Lundqvist & Müller 2022), kan insulinets topp minskas efter utfodring (Glunk *et al.* 2015).

Medicinsk behandling

Medicinsk behandling bör i första hand ses som ett komplement när konservativ behandling inte räcker till. I dag finns det också ont om medicinska alternativ vid behandling av ID och EMS, då inget av de läkemedel som i nuläget finns på marknaden visats ha en fullgod effekt mot sjukdomen. Tidigare har metformin ansetts vara en kandidat i och med dess kapacitet att sänka postprandiella blodglukosnivåer (Rendle *et al.* 2013). Nackdelar som setts vid medicinering med metformin inkluderar låg biotillgänglighet vid peroral behandling (Hustace *et al.* 2009) samt en oförändrad systemisk insulinkänslighet (Tinworth *et al.* 2012). Ett läkemedel som studerats de senaste åren är pioglitazone. Läkemedlet har setts öka insulinkänsligheten (Legere *et al.* 2019) men även inte ha någon påverkan på dito (Suagee *et al.* 2011); dock är båda författarna överens om att fler studier behövs för att utvärdera effekterna. Det höga priset är dock något som talar mot läkemedlets framtid som möjligt behandlingsalternativ.

Det läkemedel som just nu visar störst potential som ett möjligt behandlingsalternativ är så kallade SGLT2-hämmare. Läkemedlet används inom humanvård främst till patienter med DM typ 2 och verkar genom att i första hand sänka blodglukoshalten, och de senaste åren har studier påbörjats där läkemedlets effekt på häst utvärderas.

2.2 SGLT2-funktion

En viktig del av behandlingsprinciperna vid EMS är påverkan av insulinnivåer och -känslighet, då ID och framför allt hyperinsulinemi är centrala vid utvecklandet av fång. Ett sätt att sänka insulinnivåerna hos hästar med ID är att sänka blodglukosnivåerna. Utöver att minska nivåerna genom att minska intaget, med hjälp av en anpassad foderstat, kan även glukosutsöndringen via urinen ökas. I njuren filtreras glukos ut i primärurinen, för att sedan reabsorberas till cirkulationen igen. Glukos reabsorberas från renala tubuli med hjälp av natrium-glukos-ko-transportörer (SGLT), en typ av transportprotein som utför gemensamt återupptag av glukos och natrium från primärurinen. De två huvudtyperna av SGLT i renala tubuli är SGLT1 och SGLT2, där SGLT2 står för cirka 90 % av återupptaget av glukos, och SGLT1 för övriga 10 %. SGLT1 har en hög affinitet men låg kapacitet för glukos och uttrycks utöver i njuren även i till exempel tarmen. Inhibering av SGLT1 påverkar således inte bara njuren utan även magtarmkanalen, och kan ge allvarliga gastro-intestinala komplikationer (Hsia *et al.* 2017). SGLT2 har i motsats till SGLT1 hög kapacitet men låg affinitet för glukos och står för 90–97 % av reabsorberingen i

renala tubuli, och är därmed en måltavla för blodglukossänkande mediciner. SGLT har en viss maxkapacitet, som när den överskrids ger upphov till glukosuri. Transportörerna kan vid behov, exempelvis vid kronisk hyperglykemi, uppregleras till en viss grad för att motverka detta (Fonseca-Correa & Correa-Rotter, 2021).

2.2.1 SGLT2-hämmare

De senaste årtiondena har studier och sedermera användandet av mediciner som påverkar SGLT ökat stadigt, i första hand inom humanvården. Den läkemedelsgrupp som främst används för att påverka SGLT är de läkemedel som selektivt hämmar SGLT2, så kallade SGLT2-hämmare eller glifloziner. Idag används SGLT2-hämmare främst inom humanvården för att minska hyperglykemi vid DM typ 2. De SGLT2-hämmare som främst använts är kanagliflozin, dapagliflozin och empagliflozin. I Fonseca-Correa och Correa-Rotters reviewartikel (2021) listas nio olika studier av de tre ovanstående gliflozinerna som vid behandling av högriskpatienter med kardiovaskulär sjukdom alla visar på fördelar såsom viktminskning, ökad insulinkänslighet, ökad lipidmetabolism, och förändringar i metabolism vilka tros vara skyddande för hjärta och njurar.

Det finns i huvudsak två önskvärda effekter av behandling med SGLT2-hämmare som har setts vid studier av läkemedlet. Den första är den väntade glukosurin som uppstår vid inhibering av SGLT2, trots en initial kompensatorisk uppreglering av SGLT1 (Abdul Ghani *et al.* 2013). Den andra effekten är att förbättringen av glukoskontroll leder till ökad insulinkänslighet och förbättrad betacellsfunktion (Kahn *et al.* 1991; Ferrannini *et al.* 2014; Merovci *et al.* 2014; Merovci *et al.* 2015).

2.2.2 Resultat vid korttidsstudier på häst

Det finns för närvarande inga registrerade läkemedel som specifikt inriktar sig på hyperinsulinemi hos häst. Efter genomslaget av SGLT2-hämmare inom humanvården har det de senaste åren gjorts flertalet studier som undersöker om läkemedlet kan tänkas ha en liknande effekt på glukos- och insulinnivåerna hos häst, och om det skulle kunna bidra till att minska prevalensen av fång hos hästar som är drabbade eller i riskzonen. Nedan sammanfattas studier som gjorts hittills av SGLT2-hämmare på häst.

Effekten av velagliflozin studerades år 2018 på en grupp insulindysreglerade hästar som tillsammans med en insulindysreglerad kontrollgrupp gavs en underhållsdiet i tre veckor som sedan byttes mot en "utmaningsdiet" med högt energivärde och NSC-halt i 18 dagar (Meier *et al.* 2018). I den behandlade gruppen kunde man se i genomsnitt 22 % lägre maxkoncentration av blodglukos och 45 % lägre maxkoncentration av insulin. Dieten inducerade fång (Obel grad 1-2) hos 14 av 37 hästar i kontrollgruppen men ingen i behandlingsgruppen. Inga negativa biverk-

ningar sågs under behandlingsperioden. Meier *et al.* (2019b) har även undersökt behandling under längre tid, och studerade skillnaderna efter åtta och 16 veckors behandling samt fyra veckor efter utsättande. I den behandlade gruppen minskade maxkoncentrationen av blodglukos med ~42 % och de postprandiella insulinnivåerna låg under tröskelvärdet för fångrisk på samtliga hästar efter 16 veckor. Efter utsättande återgick de genomsnittliga insulinnivåerna inom den behandlade gruppen tillbaka till strax under startvärdet.

Kanagliflozin användes i en studie för att behandla 10 hästar, 8 av vilka hade samtidig PPID, som trots dietkontroll och behandling med metformin, levothyroxin och pergolid hade hyperinsulinemi (Kellon & Gustafson 2022). Beroende på fallen pågick behandlingarna mellan en och sex månader och med en total dos av antingen 150 eller 300 mg kanagliflozin dagligen. Författarna sammanfattade resultaten som minskad hyperglykemi, lägre insulinnivåer, ökad hovkomfort samt minskade regionala fettansättningar. De noterade även att man såg ökade insulinnivåer vid inadekvat behandling av samtidig PPID eller vid mindre strikta dieter och poängterade därmed vikten av att se medicinsk behandling av ID som ett komplement till andra behandlingsprinciper.

Effekten av ertugliflozin studerades i en retrospektiv studie av 51 hästar med hyperinsulinemi eller fång (Sundra *et al.* 2022). Exempelvis sjönk medianvärdet för det postprandiella insulinsvaret från $>300\mu\text{U/mL}$ till $43\mu\text{U/mL}$ och medianvärdet för modifierade Obelpoäng sjönk från 10/12 till 1/12. Dock ökade medianvärdet för triglycerider i serum något under behandlingsperioden, men inte till den grad att hyperlipemi utvecklades. Detta är den första biverkning som rapporterats vid studier av SGLT2-hämmare på häst.

Konklusionen för ovanstående fyra studier är ungefär densamma; att SGLT2-hämmare kan hjälpa till att sänka insulinnivåerna hos hästar med EMS samt att påskynda återhämtning från endokrinologiskt orsakad fång. De trycker också på att fler studier som undersöker farmakokinetik och -dynamik, effekt, säkerhet och långtidseffekter behövs.

På Sveriges lantbruksuniversitet studeras för närvarande effekten av kanagliflozin som behandlingsalternativ vid EMS. Två pilotstudier har genomförts där kanagliflozins effekt på postprandiellt insulinsvar hos hästar vid utfodring med vallfoder (Tegler 2020) och vid OGT (Svensson 2020) undersökts. I de båda studierna sågs sänkta postprandiella nivåer av insulin hos samtliga hästar. Ivarsson (2022) studerade om graden av insulindysreglering påverkade läkemedelssvaret vid behandling med kanagliflozin. Hos de sex hästar som följdes sågs en minskning av maxkoncentrationen med $>50\%$ hos samtliga efter 25 dagars behandling. I denna studie fanns inga bevis på att variationen i läkemedelseffekt påverkades av graden

av ID hos hästen, dock sågs en mer omfattande numerisk sänkning av insulin-koncentration hos de hästar som diagnosticerats som kraftigt insulindysreglerade samt att det postprandiella insulinsvarets duration förkortades hos dito. Författaren diskuterade även möjligheten att läkemedlet påverkade insulinnivåerna med två olika tillvägagångssätt; indirekt genom sänkt blodglukosnivå och direkt genom modulering av insulinmetabolismen.

3. Material och metod

3.1 Hästar

De hästar som ingick i studien var privatägda. Rekrytering till studien gjordes genom att djurägarna tillfrågades om deltagande efter att deras hästar diagnosticerats med EMS. Hästar som inkluderades i studien skulle utöver att vara diagnosticerade med ID baserat på ett OGT (Lindåse *et al.* 2016), vara 4 år eller äldre och inte ha vistats på bete den senaste månaden. De fick inte lida av samtidig PPID eller annan systemisk sjukdom. Slutligen fick inte heller ha ett pågående akut fånganfall. Grundinformation om de medverkande hästarna presenteras i tabell 1.

Hästarna i studien har behandlats med kanagliflozin (Invokana) 0,4 mg/kg q24 h hemma under två års tid. Under hemmavistelsen ordinerades djurägarna generellt att utfodra hästarna med grovfoder och mineralfoder men inget kraftfoder, dock kan tillägg av proteinrikt grov- eller kraftfoder ha gjorts i de fall att där proteinfattigt grovfoder förekommit för att tillgodose proteinbehovet. Hästarna rekommenderades inte heller gå på bete under studieperioden.

Tabell 1. Grundinformation (ras, kön, ålder) om de hästar som ingick i studien samt förekomst av fång hos hästarna innan studiens start

Häst	Ras	Kön	Ålder vid studiens start	Tidigare fång
Häst 1	Shetlandsponny	Valack	8	ja
Häst 2	Korsningsponny	Sto	4	ja
Häst 3	Korsningsponny	Valack	14	ja
Häst 4	Shetlandsponny	Valack	23	ja
Häst 5	Gotlandsruss	Valack	17	ja

3.2 Försöksupplägg

Studien var en del av SLUs pågående försök där behandlingsresultat av SGLT2-hämmaren kanagliflozin undersöktes på hästar diagnosticerade med EMS. Den

initiala studien godkändes av Uppsalas djurforsöksetiska nämnd (diarienummer: 5.8 18-09082/2020) och den kliniska uppföljningen av hästarna efter 1 och 2 års behandling med kanagliflozin godkändes via Institutionen för kliniska vetenskapers generella försökstillstånd (diarienummer: 5.8.18-15533/2018).

Studien var en förlängning av en korttidsstudie som utfördes på SLU, där de inkluderade hästarna behandlades med kanagliflozin under tre veckor. Då det rekommenderas att hästar som står på behandling med kanagliflozin årligen följs upp och utvärderas med avseende på behandlingseffekt och närvaro av biverkningar, erbjöds djurägarna uppföljning efter ett och två års behandling vid Universitetsdjursjukhuset, SLU. Vid dessa uppföljningsbesök utfördes de provtagningar vars resultat redovisas i detta examensarbete.

Hästarna stallades under försöksperioderna upp på SLU:s Universitetsdjursjukhus i fyra till fem dagar. Vid den ursprungliga korttidsstudien utfördes oralt glukostoleranstest (OGT), fodertoleranstest (MTT) och graderad glukosinfusion (GGI); vid ettårsuppföljningen utfördes OGT och MTT; och vid tvåårsuppföljningen utfördes OGT, MTT och GGI. Försöksperioderna var upplagda med två dagars aklimatisering och förberedelser följt av två till tre dagar med provtagningar, beroende på antal undersökningar som utfördes. Dag två utförde en veterinär en klinisk undersökning där bedömning av body condition score (BCS) med skalan 1-9 (Henneke *et al.* 1983) och cresty neck score (CNS) med skalan 0-5 (Carter *et al.* 2009a) ingick. Som förberedelse lades även permanentkanyl (intranule, 2,0 × 105 mm, Vygon alternativt intraflon2, 2,1 × 80 mm, Vygon, beroende på hästens storlek) i vena jugularis efter lokalbedövning i stickområdet med Emla (lidokain 25 mg/g, prilokain 25 mg/g, Aspen Nordic) intrakutant och Carbocain (xylocain 20 mg/ml, Astra Zeneca AB) subkutant. Inför varje provtagning fastades hästarna i 8 timmar över natten, och provtagningarna startade sedan klockan 07.00 varje morgon. Dag tre utfördes OGT, dag fyra MTT och vid startundersökningen och tvåårsuppföljningen utfördes även GGI dag fem. Efter provtagningarna utfodrades hästarna med sin vanliga fodergiva samt släpptes i gräsfri rasthage i fyra timmar. Efter den sista undersökningen åkte hästarna hem.

Under klinikvistelsen med undersökningarna utfodrades hästarna med det foder de utfodrades med hemma och i samma mängd som på hemmaplan. De medicinerades även med kanagliflozin (0,4 mg/kg) klockan 21.00 varje kväll, enligt samma rutin som hemma. Hästarna hade fri tillgång till vatten under hela klinikvistelsen.

3.2.1 Oralt glukostoleranstest

Oralt glukostoleranstest med en högre glukosgiva än den giva som används vid diagnosticering av insulindysreglering (Truelsen Lindåse 2023) utfördes genom att glykossirap (0,5 ml/kg kroppsvikt glykossirap; Dansukker, Nordic Sugar A/S,

Köpenhamn, Danmark) administrerades oralt efter åtta timmars fasta med hjälp av en 100 ml spruta, varpå området runt mun och mule torkades rent för att undvika möjlig kontamination. Tio minuter innan glukosgivan togs ett nollprov, efter giva togs prov efter 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 samt 240 minuter. Vid varje provtagning drogs först 5 ml blod upp och kasserades, varefter 5 ml drogs upp för analys och överfördes till litiumheparinrör. Efter varje provtagning spolades kanylen med 10 ml NaCl-lösning (Natriumklorid Fresenius Kabi, 9 mg/ml). Provrören centrifugerades inom fem minuter och plasma överfördes till uppmärkta eppendorfrör, som sedan frystes och förvarades i -80°C tills analys av glukos och insulin utfördes.

3.2.2 Fodertoleranstest

Vid MTT utfodrades hästarna efter åtta timmars svält med 0,4 kg ts/100 kg kroppsvikt av sitt vanliga vallfoder. Provtagning gjordes likt OGT genom ett nollprov 10 minuter innan fodergiva samt 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 och 240 minuter efter fodergiva. Vid varje provtagning drogs 5 ml blod upp och kasserades, varefter 5 ml drogs upp och överfördes till litiumheparinrör för analys. Kanylen spolades med 10 ml NaCl (Natriumklorid Fresenius Kabi, 9 mg/ml) efter varje provtagning. Provrören centrifugerades sedan inom 5 minuter och plasma överfördes till uppmärkta eppendorfrör, som frystes och förvarades i -80°C tills analys av glukos och insulin utfördes.

3.2.3 Graderad Glukosinfusion

Vid GGI utfördes testet efter åtta timmars fasta. Vid provtagningen användes en kateter (intranule, 2,0 × 105 mm, Vygon alternativt intraflon2, 2,1 × 80 mm, Vygon) i vardera juvularven, den ena för infusion av glukos och den andra för provtagning. Via den ena katetern infunderades 20 % glukoslösning (Glucose Fresenius Kabi, 200 mg/mL) genom en volymetrisk infusionspump. Innan testets start fylldes förlängning och kateter genom 31 sekunders infusion av glukoslösning med hastigheten 200 mL/h. Nollprov togs i den andra sidans kanyl 10 minuter innan samt 1 minut innan testets start.

Vid testets början startades infusion av glukos med hastigheten 0,4 mg/kg kroppsvikt/min. Glukosinfusionen ökade var 40:e minut till följande infusionshastigheter: 0,8; 1,2; 1,6; 2,4 samt 3,2 mg/kg kroppsvikt/min. Provtagning från andra sidans kanyl skedde var 10:e minut för analys av glukos och var 30:e och 40:e minut för analys av insulin. Vid provtagning drogs 5 ml blod upp och kasserades, varefter 5 ml drogs upp och överfördes till litiumheparinrör för analys. Kanylen spolades med 10 ml NaCl (Natriumklorid Fresenius Kabi, 9 mg/ml) efter varje provtagning. Provrören centrifugerades inom 5 minuter och plasma överfördes till uppmärkta eppendorfrör, som frystes och förvarades i -80°C tills analys utfördes.

3.3 Analyser och bearbetning av data

Samtliga blodprover analyserades för glukos- och insulinkoncentration på kliniska vetenskapers laboratorium på SLU, Uppsala. Plasmaglukos analyserades med mätinstrument för biokemisk analys (YSI 2500 Glucose/Lactate analyzer, Yellow Springs Instruments) och insulinkoncentrationer analyserades med hjälp av ELISA anpassad för häst (Equine Insulin ELISA, Mercodia AB).

Kroppsvikt, CNS och BCS från varje undersökningstillfälle tabellfördes och förändringar över tid i de tre variablerna beräknades.

Data för glukos- och insulinkoncentrationer vid de olika provtagningstillfällena sammanfattades och presenterades som var sin kurva som visade medelresponserna \pm standardavvikelsen vid OGT och MTT. Arean under kurvan (AUC) för glukos och insulin vid de olika provtagningstillfällena beräknades med hjälp av trapetzoidmetoden i GraphPad Prism. Förändringar i AUC för glukos och insulin från OGT och MTT över tid analyserades med variansanalys (ANOVA) för upprepade mätningar med efterföljande *post hoc* analys (Tukey test) i statistikprogrammet JMP.

Index för β -cellresponserna vid glukoskoncentrationsstegring beräknades med resultaten från GGI. Medelvärdet för insulinkoncentrationen och glukoskoncentrationen innan testet startade samt för de två sista glukos- och insulinkoncentrationerna innan varje infusionshastighetsökning plottades i ett diagram för varje häst och undersökningstillfälle. Varje diagram gav ett dos-responsförhållande mellan plasmaglukos och plasmainsulin, sammanlagt 7 datapar. För varje hästs dos-responsförhållande mellan glukos och insulin gjordes en linjär regressionsanalys, där lutningskoefficienten användes som ett index för β -cellsresponserna. Lutningskoefficienterna (index för β -cellsresponserna) för de olika hästarna vid studiens start och efter två års behandling jämfördes med ett parat t-test. Skillnader mellan data där $p < 0,05$ bedömdes som statistiskt säkerställda.

4. Resultat

4.1 Kroppsvikt samt bedömning av hull och fettack

Förändring av hästarnas kroppsvikt, CNS och BCS över 2 år presenteras i tabell 2 och 3. Hästarna vägdes samt bedömdes av veterinär med avseende på CNS och BCS vid behandlingsstart samt efter 1 och 2 års behandling. Samtliga utom en häst hade efter ett år minskat i vikt, för att sedan ha ökat igen efter 2 år. Dock hade de inte återgått till startvikten. Häst 4 hade i stället ökat i vikt vid varje återbesök. De hästar som minskat och sedan ökat i vikt bedömdes ha en BCS-kurva som följde viktkurvan med en minskning följt av en mindre ökning. Häst 4 hade ett konstant BCS genom hela studien. Vid bedömning av CNS sågs en minskning utan en följande ökning hos samtliga utom Häst 1, som erhöll samma grad genom hela studien.

Hullpoängen följde samma mönster som hästarnas viktkurva under studieperioden. Generellt sågs efter ett år ett minskat BCS, följt av ett något högre, men fortfarande under baslinjen, BCS efter två år. Häst 4 som ensam hade ökat i vikt under studien, behöll samma BCS (7,5) genom hela studien.

Cresty neck score minskade hos fyra av fem hästar i studien från studiens start till efter ett år medan en hästs CNS var oförändrat. Mellan år ett och två minskade tre av hästarnas CNS med 0,5 – 1 poäng ytterligare medan resterande två hästars CNS var oförändrat.

Tabell 2. Förändring i kroppsvikt i kilogram hos hästarna under studietiden. $Vikt_0$ är hästens vikt vid studiens start, $Vikt_1$ är hästens vikt efter ett års medicinering och $Vikt_2$ är hästens vikt efter två års medicinering. Tabellen visar även den procentuella förändringen i kroppsvikt i förhållande till startvikten efter ett ($\Delta V_{ikt_{0-1}}$) respektive två ($\Delta V_{ikt_{0-2}}$) år

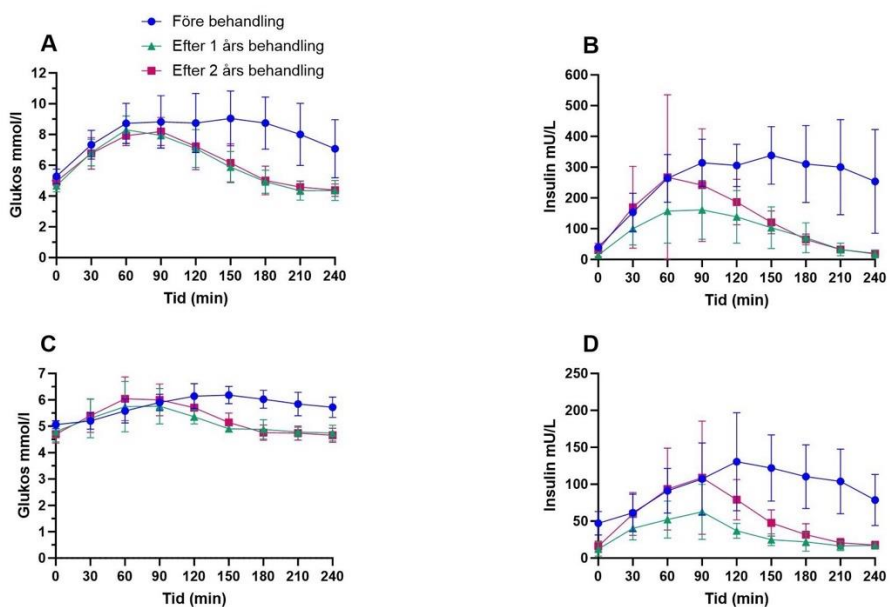
Häst	Vikt ₀	Vikt ₁	Vikt ₂	$\Delta v_{ikt_{0-1}}$ (%)	$\Delta v_{ikt_{0-2}}$ (%)
Häst 1	260	234,5	253	-9,8 %	-2,7 %
Häst 2	211,5	183,5	192,5	-13,2 %	-9,0 %
Häst 3	356	328	335	-7,9 %	-6,0 %
Häst 4	193,5	199,5	204,5	3,1 %	5,7 %
Häst 5	264	255	257,5	-3,4 %	-2,5 %

Tabell 3. Förändring i body condition score (BCS) och cresty neck score (CNS) vid start (BCS₀, CNS₀), efter ett år (BCS₁, CNS₁) samt efter två år (BCS₂, CNS₂) hos samtliga hästar i studien

Häst	BCS ₀	BCS ₁	BCS ₂	CNS ₀	CNS ₁	CNS ₂
Häst 1	8,5	6,5	7,0	3,5	3,5	3,5
Häst 2	7,0	5,5	6,5	3,5	2,5	2,0
Häst 3	6,5	5,5	5,5	4,0	3,5	2,5-3
Häst 4	7,5	7,5	7,5	3,0	2,5	2,5
Häst 5	5,5	4,0	4,5	3,5	2,5	2,5

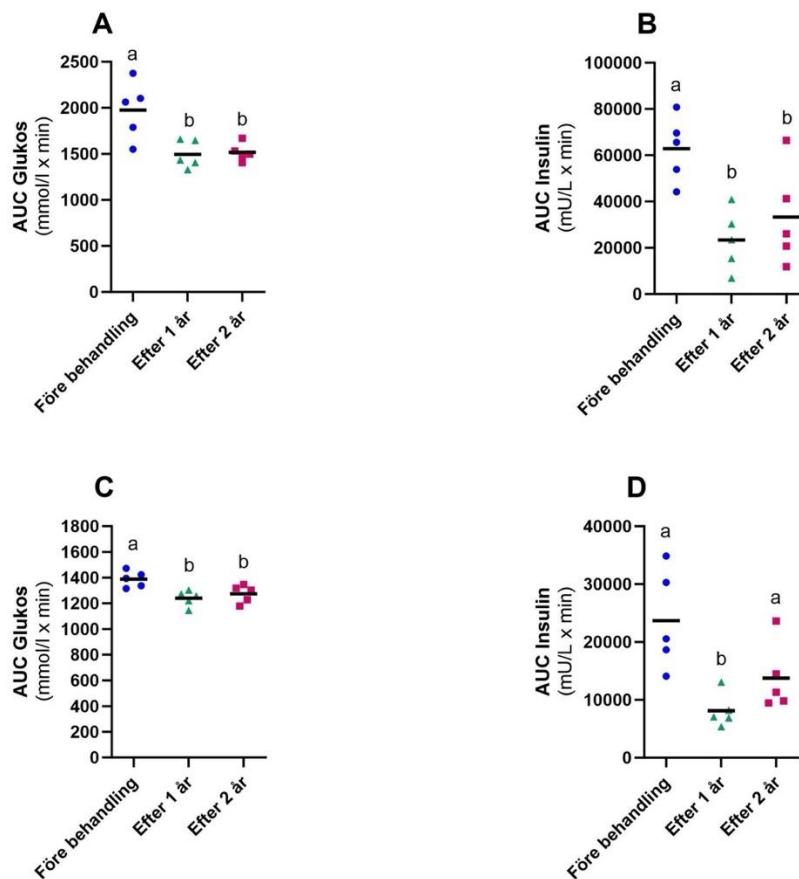
4.2 Glukos- och insulinsvar vid oralt glukostoleranstest och fodertoleranstest

Kurvor för glukos- samt insulinsvar vid OGT och MTT vid studiens start och efter ett respektive två års behandling presenteras i figur 1. Vid både OGT och MTT ses kortare responskurvor, alltså en kortare duration med tidigare återgång till baslinjen, för glukos- och insulinkoncentration efter både ett och två års behandling än vid startpunkten.



Figur 1. Grafer som visar glukos- samt insulinsvar över 240 minuter efter oralt glukostoleranstest (OGT) och fodertoleranstest (MTT). Figur 1A visar glukosrespons efter OGT, figur 1B visar insulinrespons efter OGT, figur 1C visar glukosrespons efter MTT och figur 1D visar insulinrespons efter MTT. Varje punkt representerar medelvärde ± standardavvikelse för de 5 hästar som deltog i studien.

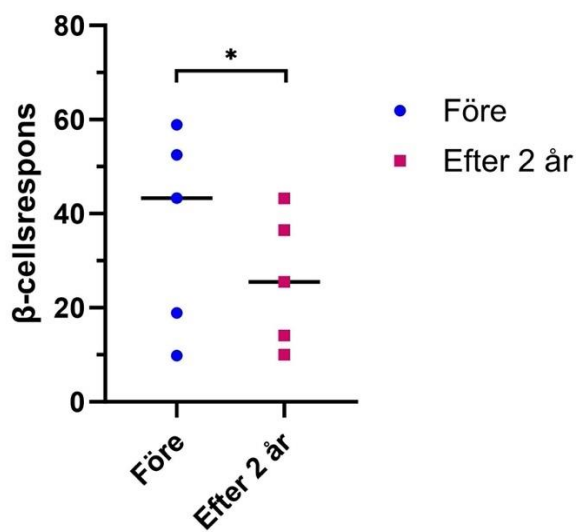
I figur 2 ses grafer för övergripande responsdata i form av AUC för glukos och insulin vid OGT och MTT. Behandling med kanagliflozin sänkte både glukos- och insulinresponsen under OGT efter både ett och två års daglig medicinering. Vid MTT sågs en lägre glukosrespons efter både ett och två år, dock sågs en lägre insulinrespons endast efter ett år och inte två.



Figur 2. Grafer som visar arean under kurvan (AUC) för glukos och insulin vid oralt glukostoleranstest (OGT) och fodertoleranstest (MTT) för samtliga hästar i studien enligt följande: Figur 2A) AUC för glukos vid OGT, Figur 2B) AUC för insulin vid OGT, Figur 2C) AUC för glukos vid MTT och Figur 2D) AUC för insulin vid MTT. Varje punkt representerar en häst, horisontella svarta streck representerar medelvärdet för hela gruppen vid varje tidpunkt. Data med olika bokstäver inom ett diagram är visar statistiskt säkerställda skillnader vid $p < 0,05$.

4.3 Graderad glukosinfusion

β -cellsresponsen mättes med hjälp av GGI och presenteras i figur 3. β -cellsvariet varierade mellan hästarna med lutningskoefficienter mellan strax under 10 och strax under 60 före behandling, samt mellan strax under 10 och strax över 40 efter två års behandling. Efter två års behandling sågs en minskning ($p < 0,05$) av medelvärdet av hästarnas β -cellsvar jämfört med vid studiens start.



Figur 3. Graf som visar β -cellsvar i form av lutningskoefficienter från dos-responskurvor mellan plasmaglukos och plasmainsulin hos hästar före och efter två års behandling med kanagliflozin. Varje punkt i en kolumn representerar en häst. Den svarta horisontella linjen visar medelvärdet. Stjärna indikerar statistiskt säkerställd skillnad ($p < 0,05$) mellan undersökningstillfällena.

5. Diskussion

5.1 Kroppsvikt samt bedömning av hull och fettacke

De fem hästarnas viktdata under studiens gång följde generellt ett mönster där det hos fyra av de fem hästarna förekom en ansenlig viktnedgång efter ett års behandling, följt av en mindre viktuppgång vid tvåårsuppföljningen. Den femte hästen följde inte detta mönster utan hade i stället ökat i vikt vid båda tillfällena. Viktnedgången efter ett års behandling stämmer överens med tidigare korttidsstudier av läkemedlet (Tegler 2020; Ivarsson 2022; Lindåse *et al.* 2023) och tyder på en bibehållen läkemedelseffekt även efter en längre tids behandling. Något som dock överraskar är den viktuppgång som noterades hos samtliga hästar vid tvåårskontrollen, som frångår den förväntade fortsatta nedåtgående trenden. Det är emellertid inte möjligt att dra några slutsatser om förändringar i läkemedlets effekt enbart baserat på den viktdata och hullbedömning som registrerades i denna studie då man utöver läkemedelseffekten även bör ta möjliga förändringar i diet och skötselrutiner i beaktning.

Man kan inte utesluta en möjlig förändring av läkemedlets effekt, genom exempelvis en långsamt uppbyggd tolerans, som orsak till den oväntade viktuppgången. Man kan heller inte utesluta förändringar i skötsel och diet från djurägarnas sida, medvetet eller omedvetet. Då djurägarna fick ta del av resultaten för till exempel viktförändring och övergripande resultat från OGT och MTT vid ettårsbesöket, är det inte omöjligt att denna vetskap påverkat skötsel och utfodring fram till tvåårsbesöket. Att få ett positivt besked om en stor viktnedgång och därmed en förbättring av sin hästs tillstånd, kan ha gjort att man slappnat av och blivit mindre noggrann med att hitta det mest passande grovfodret med den lägsta NSC-halten, eller blivit mindre strikt med dieten generellt då det ju ändå fungerar bra med läkemedlet. Man kan heller inte bortse från risken att djurägarna är rädda att hästarna ska gå ner för mycket i vikt, alternativt att de hört talas om möjliga biverkningar såsom förhöjda triglyceridnivåer (Lindåse *et al.* 2023) och därmed ökat fodergivan. Då studien pågått i två år får man även ha i åtanke att flera foderbyten kan ha skett under en så pass lång tid och tillgången till exempelvis foder med låg NSC-halt har varierat. Då fodrets innehåll och foderstatens

sammansättning samt utfodrade fodergivor inte kontrollerats genom hela denna studie, och mycket ansvar har legat på djurägarna, går det inte i nuläget att säga om förändringen i kroppsvikt beror på bristande långvarig effekt hos läkemedlet eller på andra faktorer relaterade till skötsel och utfodring. Inom humanvården ses människor ofta inte minska så mycket som väntat i vikt vid behandling med SGLT2-hämmare. I en studie (Ferrannini *et al.* 2015) tillskrivs utebliven viktning ett ökat energiintag snarare än en bristande läkemedelseffekt, vilket kan styrka antagandet att viktökningen mellan år ett och två beror på ett för högt energiintag snarare än bristande effekt av läkemedlet.

Hästarnas BCS följde i mångt och mycket viktkurvan, med en initial minskning efter ett år, följt av ett oförändrat eller något högre poäng efter två år. CNS sjönk eller bevarades hos samtliga hästar efter både ett och två år, alltså sågs inte samma mönster som hos vikt och BCS. Dessa resultat kan anses vara förväntade. Hullbedömning med hjälp av BCS är en subjektiv bedömning av tjockleken på det subkutana underhudsfettet på vissa ställen på kroppen, vilket vanligen fluktuerar i tandem med vikten. Då CNS är en bedömning av den regionala fettdepån i mankammen, kan det anses rimligt att denna tydligt minskar vid en större generell viktförlust, men att en mindre uppgång är svår att urskilja.

5.2 Glukos- och insulinsvar vid oralt glukostoleranstest och fodertoleranstest

För att utvärdera läkemedlets effekt på blodets glukos- och insulinnivåer användes ett standardiserat OGT med glykossirap samt ett MTT med hästens egna foder för att efterlikna hästarnas normala, dagliga postprandiella svar. Resultaten av OGT visade att den postprandiella glukoskurvan hade en något lägre topp (maxkoncentration), men framför allt att den var betydligt kortare i duration efter långtidsbehandling än före. Vid de mätningar som gjordes före behandlingsstart hade inte glukosnivåerna nått tillbaka till baslinjen vid mätningens slut (efter 240 minuter), medan de efter både ett och två års behandling närmade sig alternativt passerade baslinjen efter ca 180 minuter. Läkemedlets effekt verkar dessutom vara oförändrad mellan ettårs- och tvåårskontrollen då dessa kurvor är nästintill identiska. Detta resultat styrker hypotesen att läkemedlets effekt inte förändrats över tid.

Arean under kurvan (AUC) för glukos, alltså den totala postprandiella glukoskoncentrationen över tid vid OGT, visade att glukosresponsen minskat efter ett års behandling, med nästan exakt samma resultat efter två år. En observation är att hästarna före behandlingsstart hade AUC för glukos, som var någorlunda jämnt utspridda inom ett spann av 1500 och 2500 mmol/L*min, medan de efter behandlingen alla ligger mer samlade runt 1500 mmol/L*min. Det verkar således i detta

fall som att behandlingen orsakar en större minskning för de hästar som har högre blodglukoskoncentrationer före behandling än de med lägre dito.

Läkemedlet verkar ha haft en liknande effekt på insulinkurvan som på glukoskurvan, då det även där var en tydligt kortare duration samt lägre maxkoncentration efter behandling än före. Insulinnivåerna nådde innan behandlingsstart inte baslinjen före mätningens slut vid 240 minuter, medan de efter både ett och två års behandling nådde baslinjen vid mellan 210 och 240 minuter. En skillnad gentemot glukoskurvorna är att maxkoncentrationen av insulin åter är högre efter två år, jämfört med den initiala sänkningen som sågs efter ett år. Insulinkoncentrationens AUC visar dock på en lägre insulinnivå både efter ett och två år, och kan således tolkas som att läkemedlets effekt bibehålls efter såväl ett som två år. Dessa resultat tyder på att den effekt som setts på glukos- och insulinnivåer vid flertalet tidigare korttidsstudier håller i sig även under långtidsbehandling, vilket kan innebära att läkemedlet kan användas vid framtida EMS-behandling.

Glukos- och insulinkurvorna betedde sig ungefär likadant vid MTT som vid OGT, dock med olika höga koncentrationer mellan de två testmetoderna, vilket är väntat med tanke på den betydligt högre glukoshalten i glykossirap jämfört med hästarnas normala vallfoder. Glukoskurvan vid MTT var tydligt kortare efter långtidsbehandling än före, och oförändrad mellan år ett och två. Insulinkurvan var likt vid OGT-mätningen kortare vid båda uppföljningsmätningarna, men även här sågs en högre maxkoncentration efter år två jämfört med år ett, dock inte lika hög som före behandlingsstart. Glukoskoncentrationernas AUC var lägre efter långtidsbehandling än före, likt resultaten vid OGT. Värt att notera är att alla hästarnas resultat var samlade både före och efter behandling, alltså sågs inte den spridning som observerades vid OGT före behandling. Glukoskurvorna för MTT tyder precis som OGT på att läkemedlet verkar ha ihållande effekt även efter långtidsbehandling.

Det som skiljer sig från övriga resultat av OGT och MTT är att någon minskning av insulin-AUC vid MTT inte kunde ses efter två år, vilket var fallet efter ett år. Att detta skulle bero på en minskad effekt av läkemedlet motsägs av att AUC för insulin vid OGT var lägre även efter två år. Viktigt att ha i åtanke är att OGT är mer standardiserat än MTT, då variation i MTT kan uppstå på grund av exempelvis skillnader i NSC-halt mellan olika foder, som troligen varierat under de två åren. Orsaken till att skillnad inte längre ses efter två år beror dessutom främst på ett ytterlighetsvärde vars AUC är betydligt högre än övrigas att genomsnittet höjs så mycket att någon minskning av insulinsvaret inte längre kan ses. Detta ytterlighetsvärde syns även vid ettårsmätningen samt vid insulin-AUC vid OGT, men det är endast vid MTT efter två år som genomsnittet påverkas i så hög grad. Då studiepopulationen var liten kan man inte med säkerhet säga att detta ytterlighetsvärde var en abnormalitet, utan studier med en större studiepopulation krävs för

vidare utvärdering. För att få insikt i om det mönster som setts vid flertalet av denna studies mätningar (nedgång efter ett år, följt av en mindre uppgång efter två år) beror på en förändrad läkemedelseffekt eller på förändringar i andra variabler som skötsel och utfodring krävs utöver en större studiepopulation en mer noggrann dietkontroll genom hela studieperioden.

5.3 Graderad Glukosinfusion

Slutligen mättes β -cellfunktionen med hjälp av ett GGI. Denna metod användes för att studera insulinsvaret vid blodglukosstegring utan påverkan av inkretineffekten. Genom att jämföra resultaten av GGI före och efter långtidsbehandling, kunde en utvärdering göras av hur β -cellernas funktion förändrats av läkemedlet. Resultaten visade ett lägre β -cellsvar efter två års behandling, vilket är önskvärt då hyperinsulinemi hos hästar med ID anses vara en av de största riskfaktorerna för fång. Detta resultat stämmer överens med resultat från tidigare studier där GGI använts (Jacobson 2020) samt estimering med hjälp av AUC-kvot (Ivarsson, 2022) för att analysera β -cellfunktionen vid behandling med kanagliflozin. Resultatet tyder på att läkemedlet inte enbart sänker insulinnivåerna indirekt genom sin glukos-sänkande effekt, utan även genom en normalisering av β -cellernas funktion i form av ett mindre överdrivet insulinsvar från pankreas. Hur denna normalisering uppstår är för närvarande okänt. Möjliga tillvägagångssätt skulle kunna vara att ett konstant lägre och stabilare blodglukos påverkar och förbättrar insulinkänsligheten i kroppens vävnader, ett annat är att läkemedlet har en direkt påverkan på pankreas β -celler. En intressant jämförelse är användningen av SGLT2-hämmare inom humanvården där de används för behandling av DM typ 2, en sjukdom där suboptimal β -cellfunktion är typiskt tillsammans med en för låg insulinutsöndring. Utöver en förbättrad insulinkänslighet (Ferrannini *et al.* 2014) ses en ökning av insulinutsöndringen per glukosenhet (Abdul-Ghani *et al.* 2017; Al Jobori *et al.* 2018), vilket i detta fall är önskvärt. Således verkar SGLT2-hämmare ge en önskvärd effekt hos både människor och hästar, trots att effekten verkar vara ”motsatt”. Detta skulle kunna stödja teorin om att β -cellernas funktion förbättras indirekt genom exempelvis förbättrad insulinkänslighet i kroppens vävnader snarare än genom en direkt påverkan på β -cellerna. Teorin styrks även av det faktum att det inte verkar finnas SGLT2 i pankreas celler, vilket tyder på att läkemedlet inte direkt påverkar pankreas (Chae *et al.* 2020). Dock finns det andra studier som tvärtom visar att SGLT2-hämmare skulle kunna förbättra β -cell-replikation, -regeneration och -neogenes (Wei *et al.* 2020) och skydda β -celler genom att minska oxidativ stress (Shyr *et al.* 2022). Det är således fortfarande inte klarlagt hur och varför β -cellfunktionen förändras vid behandling med SGLT2-hämmare, utan fler studier behövs inom området.

Konklusion

I studien har undersökts hur kroppsvikt, hull, postprandiellt glukos- och insulinsvar samt β -cellsfunktion hos hästar med insulindysreglering förändrades under två års behandling med SGLT2-hämmaren kanagliflozin. Minskning av kroppsvikt och hull sågs efter ett år, följt av en mindre ökning efter två år. Responskurvor samt AUC för glukos och insulin vid OGT och MTT följde ungefär samma mönster, med en minskning efter både ett och två år förutom vid MTT, där insulinnivåerna efter två år inte längre var lägre än före medicinering. β -cellfunktionen mättes med GGI och svaret var lägre efter två år än före behandlingsstart. Resultaten visade en fortsatt god effekt även vid en längre tids behandling, vilket är ytterst viktigt då sjukdomen är av en karaktär som kräver en lång, fungerande behandling. Den försämring som sågs i vissa av resultaten mellan ett och två års behandling påminner om att SGLT2-hämmare endast är en del i en multimodal behandlingsregim mot EMS, där förändringar i diet och livsstil alltid bör stå i centrum. Resultaten tyder dock på att SGLT2-hämmare är ett bra komplement till dessa förändringar, och att de också kan vara ett långvarigt sådant.

Referenser

- Abdul-Ghani M.A., DeFronzo R.A., Norton L. (2013). Novel hypothesis to explain why SGLT2 inhibitors inhibit only 30-50% of filtered glucose load in humans. *Diabetes*. 62, 3324–3328. <https://doi.org/10.2337/db13-0604>
- Abdul-Ghani, M., Al Jobori, H., Daniele, G., Adams, J., Cersosimo, E., Triplitt, C., DeFronzo, R.A. (2017). Inhibition of renal sodium-glucose cotransport with empagliflozin lowers fasting plasma glucose and improves β -cell function in subjects with impaired fasting glucose. *Diabetes*. 66(9), 2495–2502. <https://doi.org/10.2337/db17-0055>
- Al Jobori, H., Daniele, G., Adams, J., Cersosimo, E., Solis-Herrera, C., Triplitt, C., DeFronzo, R.A., Abdul-Ghani, M. (2018) Empagliflozin treatment is associated with improved β -cell function in type 2 diabetes mellitus, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 103(4), 1402–1407, <https://doi.org/10.1210/jc.2017-01838>
- 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*. 174, 530–535. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.003>
- Bamford, N.J., Potter, S.J., Baskerville, C.L., Harris, P.A., Bailey, S.R. (2018). Influence of dietary restriction and low-intensity exercise on weight loss and insulin sensitivity in obese equids. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 33, 280–286. <https://doi.org/10.1111/jvim.15374>
- Borer, K.E., Bailey, S.R., Menzies-Gow, N.J., Harris, P.A. and Elliott, J. (2012). Effect of feeding glucose, fructose, and inulin on blood glucose and insulin concentrations in normal ponies and those predisposed to laminitis. *Journal of Animal Science*. 90, 3003–3011. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4236>
- Borgia, L., Valberg, S., McCue, M., Watts, K., Pagan, J. (2011). Glycaemic and insulinaemic responses to feeding hay with different non-structural carbohydrate content in control and polysaccharide storage myopathy-affected horses. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 95, 798–807. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2010.01116.x>
- Carter, R.A., Geor, R.J., Burton Staniar, W., Cubuitt, T.A., Harris, P.A. (2009a). Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. *The Veterinary Journal*. 179(2), 204–210. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.02.029>

- Carter, R.A., McCutcheon, L.J., George, L.A., Smith, T.L., Frank, N., Geor, R.J. (2009b). Effects of diet-induced weight gain on insulin sensitivity and plasma hormone and lipid concentrations in horses. *American Journal of Veterinary Research*. 70, 1250–1258. <https://doi.org/10.2460/ajvr.70.10.1250>
- Carter, R.A., McCutcheon, L.J., Valle, E., Meilahn, E.N. and Geor, R.J. (2010). Effects of exercise training on adiposity, insulin sensitivity, and plasma hormone and lipid concentrations in overweight or obese, insulin-resistant horses. *American Journal of Veterinary Research*. 71, 314–321. <https://doi.org/10.2460/ajvr.71.3.314>
- Chae, H., Augustin, R., Gatineau, E., Mayoux, E., Bensellam, M., Antoine, N., Khattab, F., Lai, B-K., Brusa, D., Stierstorfer, B., Klein, H., Singh, B., Ruiz, L., Pieper, M., Mark, M., Herrera, P.L., Gribble, F.M., Reimann, F., Wojtuszczyński, A., Broca, C., Rita, N., Piemonti, L., Gilon, P. (2020) SGLT2 is not expressed in pancreatic α - and β -cells, and its inhibition does not directly affect glucagon and insulin secretion in rodents and humans. *Molecular Metabolism*. 42, 101071. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101071>.
- de Laat, M.A., McGowan, C.M., Sillence, M.N. and Pollitt, C.C. (2010). Equine laminitis: induced by 48 h hyperinsulinaemia in Standardbred horses. *Equine Veterinary Journal* 42, 129–135. <http://doi.org/10.2746/042516409X475779>
- 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>
- Eades, S.C. (2010). Overview of current laminitis research. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 26(1), 51–63. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.01.001>
- Ferrannini, E., Muscelli, E., Frascerra, S., Baldi, S., Mari, A., Heise, T., Broedl, U.C., Woerle, H. (2014). Metabolic response to sodium-glucose cotransporter 2 inhibition in type 2 diabetic patients. *Journal of Clinical Investigation*, 124: 499–508. <http://doi.org/10.1172/JCI72227>
- Ferrannini, G., Hach, T., Crowe, S., Sanghvi, A., Hall, K.D., Ferrannini, E. (2015) Energy balance after sodium–glucose cotransporter 2 inhibition. *Diabetes Care*. 38 (9), 1730–1735. <https://doi.org/10.2337/dc15-0355>
- Fonseca-Correa, J.I., Correa-Rotter, R. (2021). Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors mechanisms of action: A review. *Frontiers in Medicine*, 8. <http://doi.org/10.3389/fmed.2021.777861>
- Frank, N. (2011). Equine metabolic syndrome. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 21(1), 73–92. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.12.004>
- Frank, N., Elliott, S.B., Brandt, L.E., Keisler, D.H. (2006). Physical characteristics, blood hormone concentrations, and plasma lipid concentrations in obese horses with insulin resistance. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 228(9), 1383–1390. <http://doi.org/10.2460/javma.228.9.1383>

- 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. (2013). Insulin dysregulation. *Equine Veterinary Journal*. 46, 103–112. <https://doi.org/10.1111/evj.12169>
- Geor, R.J., Harris, P. (2009). Dietary management of obesity and insulin resistance - countering risk for laminitis. *The Veterinary Clinician Equine Practice*, 25, 51–65.
<http://doi.org/10.1016/j.cveq.2009.02.001>
- 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>
- Henneke, D., Potter, G., Kreider, J., Yeates, B. (1983). Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Veterinary Journal*. 15, 371–372. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1983.tb01826.x>
- Hsia, D.S., Grove, O., Cefalu, W.T. (2017). An update on sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors for the treatment of diabetes mellitus. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*. 24(1), 73–79.
<http://doi.org/10.1097/MED.0000000000000311>
- Hustace, J.L., Firshman, A.M., Mata, J.E. (2009). Pharmacokinetics and bioavailability of metformin in horses. *American Journal of Veterinary Research*. 70, 665–668.
<http://doi.org/10.2460/ajvr.70.5.665>
- Hutley, L., Prins, J.B. (2005). Fat as an endocrine organ: relationship to the metabolic syndrome. *American Journal of Medical Sciences*. 330, 280–289.
- Ivarsson, I. (2022). *Påverkar graden av insulindysreglering effekten av behandling med kanagliflozin hos hästar med ekvint metabolt syndrom?* (Självständigt arbete). Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet.
<http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-s-18696>
- Jacobson, H. (2020). *Utformning av ett nytt diagnostiskt test för att utvärdera behandlingseffekten av SGLT2-hämmare hos hästar med ekvint metabolt syndrom.* (Självständigt arbete). Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet.
<http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-s-15880>
- Jeffcott, L.B., Field, J.R., McLean, J.G., o'Dea, K. (1986). Glucose tolerance and insulin sensitivity in ponies and Standardbred horses. *Equine Veterinary Journal*, 18, 97–101.
<https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1986.tb03556.x>
- Kahn B.B., Shulman G.I., DeFronzo R.A., Cushman S.W., Rossetti L. (1991) Normalization of blood glucose in diabetic rats with phlorizin treatment reverses insulin-resistant glucose transport in adipose cells without restoring glucose transporter gene expression. *Journal of Clinical Investigation*. 87, 561–70.
<http://doi.org/10.1172/JCI115031>
- Karikoski, N. P., Horn, I., McGowan, C. M. (2011). The prevalence of endocrinopathic laminitis among horses presented for laminitis at a first-opinion/referral equine

hospital. *Domestic Animal Endocrinology*, 41(3), 111–117.
<http://doi.org/10.1016/j.domaniend.2011.05.004>

- Kellon, E.M., Gustafson, K.M. (2022). Use of the SGLT2 inhibitor canagliflozin for control of refractory equine hyperinsulinemia and laminitis. *Open Veterinary Journal*. 12(4), 511–518. <http://doi.org/10.5455/OVJ.2022.v12.i4.14>
- Lindåse, S., Nostell, K., Forslund, A., Bergsten, P., Bröjer, J. (2023). Short-term effects of canagliflozin on glucose and insulin responses in insulin dysregulated horses: A randomized, placebo-controlled, double-blind, study. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 37(6), 2520–2528. <http://doi.org/10.1111/jvim.16906>
- 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. <http://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.102797>
- Leise, B.S., Fugler, L.A. (2021). Laminitis updates: Sepsis/systemic inflammatory response syndrome-associated laminitis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 37(3), 639–656. <http://doi.org/10.1016/j.cveq.2021.08.003>
- Lundqvist, H., Müller, C. E. (2022). Feeding time in horses provided roughage in different combinations of haynets and on the stable floor. *Applied Animal Behaviour Science*. 253, 105685. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2022.105685>
- Meier, A., de Laat, M., Pollitt, C., Walsh, D., McGree, J., Reiche, D.B., von Salis-Soglio, M., Wells-Smith, L., Mengeler, U., Mesa Salas, D., Droegemueller, S., Sillence, M.N. (2019a). A "modified Obel" method for the severity scoring of (endocrinopathic) equine laminitis. *PeerJ*. 7, e7084. <http://doi.org/10.7717/peerj.7084>
- Meier, A., de Laat, M., Reiche, D., Fitzgerald, D., Sillence, M. (2019b) The efficacy and safety of velagliflozin over 16 weeks as a treatment for insulin dysregulation in ponies. *BMC Veterinary Research*. 15, 65. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1811-2>
- Meier A, Reiche D, de Laat M, Pollitt C, Walsh D, Sillence, M. (2018). The sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor velagliflozin reduces hyperinsulinemia and prevents laminitis in insulin-dysregulated ponies. *PLoS One*. 13(9), e0203655. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203655>
- Menzies-Gow, N.J., Stevens, K., Barr, A., Camm, I., Pfeiffer, D., Marr, C.M. (2010). Severity and outcome of equine pasture-associated laminitis managed in first opinion practice in the UK. *Veterinary Record*. 167(10), 364–369. <http://doi.org/10.1136/vr.c3206>
- Merovci, A., Solis-Herrera, C., Daniele, G., Eldor, R., Fiorentino, T. V., Tripathy, D., Xiong, J., Perez, Z., Norton, L., Abdul-Ghani, M.A., DeFronzo, R.A. (2014). Dapagliflozin improves muscle insulin sensitivity but enhances endogenous glucose production. *Journal of Clinical Investigation*. 124, 509–514. <http://doi.org/10.1172/JCI70704>
- Merovci A, Mari A, Solis C, DeFronzo RA, Daniele G, Chavez-Velazquez A, Tripathy D., McCarthy, S.U., Abdul-Ghani, M.A., DeFronzo, R.A. (2015). Dapagliflozin lowers plasma glucose concentration and improves β -cell function. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 100, 1927–1932. <http://doi.org/10.1210/jc.2014-3472>

- Morgan, R., Keen, J., McGowan, C. (2015). Equine metabolic syndrome. *Veterinary Record*, 177: 173–179. <https://doi.org/10.1136/vr.103226>
- Obel N. (1948). *Studies on the histopathology of acute laminitis*. (Doktorsavhandling). Almquist and Wiksells Boktryckeri, Uppsala
- 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>
- Rendle DI, Rutledge F, Hughes KJ, Heller J, Durham AE. (2013). Effects of metformin hydrochloride on blood glucose and insulin responses to oral dextrose in horses. *Equine Veterinary Journal*. 45 (6), 751–754. <https://doi.org/10.1111/evj.12068>
- 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*, 34:465–470. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.09.006>
- Selim, S., Elo, K., Jaakkola, S., Karikoski, N., Boston, R., Reilas, T., Särkijärvi, S., Saastamoinen, M., Kokkonen, T. (2015) Relationships among body condition, insulin resistance and subcutaneous adipose tissue gene expression during the grazing season in mares. *PLoS One*. 10(5), e0125968. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125968>
- Shyr, Z.A., Yan, Z., Ustione, A., Egan, E.M., Remedi, M.S. (2022) SGLT2 inhibitors therapy protects glucotoxicity-induced β -cell failure in a mouse model of human KATP-induced diabetes through mitigation of oxidative and ER stress. *PLoS One*. 17(2), e0258054. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258054>
- Suagee, J.K., Corl, B.A., Wearn, J.G., Crisman, M.V., Hulver, M.W., Geor, R.J., McCutcheon, L.J. (2011). Effects of the insulin-sensitizing drug pioglitazone and lipopolysaccharide administration on insulin sensitivity in horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25, 356–364. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0681.x>
- Sundra, T., Kelty, E., Rendle, D. (2022) Preliminary observations on the use of ertugliflozin in the management of hyperinsulinaemia and laminitis in 51 horses: A case series. *Equine Veterinary Education*, 35, 311–320. <https://doi.org/10.1111/eve.13738>
- Svensson, O. (2020). *Kan behandling med kanagliflozin sänka postprandiella glukos- och insulinkoncentrationer hos hästar med EMS? Utvärdering av behandlingseffekten med hjälp av ett oralt sockerbelastningstest*. (Självständigt arbete). Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet. <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-s-17090>
- Tegler, E. (2020). *Kan behandling med SGLT2-hämmare minska det postprandiella insulinsvaret hos hästar med EMS vid utfodring med vallfoder?* (Självständigt arbete). Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet. <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-s-16335>
- Tinworth, K.D., Boston, R.C., Harris, P.A., Sillence, M.N., Raidal, S.L., Noble, G.K. (2012). The effect of oral metformin on insulin sensitivity in insulin-resistant ponies. *The Veterinary Journal*, 191, 79–84. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.01.015>

- Treiber, K.H., Kronfeld, D.S., Hess, T.M., Byrd, B.M., Splan, R.K., Staniar, W.B. (2006). Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional risk factors for pasture-associated laminitis in ponies. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 228(10), 1538–1545 <https://doi.org/10.2460/javma.228.10.1538>
- Truelsen Lindåse, S. (2023). Diagnostik av insulindysreglering (ID) vid ekvint metabolt syndrom (EMS) och hypofysär pars intermedia dysfunktion (PPID). <https://www.universitetsdjursjukhuset.se/globalassets/ew/org/andra-enh/uds/7.-klinisk-kemi/analyser/diagnostik-av-ems-och-ppid-uppdaterad-2023-10-12.pdf> [2023-10-15]
- Truelsen Lindåse, S. (2017). Diagnostik av EMS (Ekvint Metabolt Syndrom) och PPID (Hypofysär Pars Intermedia Dysfunktion) hos häst. <https://www.universitetsdjursjukhuset.se/globalassets/ew/org/andra-enh/uds/dokument/klinkem-pdf/diagnostik-av-ems-och-ppid-uppdaterad-170926.pdf> [2023-10-03]
- USDA (2000). *Lameness and Laminitis in U.S. Horses*. United States Department of Agriculture. https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/equine/downloads/equine98/Equine_98_dr_Lameness.pdf [2023-09-29]
- van Eps, A., Burns, T.A. (2019). Are there shared mechanisms in the pathophysiology of different clinical forms of laminitis and what are the implications for prevention and treatment? *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 35(2), 379–398. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2019.04.001>.
- van Eps, A., Engiles, J., Galantino-Homer, H. (2021). Supporting limb laminitis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 37(3), 657–668. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2021.08.002>
- Van Weyenberg, S., Hesta, M., Buyse, J., Janssens, G.P. (2008). The effect of weight loss by energy restriction on metabolic profile and glucose tolerance in ponies. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 92 (5): 538–545. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2007.00744.x>
- 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, 1144–1155. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-673>
- Wei, R., Cui, X., Feng, J., Gu, L., Lang, S., Wei, T., Yang, J., Lui, J., Le, Y., Wang, H., Yang, K., Hong, T. (2020) Dapagliflozin promotes beta cell regeneration by inducing pancreatic endocrine cell phenotype conversion in type 2 diabetic mice. *Metabolism*. 111, 154324. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2020.154324>
- Wilcox, G. (2005). Insulin and insulin resistance. *The Clinical Biochemist Reviews*. 26(2), 19–39.

Populärvetenskaplig sammanfattning

Ekvint Metabolt Syndrom (EMS) är en relativt ny men vanligt förekommande diagnos inom veterinärmedicinen. Det är en samlingsdiagnos som innefattar olika faktorer som ökar risken att hästen drabbas av fång, en förödande sjukdom som drabbar hästens hovar och kan resultera i allvarlig smärta, hälta, och till och med avlivning. Den riskfaktor som just nu anses vara mest betydande för utvecklandet av fång är ett defekt insulinsvar, så kallat insulindysreglering. Insulin är ett hormon som bildas av β -celler i bukspottskörteln och har en blodsockersänkande effekt som därmed hjälper till att hålla blodsockernivåerna stadiga, till exempel efter födointag. Insulindysreglering inkluderar insulinresistens i kroppens celler, vilket gör att mer insulin krävs för att hålla nere blodsockernivåerna, samt hyperinsulinemi, det vill säga för höga koncentrationer av insulin i blodet.

Hos människor som drabbas av insulinresistens ser man efter ett tag en uttröttnings och nedsättning av β -cellernas funktion, vilket följaktligen ger för låga insulinnivåer, höga blodsockernivåer och utvecklande av diabetes typ 2. Hos häst ser man dock inte denna nedsatta effekt, i stället ser man en ökad utsöndring som svar på cellernas insulinresistens. Detta resulterar i högre och högre nivåer av insulin, till den grad att det kan bli skadligt för hästen. Just hyperinsulinemi tros direkt kunna framkalla fång hos häst, varför det inom dagens fångrelaterade forskning fokuseras mycket på att sänka och förebygga utvecklandet av höga insulinnivåer i blodet. Hästar med EMS behandlas idag generellt konservativt med förändringar i diet och livsstil. Sådana förändringar kan exempelvis vara bantning vid behov, regelbunden rörelse samt noggrant beräknad foderstat baserad på vallfoder som analyserats näringsmässigt och med maximalt sockernehåll på 10 procent av torrsubstansen. I de fall där dessa förändringar inte är tillräckliga, finns förhoppningar om en kompletterande medicinsk behandling. Då fång är en mycket vanligt förekommande sjukdom hade en fullt fungerande behandling inneburit att man skulle kunna rädda väldigt många hästar och ponnyer från onödigt lidande och avlivning.

Det läkemedel som nu anses ha störst potential är en så kallad SGLT2-hämmare, ett läkemedel som används mycket inom humanvården på människor med diabetes typ 2. SGLT2-hämmare är en blodsockersänkande medicin som verkar genom att hindra det socker som filtreras ut i njuren från att transporteras tillbaka till

blodbanan. I stället följer sockret med urinen ut. Då ett högt blodsocker tvingar bukspottskörteln att utsöndra mer insulin, är förhoppningen att ett minskat blodsocker ska minska mängden insulin i blodet. Ett flertal studier har gjorts på hästar där de behandlats under en kort tid med SGLT2-hämmare, och resultaten har varit väldigt lovande, med anmärkningsvärda sänkningar av både blodsocker och insulin. Förhoppningen är att läkemedlet ska hjälpa till att hålla insulinnivåerna tillräckligt låga för att inte hästen ska utveckla fång.

I denna studie valdes fem hästar som diagnostiserats med insulindysreglering ut för att undersöka läkemedlets effekt under en längre tid, i detta fall ett och två år. Förhoppningen var att se en bibehållen effekt i form av fortsatt sänkt blodsocker och insulinsvar. Vid de tre provtagningstillfällena (före behandling, efter ett år och efter två år) vägdes hästarna och en veterinär bedömde hästarnas hull och fettinlagring i mankammen, så kallad fettackepoäng. Hull och fettackepoäng är subjektiva bedömningar enligt ett protokoll, där hullbedömningen avser tjockleken på underhudsfettet, och fettackepoängen är en bedömning av den fettdepå som finns i hästens mankam och ofta är tydligt framhävd hos hästar med EMS. Efter vägning och bedömning utfördes vid alla tre tillfällena ett oralt glukostoleranstest (OGT) samt ett fodertoleranstest (MTT), som innebär att hästarna ges glykossirap (OGT) eller sitt vanliga foder (MTT) och att man sedan genom blodprov mäter hur blodsocker och insulin förändras under 240 minuter. Vid studiens start samt efter två års behandling utfördes ytterligare ett test, en graderad glukosinfusion (GGI) där en ökande mängd glukos kontinuerligt injicerades i blodbanan för att man genom att mäta insulinutsöndringen skulle få veta hur kraftigt β -cellerna svarade med att bilda insulin.

De resultat som erhöles tyder på en fortsatt god effekt av läkemedlet efter både ett och två år. Viktminskning samt lägre hull och fettackepoäng noterades, liksom ett minskat blodsocker- och insulinsvar efter socker/födointag. Vid några av mätningarna sågs en mindre uppgång tillbaka mot startvärdena mellan år ett och två, denna uppgång var dock bara statistiskt säkerställd vid en mätning; det totala insulinsvaret efter fodergiva. Denna förändring ansågs bero på en "outlier" som drog upp medelvärdet för övriga hästar. Resultaten för GGI-mätningen visade också att läkemedlet haft en positiv effekt på β -cellernas funktion, alltså utsöndrades mindre insulin per glukosenhet vilket innebär att risken för hyperinsulinemi minskar. Resultaten tyder på att SGLT2-hämmare påverkar hästens insulinnivåer både indirekt genom att sänka blodsockernivåerna och genom påverkan på bukspottskörteln β -celler och dess utsöndring av insulin. Resultaten är mycket lovande för läkemedlets framtid som EMS-behandling, dock behöver fler långtidsstudier med en mer omfattande kontroll av diet och skötselrutiner utföras.

Tack

Mamma och pappa - om jag skulle skriva alla anledningar jag har att tacka er hade antalet sidor i detta examensarbete fördubblats. Mattias, tack för att du kämpat så hårt för att hålla mitt humör och min kämpaglöd uppe, och för att du ständigt påmint mig om att det finns ett liv utanför exjobbsskrivandet. Mormor, jag är så ledsen att du aldrig fick chansen att läsa det här, men jag vet hur stolt du var och hade fortsatt vara över mina prestationer.

Mina älskade Voff Duty och andra fantastiska klasskamrater som jag har kunna bolla idéer, frågor och ångestpåslag med vilket har varit nödvändigt för att klara mig igenom programmet och för få ihop det här arbetet. Min otroligt kunniga och till ämnet hängivna handledare Johan, vars intresse smittat av sig och som gjort att jag med glädje suttit dag in och dag ut och letat vetenskapliga artiklar.

Sist men inte minst; vad vore jag utan mina tre hjärtehästar Esprit, Weltina och Fairytale, vars oturliga sjukdomshistoria är orsaken till att jag intresserade mig av och ville skriva om EMS, fång och dess läkemedel från första början. Vem är och var som ni?

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.