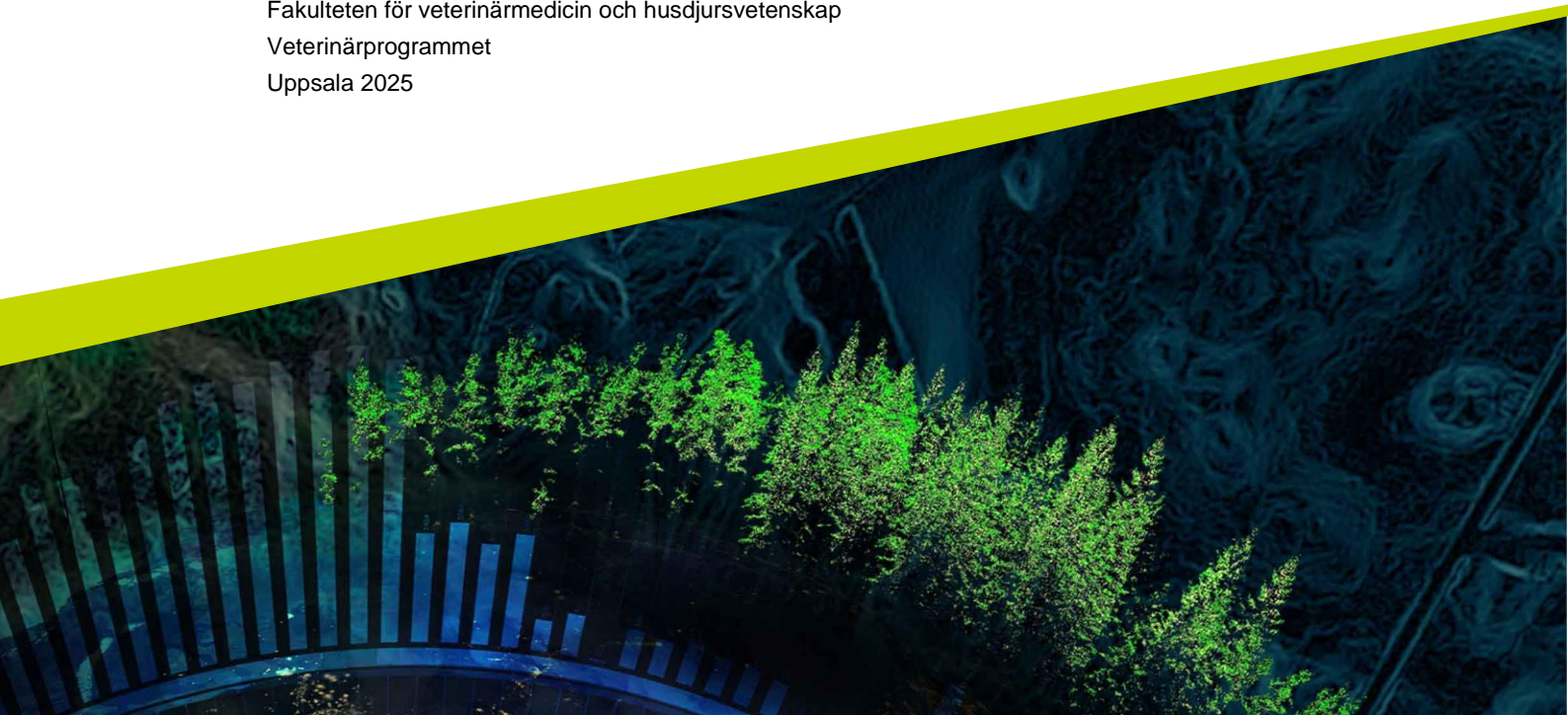




Hur korrelerar plasmakoncentrationen av inkretinhormonet GLP-1 till inkretineffekten hos friska hästar och hästar med insulindysreglering?

Ebba Jakobsson

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet
Uppsala 2025



Hur korrelerar plasmakoncentrationen av inkretinhormonet GLP-1 till inkretineffekten hos friska hästar och hästar med insulindysreglering?

The relationship between plasma concentrations of the incretin hormone GLP-1 and the incretin effect in healthy horses and horses with insulin dysregulation

Ebba Jakobsson

Handledare:	Sanna Truelsen Lindåse, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper
Bitr. handledare:	Johan Bröjer, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper
Examinator:	Katarina Nostell, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper
Omfattning:	30 hp
Nivå och fördjupning:	Avancerad nivå, A2E
Kurstitel:	Självständigt arbete i veterinärmedicin
Kurskod:	EX1003
Program/utbildning:	Veterinärprogrammet
Kursansvarig inst.:	Institutionen för kliniska vetenskaper
Utgivningsort:	Uppsala
Utgivningsår:	2025
Upphovsrätt:	Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.
Nyckelord:	ekvint metabolt syndrom EMS, insulindysreglering ID, insulinresistens IR, hyperinsulinemi, inkretiner, glucagon-like peptide-1 GLP-1

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Hästar med insulindysreglering (ID) har en nedsatt förmåga att reglera insulinkoncentrationen i plasma. Tillståndet karaktäriseras av insulinresistens (IR) och hyperinsulinemi (onormalt höga plasmakoncentrationer av insulin) som är särskilt uttalad efter utfodring. Hyperinsulinemi har i sin tur kopplats till utveckling av fång, ett smärtsamt inflammatoriskt tillstånd som påverkar lamellskiktet i hästens hov. Tros att patofysiologin bakom fång ännu inte är fullständigt förstådd, kan förebyggande åtgärder minska risken för insjuknande.

Hästar med kompenserad IR kan, tack vare ökad insulinproduktion, bibehålla normala blodsockernivåer och utvecklar därför sällan diabetes mellitus typ II (DMT2). Behandling av ID fokuserar främst på att sänka insulinnivåerna genom en diet med lågt socker- och stärkelseinnehåll samt regelbunden fysisk aktivitet. Viktminskning är en del av behandlingsstrategin för överviktiga hästar. Vid allvarlig ID kan medicinsk behandling bli nödvändig utöver dessa åtgärder.

Inkretinhormoner, som frisätts från tarmen vid oralt intag av glukos, har visat sig spela en central roll i regleringen av postprandiell insulinfrisättning hos människa. Dessa hormoner stimulerar pankreas att frisätta insulin, vilket är avgörande för kroppens metabola reglering efter måltid. Studier inom humanmedicin har visat att oralt glukosintag ger en starkare insulinfrisättning än intravenös glukostillförsel, vilket har lett till konceptet "inkretineffekten". Resultat från ett tidigare genomfört examensarbete vid Institutionen för kliniska vetenskaper på SLU, visar att även hästar har en inkretineffekt. Hur denna inkretineffekt korrelerar till plasmakoncentrationer av inkretinhormoner har inte tidigare utvärderats.

Examensarbetet är en del av en större pågående studie vid SLU där inkretineffekten hos häst studeras. I examensarbetet ingick fem kliniskt friska hästar och fem hästar diagnostiserad ID. Syftet var att undersöka sambandet mellan plasmakoncentrationer av inkretinhormonet glucagon-like peptide-1 (GLP-1) och inkretineffekten hos friska hästar och hästar med ID.

Studien bekräftar förekomsten av en inkretineffekt hos hästar och visar att hästar med ID har en högre inkretineffekt än friska hästar. Denna förhöjda inkretineffekt kan potentiellt bidra till utvecklingen av hyperinsulinemi hos ID-hästar. För att bättre förstå sambandet och patofysiologin bakom ID krävs ytterligare forskning, särskilt kring kopplingen mellan hyperinsulinemi och IR samt inkretinhormonernas roll i dessa mekanismer.

I studien observerades inga signifikanta skillnader i plasmakoncentrationer av aGLP-1 mellan grupperna, och inget linjärt samband identifierades mellan den postprandiella aGLP-1-responsen under ett oralt glukostoleranstest (OGTT) och inkretineffekten. Även om GLP-1 hos människor är ett centralt inkretinhormon som stimulerar insulinfrisättning och sannolikt har en liknande funktion hos hästar, stöds detta antagande inte av resultaten. Den mest sannolika förklaringen till dessa fynd är att den humanspecifika analysmetod som användes för att mäta aGLP-1-koncentrationer, i denna och tidigare studier på häst, saknar tillräcklig specificitet för att detektera hästspecifikt GLP-1. Därmed framstår metoden som olämplig för användning på hästar.

Nyckelord: ekvint metabolt syndrom EMS, insulindysreglering ID, insulinresistens IR, hyperinsulinemi, inkretiner, glucagon- like peptide- 1 GLP-1

Abstract

Horses with insulin dysregulation (ID) exhibit a decreased capacity to regulate the plasma insulin concentration. The condition is characterized by insulin resistance (IR) and hyperinsulinemia (abnormally high plasma concentrations of insulin), which is particularly pronounced after feeding. Hyperinsulinemia, in turn, has been linked to the development of laminitis, a painful inflammatory condition affecting the lamellar tissue in the horse's hoof. Although the pathophysiology of laminitis is not yet fully understood, preventive measures can reduce the risk of disease onset.

Horses with compensated IR can maintain normal blood glucose levels over time due to increased insulin production and therefore rarely develop type 2 diabetes (DMT2). Treatment of ID primarily focuses on lowering insulin levels through a diet low in sugars and starches, along with regular physical activity. For overweight horses, weight loss is a part of the treatment strategy. In severe cases of ID, medical intervention may be necessary in addition to these measures.

Incretin hormones, which are released from the intestine in response to oral glucose intake, play a key role in regulating postprandial insulin secretion in humans. These hormones stimulate the pancreas to release insulin, which is crucial for metabolic regulation after a meal. Studies in human medicine have demonstrated that oral glucose intake induce a stronger insulin response compared to intravenous glucose administration, leading to the concept of the "incretin effect". Results from a previous master thesis conducted at the Department of Clinical Sciences at SLU, indicate that horses also exhibit an incretin effect. However, the correlation between the incretin effect and plasma concentrations of incretin hormones in horses has not been evaluated.

This master's thesis is a part of a larger ongoing study at SLU investigating the incretin effect in horses. The study included five clinically healthy horses and five horses diagnosed with ID. The aim was to investigate the relationship between plasma concentrations of the incretin hormone glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and the incretin effect in healthy horses and horses with ID.

The study confirms the presence of an incretin effect in horses and demonstrates that ID horses exhibit a more pronounced incretin effect compared to healthy horses. This increased incretin effect may potentially contribute to the development of hyperinsulinemia in ID horses. To enhance the understanding of the pathophysiology of ID, further research is needed, particularly focusing on the relationship between hyperinsulinemia and IR, as well as the role of incretin hormones in these mechanisms.

The study observed no significant differences in aGLP-1 concentrations between ID horses and controls, and no linear correlation was identified between the postprandial aGLP-1 response during an oral glucose tolerance test (OGTT) and the incretin effect. Although GLP-1 is a key incretin hormone in humans that stimulates insulin secretion, and it is presumed to have a similar role in horses, the results do not support this assumption. The most probable explanation for these findings is that the human-specific assay used to measure aGLP-1 concentrations lacks sufficient specificity to detect horse-specific GLP-1. Consequently, the method appears unsuitable for use in horses.

Keywords: Equine metabolic syndrome EMS, insulindysregulation ID, Insulin resistance IR, hyperinsulinemia, incretin, glucagon-like peptide-1 GLP-1

Innehållsförteckning

Tabellförteckning	9
Figurförteckning	10
Förkortningar	11
1. Inledning	13
2. Litteraturoversikt	15
2.1 Fång	15
2.2 Insulin	15
2.3 Insulinresistens och insulindysreglering	16
2.4 Inkretinhormoner och inkretineffekten	17
2.5 Ekvint metabolt syndrom	18
2.6 Pituitary pars intermedia dysfunction	19
2.7 Diagnostiska tester för insulindysreglering	19
2.8 Metoder för hullbedömning	20
2.9 Behandlingsstrategier för insulindysreglering	21
2.9.1 Utfodring	21
2.9.2 Motion	22
2.9.3 Medicinsk behandling	22
2.10 Metodvalidering	23
3. Material & metod	25
3.1 Deltagande hästar	25
3.2 Studiedesign	26
3.2.1 Uppstallning och utfodring	26
3.2.2 Instrumentering	27
3.2.3 Utförande av oralt glukostoleranstest (OGTT)	27
3.2.4 Utförande av isoglykemisk intravenös glukostoleranstest (IIGI)	27
3.2.5 Provhantering och blodprovsanalyser	27
3.2.6 Statistiska beräkningar	28
4. Resultat	29
4.1 Skillnader i aGLP-1 mellan grupper under OGTT	29
4.2 Samband mellan inkretineffekten och AUC aGLP-1 under OGTT	29
5. Diskussion	31
Konklusion	34
Referenser	35
Populärvetenskaplig sammanfattning	41
Tack	43

Tabellförteckning

Tabell 1. Basdata avseende ras, kön, ålder, BCS, CNS samt PPID-status för kontrollhästar (n=5) respektive hästar med ID (n=5). N, antal hästar; ID, insulin-dysreglering; SVT, svensk varmblodig travare; BCS, Body Condition Score; CNS, Cresty Neck Score; PPID, Pituitary Pars Intermedia Dysfunction.	26
Tabell 2. Data för 5 friska hästar (kontrollgrupp) och 5 hästar med insulin-dysreglering (ID) undersökta med ett oralt glukostoleranstest (OGTT) och isoglykemiskt intravenös glukosinfusion (IIGI). Tabellen visar individuella värden för inkretineffekten samt medelvärde \pm standardavvikelse för kontrollgruppen (n=5), alla ID-hästar (n=5) och fyra ID-hästar (häst G, H, N och S) med hög inkretineffekt (n=4).	30

Figurförteckning

- Figur 1. Data för 5 friska hästar (kontrollgrupp) och 5 hästar med insulindysreglering (ID) undersökta med ett oralt glukostoleranstest (OGTT). Figur 1A visar medelvärde \pm standardavvikelse för aGLP-1 koncentrationer över tid under OGTTn, för respektive grupp. Figur 1B visar OGTT arean under kurvan (AUC) aGLP-1 för respektive grupp. 29
- Figur 2. Punktdiagram för 5 friska hästar (kontrollgrupp; orange cirklar) och 5 hästar med insulindysreglering (ID; blå fyrkanter) som visar korrelationen mellan inkretin-effekten och arean under kurvan (AUC) för aGLP-1 beräknad från ett oralt glukos-toleranstest (OGTT). R^2 =determinationskoefficienten. 30

Förkortningar

AUC	Area under kurvan
BCS	Body Condition Score
CNS	Cresty Neck Score
DMT2	Diabetes Mellitus typ II
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EMS	Ekvint metabolt syndrom
GLP-1	Glucagon-like peptide-1
ID	Insulindysreglering
IIGI	Isoglykemisk intravenös glukosinfusion
IR	Insulinresistens
IS	Insulinkänslighet
OGTT	Oralt glukostoleranstest
PPID	Pituitary Pars Intermedia Dysfunction

1. Inledning

Ekvint metabolt syndrom (EMS) är ett sjukdomskomplex som drabbar hästar och ponnyer och som kännetecknas av störningar i ämnesomsättningen, där insulindysreglering (ID) utgör den centrala komponenten. Insulindysreglering manifesteras genom insulinresistens (IR) och förhöjda insulinnivåer i blodet (hyperinsulinemi) vid fasta och/eller som en respons på utfodring. Hyperinsulinemi är en känd riskfaktor för fång, en smärtsam sjukdom som drabbar hästens hovar. Behandling av ID syftar till att normalisera glukos- och insulinnivåerna, främst genom justeringar i utfodring och motion.

Insulinfrisättning från pankreas påverkas bland annat av inkretinhormoner. Dessa hormoner frisätts från celler i tunntarmen efter födointag och stimulerar β -cellerna att frisätta insulin. Denna mekanism känd som inkretineffekten, leder till att insulinfrisättningen är högre efter oralt glukosintag jämfört med intravenös glukostillförsel.

Hos människor med Diabetes Mellitus typ II (DMT2) har en minskad inkretineffekt observerats, vilket leder till försämrad insulinfrisättningen efter måltid och bidrar till hyperglykemi. En av de mest studerade inkretinhormonerna, Glucagon-like peptide-1 (GLP-1), spelar en central roll i denna mekanism. Hos hästar är dock inkretinhormonernas funktion och betydelse fortfarande oklara. Tidigare studier har indikerat att inkretineffekten kan vara förhöjd hos hästar med ID. Dessa resultat har dock främst baserats på analyser av inkretinhormoner med humanspecifika metoder och direkta kvantitativa utvärderingar av inkretineffekten hos hästar saknas.

Det finns studier som pekar på ett omvänt icke-linjärt samband mellan postprandiell insulinrespons och IR. Vilket innebär att förvärrad IR kan leda till ökad hyperinsulinemi (Lindåse 2017). Frågan om vilken komponent som är primär, hyperinsulinemi eller IR, förblir obesvarad. För att öka förståelsen av de mekanismer som ligger bakom utvecklingen av EMS och dess relaterade komplikationer, är det avgörande att utforska inkretinhormonernas roll samt det komplexa samspelet mellan ID och hyperinsulinemi hos hästar.

Ett tidigare genomfört examensarbete vid Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) har kvantifierat inkretineffekten hos ett begränsat antal hästar. Resultat från denna studie indikerar att det finns en inkretineffekt hos hästar och att skillnader i denna effekt föreligger mellan friska hästar och hästar med ID. Eftersom GLP-1 spelar en central roll i inkretineffekten hos människor, uppstår frågan om hormonet kan ha en liknande funktion hos hästar.

Detta examensarbete syftar primärt till att undersöka sambandet mellan inkretineffekten och plasmakoncentrationer av inkretinhormonet GLP-1 hos friska hästar och hästar med ID, där GLP-1 analyseras med en humanspecifik analysmetod.

Frågeställningar:

1. Hur korrelerar plasmakoncentrationer av inkretinhormonet GLP-1 analyserat med en human ELISA mot inkretineffekten hos friska hästar och hästar med insulindysreglering?
2. Är det skillnader i plasmakoncentrationer av inkretinhormonet GLP-1 analyserat med en human ELISA mellan friska hästar och hästar med insulindysreglering?
3. Har hästar med insulindysreglering en ökad inkretineffekt jämfört med friska hästar?

2. Litteraturöversikt

2.1 Fång

Fång är en allvarlig sjukdom som drabbar lamellskiktet i hoven och orsakar en smärtsam separation mellan hovbenet och hovväggen. Denna separation kan orsaka att hovbenet sjunker eller roterar inom hovkapseln, vilket i sin tur skapar ett betydande tryck på sulan och svår smärta (Pollitt 2004). Tillståndet kan variera i svårighetsgrad och resultera i hälta och deformationer i hovväggen (de Laat *et al.* 2013). Sjukdomen har ofta ett långvarigt förlopp som kan försämra hästens livskvalitet avsevärt och i allvarliga fall kräva avlivning av djurskyddsskäl. Kliniska tecken på fång inkluderar förhöjd digitalpuls, ökad värme i hovväggen, förändringar i kronranden, ömhet vid tryck över tån samt rörelsestörningar i varierande svårighetsgrad. För att bedöma sjukdomens svårighetsgrad används ofta Obels skala, som graderar fång från I till IV (Obel 1948).

Flera faktorer kan utlösa fång, däribland överkonsumtion av spannmål, mekanisk överbelastning, systemiska inflammatoriska tillstånd (som kolit och metrit) samt störningar i insulinmetabolismen. Dessa metabola störningar kan ses hos hästar med ekvint metabolt syndrom (EMS) och förekommer även, om än i mindre omfattning, hos hästar med pituitary pars intermedia dysfunction (PPID) (van Eps & Burns 2019; Treiber *et al.* 2006).

Prognosen för hästar med fång påverkas av sjukdomens svårighetsgrad, omfattningen av de patologiska förändringarna i hoven samt hur väl de svarar på insatt behandling. Hästens respons och välbefinnande under behandlingen, liksom djurägarens tålamod, är avgörande för återhämtningen, eftersom sjukdomen ofta kräver omfattande och tidskrävande åtgärder samt har en lång konvalescenstid.

2.2 Insulin

Insulinreceptor och signaleringsvägar

Insulin är ett peptidhormon som produceras i β -cellerna i de Langerhanska cellöarna i pankreas och spelar en central roll i kroppens energimetabolism. Insulin verkar genom att binda till insulinreceptorn, en transmembran receptor bestående av två alfa- och två betasubenheter, sammanbundna av disulfidbindningar. Alfa-subenheterna, som är belägna extracellulärt, ansvarar för att binda insulin, medan betasubenheterna sträcker sig genom cellmembranet och in i cytoplasman. När insulin binder till alfasubenheterna sker en konformationsändring i receptorn som utlöser autofosforylering av betasubenheterna. Detta aktiverar en intracellulär signaleringskaskad, vilket leder till att glukostransportören GLUT-4 förflyttas från

intracellulära versiklar till cellmembranet. Denna process möjliggör glukosupptag främst i skelettmuskulatur och fettvävnad. Insulin bryts huvudsakligen ned i lever och njurar, men viss nedbrytning sker även i målvävnaderna. Nedbrytningen är avgörande för att reglera insulinets aktivitet och förhindra överdriven effekt på glukosmetabolismen (Sjaastad *et al.* 2016).

Variationer i insulinproduktion och insulinkänslighet

Hästens ämnesomsättning och fysiologi är anpassad efter årtidsväxlingar, vilket tros ha utvecklats för förbättrad överlevnad i tempererade klimat (Arnold *et al.* 2006; Beythien *et al.* 2017; Brinkmann *et al.* 2012). Forskning visar att β -cellernas insulinproduktion ökar under perioder med kortare dagsljus (Beythien *et al.* 2017). Även insulinkänsligheten (IS) varierar under dygnet, med en lägre känslighet på morgonen och högre på kvällen (Glunk *et al.* 2015). Ålder påverkar också insulin-svaret, där äldre hästar uppvisar en ökad insulinrespons efter intag av stärkelserika fodermedel jämfört med yngre individer (Jacob *et al.* 2018). Insulinkänsligheten i målvävnaden och β -cellernas insulinsvar är nära sammankopplade och uppvisar ett omvänt proportionellt förhållande; när IS minskar, kompenserar β -cellerna genom att öka sin insulinproduktion (Lindåse *et al.* 2017).

2.3 Insulinresistens och insulindysreglering

Insulinresistens kännetecknas av en nedsatt förmåga hos kroppens vävnader att svara på insulin, vilket leder till en ineffektiv reglering av blodsockernivåerna. IR delas in i två former: kompenserad och okompenserad. Vid kompenserad IR ökar pankreas sin insulinproduktion för att upprätthålla normala blodsockernivåer, vilket leder till onormalt höga koncentrationer av insulin i blodet - kallat hyperinsulinemi. Om pankreas inte längre kan möta det ökade behovet av insulin utvecklas okompenserad IR, vilket i sin tur leder till DMT2. Detta sker när β -cellerna inte längre klarar av den ökade belastningen, vilket resulterar i sviktande insulinproduktion och utveckling av hyperglykemi (Frank *et al.* 2010).

Hos hästar är kompenserad IR vanligt, eftersom deras β -celler har förmågan att bibehålla en hög insulinproduktion under längre perioder. Detta bidrar till att hästar, till skillnad från människor, har en ökad motståndskraft mot att utveckla DMT2 (de Laat *et al.* 2016). Graden av IR varierar dock mellan individer och kan påverkas av faktorer såsom dietförändringar, variationer i kroppsbyggnad och kondition, produktion av stresshormoner och säsongsvariationer (Hoffman *et al.* 2003).

Insulindysreglering är ett övergripande begrepp som inkluderar hyperinsulinemi vid fasta och/eller postprandiellt samt IR (Durham *et al.* 2019).

Samband mellan ID och fång

Forskning har visat att höga insulinnivåer kan bidra till fång, och i experimentella studier av Aspin *et al.* (2007) och De Laat *et al.* (2010) har man framkallat fång hos tidigare friska hästar och ponnyer genom isoglykemisk insulininfusion. Dessa resultat stöder teorin om att hyperinsulinemi är associerad med fångutveckling, även om den exakta patofysiologin ännu inte är fullständigt klarlagd (Durham *et al.* 2019).

Samband mellan ID och övervikt

Studier har visat att fetma är associerad med utveckling av ID och att fetma kan minska IS (Hoffman *et al.* 2003; Vick *et al.* 2007). I en studie av Lindåse *et al.* (2016b) inducerades fetma hos hästar med IR, men man fann inga signifikanta förändringar i IS. En liknande studie av Bamford *et al.* (2016), visade också att IS inte minskade hos hästar och ponnyer som ökade i vikt. Dessa resultat antyder att fetma i sig inte nödvändigtvis leder till IR, utan att IR snarare kan vara en bidragande faktor till viktökning.

2.4 Inkretinhormoner och inkretineffekten

Hos människor har inkretiner, en grupp hormoner som frisätts från magtarmkanalen, en central roll i att reglera insulinfrisättning och glukosnivåer efter måltid. När glukos intas oralt stimuleras insulinfrisättningen mer än vid intravenös tillförsel, trots att glukosnivåerna i blodet är likvärdiga. Detta fenomen, känt som inkretineffekten, uppstår till följd av frisättning av inkretinhormoner, huvudsakligen glucose- dependent insulinotropic polypeptide (GIP) och glucagon-like peptide-1 (GLP-1) (Nauck & Meier 2018).

Glucagon-like peptide-1 och GIP reglerar blodglukosnivåerna genom flera mekanismer. De stimulerar insulinfrisättning genom att binda till receptorer i pankreas, ökar β -cellproliferation och förhindrar apoptos. Glucagon-like peptide-1 ökar dessutom IS och glukosupptaget i vävnader. Dessa hormoner minskar också glukagonfrisättningen från α -celler, fördröjer magsäckstömningen, dämpar aptiten och minskar glukosproduktionen i levern, vilket ytterligare bidrar till en förbättrad blodsockerbalans (Rachman *et al.* 1997; Toft-Nielsen *et al.* 1999; Drucker 2006).

Inkretineffekten illustrerar det komplexa samspelet mellan tarmens och pankreas endokrina funktioner, vilket ofta benämns som den entero-insulära axeln. Inkretineffekten mäts genom att jämföra insulinutsöndringen efter oralt glukosintag med den efter intravenös glukostillförsel vid matchade blodglukosnivåer. Studier på människor har visat att inkretineffekten är kraftigt nedsatt hos personer med DMT2, även hos dem som fortfarande har en fungerande insulinproduktion (Nauck *et al.* 1986). Denna reducerade effekt förklaras sannolikt av en minskad produktion eller

frisättning av inkretinhormoner, samt en nedsatt insulinotrop effekt, särskilt GIP, medan GLP-1 verkar behålla en större del av sin insulinotropiska effekt (Nauck & Müller 2023).

Den försämrade inkretineffekten kan försämra kroppens förmåga att effektivt reglera postprandiala blodglukosnivåer, vilket kan bidra till en dysfunktionell glukosreglering. Detta kan resultera i en försämrad glukoshomeostas och ökad risk för hyperglykemi (Nauck & Müller 2023).

För närvarande saknas publicerade vetenskapliga studier som genom jämförelse av insulinkoncentrationer vid oral respektive intravenös glukostillförsel har utvärderat inkretineffekten hos hästar. Ett tidigare examensarbete av Sjöberg (2024) undersökte emellertid inkretineffekten hos både friska hästar och hästar med ID. Studien visade att samtliga hästar hade en högre insulinfrisättning efter oral glukostillförsel jämfört med intravenös vid matchade blodglukoskoncentrationer, vilket tyder på att inkretineffekten existerar hos hästar. Dessutom var inkretineffekten mer uttalad hos hästar med ID.

Ett flertal studier har undersökt inkretinhormonet GLP-1, som hos människor spelar en central roll i att stimulera insulinfrisättning efter födointag (Drucker 2006): Dessa studier har analyserat plasma GLP-1 koncentrationer hos både friska hästar och hästar med ID, men direkta jämförelser av GLP-1-nivåer mellan oral glukos-toleranstest (OGTT) och isoglykemisk intravenös glukosinfusion (IVGTT) har inte genomförts. I dessa studier har analysmetoder för humant bruk använts, vilka saknar hästspecifika standardlösningar. Detta kan påverka resultatens tillämplighet på hästar.

Några av de studier som har undersökt GLP-1 har indikerat en möjlig positiv korrelation mellan GLP-1 och insulinnivåer (Bamford *et al.* 2015; de Laat *et al.* 2016) vilket lett till konklusionen att hästar med ID har en ökad inkretineffekt. Däremot har andra studier inte kunnat bekräfta denna korrelation (Chameroy *et al.* 2016; Fitzgard *et al.* 2019b). Dessa motstridiga resultat understryker behovet av ytterligare forskning för att förstå GLP-1 hormonets roll i hästens metabola reglering och dess påverkan på insulinsvaret.

2.5 Ekvint metabolt syndrom

Ekvint metabolt syndrom är ett samlingsbegrepp för olika endokrina avvikelser som drabbar hästar och ponnyer, där ID utgör en central del (Frank 2011) på grund av dess koppling till utvecklande av fång.

Utöver ID och ökad risk för fång är övervikt och onormala fettansamlingar, särskilt runt svansroten och i mankammen (s.k. ”cresty neck”), vanligt förekommande hos

hästar med EMS (Durham *et al.* 2019). Omfattningen av fetma bedöms med hjälp av Cresty Neck Score (CNS) och Body Condition Score (BCS), där högre värden indikerar mer uttalad fettansamling.

Patofysiologin bakom EMS är ännu inte helt klarlagda, men genetiska faktorer tros ha en betydande inverkan. Shetlandspionny, Islandshäst och Andalusier är exempel på raser predisponerade för att utveckla EMS (Durham *et al.* 2019; Bröjer *et al.* 2013). Ekvint metabolt syndrom kan också förekomma samtidigt med andra hormonella sjukdomar, såsom PPID, vilket kan komplicera både diagnos och behandlingsstrategi (Durham *et al.* 2019).

2.6 Pituitary pars intermedia dysfunction

Pituitary pars intermedia dysfunction (PPID) är en endokrin sjukdom som främst drabbar äldre hästar, vanligtvis över 15 år (Shcott 2002). Sjukdomen antas bero på degeneration av dopaminerga neuron, vilket leder till minskad dopaminfrisättning från hypotalamus. Dopamin fungerar normalt som en hämmande signal för frisättning av proopiomelanokortin (POMC) från hypofysen, en prekursor till adrenokortikotrop hormon (ACTH). Minskade nivåer av dopamin resulterar i ökad POMC - frisättning, vilket i sin tur höjer nivåerna av ACTH. Detta hormon stimulerar binjurarna till ökad produktion och den diurnala frisättning av kortisol blir störd (McFarlane 2011; Beech *et al.* 2011).

Hästar med PPID uppvisar ofta symtom som hypertrichos (förlängd och förtjockad päls), utebliven pälsfällning, muskelförlust samt polyuri och polydipsi (Kirkwood *et al.* 2022).

Diagnostik av PPID

Diagnosen PPID hos hästar baseras ofta på mätning av ACTH-nivåer i blodet. Referensvärdena för dessa nivåer är säsonganpassade för att ta hänsyn till de naturliga variationer som sker under året, vilket möjliggör en mer tillförlitlig bedömning. Ett annat diagnostiskt verktyg är dexametasonhämningstestet, som syftar till att bedöma kroppens respons på kortisonhämning. Hos en frisk häst förväntas testet minska ACTH-produktionen, vilket sänker kortisolnivåerna. Hos hästar med PPID uteblir denna hämmande effekt, vilket resulterar i kvarstående höga kortisolnivåer (McFarlane 2011).

2.7 Diagnostiska tester för insulindysreglering

Flera metoder har utvecklats för att bedöma glukos- och insulindynamiken hos hästar, varav de flesta syftar till att diagnosticera ID. En grundläggande metod är att mäta glukos- och insulinnivåer vid fasta, där förhöjda insulinnivåer kan indikera ID (Firshman & Valberg 2007). Denna metod har dock begränsad tillförlitlighet

eftersom vissa hästar med ID kan uppvisa normala fastevärden. Av denna anledning föredras dynamiska tester som ger en mer detaljerad bedömning av glukos- och insulinreglering, och som anses vara mer tillförlitlig för att diagnostisera ID (Durham *et al.* 2019).

Oralt glukostoleranstest

Olika varianter av orala glukostoleranstester rekommenderas oftast i första hand för att diagnostisera ID (Frank 2012). I Sverige används en modifierad version där glukossirap från Dansukker ges peroralt följt av blodprovstagning för analys av glukos och insulin (Lindåse *et al.* 2016a). Testet genomförs på morgonen efter att hästen fastat över natten. Det är viktigt att ta hänsyn till att insulinresponsen kan variera till följd av flera olika faktorer. Det är beskrivet att insulin kan variera med årstid, med starkare svar? under vår och vinter jämfört med sommar och höst (Macon *et al.* 2022), liksom över tid för samma individ utan koppling till årstid (Karikoski *et al.* 2022).

Ett OGTT speglar en utfodringssituation och är därmed väl anpassat till hästars normala fysiologiska förhållanden. Testresultaten kan dock påverkas av faktorer som magsäckstömning, β -cellernas respons, leverns glukoshantering och inkretinhormonernas effekter (Kronfeld *et al.* 2005).

Intravenöst glukostoleranstest

Vid ett intravenöst glukostoleranstest administreras glukos intravenöst, och blodprover tas vid specifika tidpunkter för att analysera glukos- och insulinkoncentrationerna (Firshman & Valberg 2007).

Testen utförs på fastande hästar för att minimera foderintagets påverkan på resultaten (Kronfeld *et al.* 2005). Vid intravenös glukostoleranstest elimineras de faktorer som påverkar insulinfrisättningen vid peroral administration av glukos varför de intravenösa testerna medför en bättre möjlighet att estimerar graden av IR.

2.8 Metoder för hullbedömning

Hullbedömning är en viktig del av utvärderingen av hästar med endokrina rubbningar, då dessa ofta kopplas till övervikt och överhull (Bertin & Fraser 2020). De vanligaste systemen är Body Condition Score (BCS) (Henneke *et al.* 1983) och Cresty Neck Score (CNS) (Carter *et al.* 2009b), som bedömer mängden subkutant fett på olika delar av hästen. Detta ger en indikation på om hästen är i underhull, normalhull eller överhull (Bertin & Fraser 2020).

Body Condition Score

Body condition score bedömer mängden subkutant fett på en skala från 1 till 9, där 1 representerar en mycket mager häst och 9 en mycket fet häst. Områden som utvärderas är nacke och mankam, manke, rygg och länd, revben, höfter och kors, samt svansrot, och bedömningen görs genom palpation och visuell inspektion (Henneke *et al.* 1983). Ett BCS på 4–5 anses vara idealiskt och de utanför detta intervall kan behöva korrigering i utfodring och motion.

Cresty Neck Score

Cresty Neck Score bedömer fettansamling i mankammen enligt en skala mellan 0–5 (Carter *et al.* 2009b). Vissa hästar, särskilt ponnyraser och andra raser benägna att lagra fett, kan ha en kraftig mankam även om deras BCS är inom det normala intervallet. Därför är CNS ett viktigt komplement till BCS när man bedömer hästens hull. Ett värde på ≥ 3 är kopplat till en ökad risk för ID och fång, och ett högre CNS-värde anses ha ett starkare samband med ID än ett högt BCS-värde (Fitzgerald *et al.* 2019a; Carter *et al.* 2009b).

2.9 Behandlingsstrategier för insulindysreglering

Målet med behandlingen är att förbättra IS och minska graden av hyperinsulinemi för att minska risken för fång. Detta uppnås i första hand genom en anpassad diet, viktminskning och ökad fysisk aktivitet (Carter *et al.* 2009a).

Prognosen för hästar med ID varierar. Många hästar svarar positivt på behandling som enbart innefattar anpassad utfodring och motion. Dock kan hästar med ihållande hyperinsulinemi, vara mer utmanade och kan i vissa fall behöva medicinsk behandling. Även om kliniska symtom kan lindras genom behandling, finns inget definitivt botemedel, vilket gör att livslång management och behandling är nödvändig (Bertin & Fraser 2020).

2.9.1 Utfodring

Vid utfodring av hästar med EMS är det viktigt att utforma en foderstat som både stödjer viktkontroll och förbättrar IS. Fodret bör huvudsakligen bestå av grovfoder med lågt innehåll av icke-strukturella kolhydrater (NSC), helst under 10–12 % av torrsbstanshalten, eftersom höga nivåer av NSC kan förvärra IR och orsaka postprandial hyperinsulinemi (Durham *et al.* 2019; Lindåse *et al.* 2023).

För att reducera hästens intag av NSC bör spannmål och stärkelsebaserade fodermedel undvikas liksom fri tillgång till bete (Geor & Harris 2009). I stället rekommenderas sent skördat grovfoder, som har både lägre NSC-halt och mindre smältbar energi än tidigt skördat foder. Ensilering är en effektiv metod för att minska koncentrationen av vattenlösliga kolhydrater (WCS) då socker förbrukas vid

ensileringsprocessen. Även om blötläggning av fodret kan minska dess sockerhalt, är ensilering ofta att föredra ur ett hygieniskt perspektiv (Müller *et al.* 2016).

Foderportionerna bör delas upp på flera mindre måltider under dagen för att undvika långa perioder av fasta och för att minska graden av hyperinsulinemi (Geor & Harris 2009). För hästar med fetma är en minskning av fettmassan nödvändigt för att öka IS (Geor & Harris 2009). Samtidigt är det viktigt att undvika alltför snabb fettförbränning, eftersom detta kan leda till förhöjda triglyceridnivåer i blodet, vilket ökar risken för fettinlagring i organ såsom lever och njurar, och därmed risken för organsvikt (Bertin & Fraser 2020; Dunkel & McKenzie 2003).

2.9.2 Motion

Ökad motion rekommenderas generellt för hästar med ID och EMS, då fysisk aktivitet kan bidra till att förbättra IS (Carter *et al.* 2010). Dessutom visar forskning att träning kombinerat med anpassad diet effektivt minskar hyperinsulinemi, främjar viktminskning och förbättrar glukosmetabolism samt insulinresponsens hos hästar med IR, vilket minskar risken för fång (Bamford *et al.* 2019).

2.9.3 Medicinsk behandling

Förutom motion, viktminskning och anpassad utfodring kan hästar med allvarlig ID med bestående hyperinsulinemi trots motion och dietåtgärder behöva behandlas medicinskt. För närvarande finns inga läkemedel specifikt registrerade för behandling av ID hos hästar.

Metforminhydroklorid

I en studie av Durham *et al.* (2008) påvisades att det humana diabetesläkemedlet metformin förbättrade IS hos hästar med experimentellt inducerad IR. Däremot har senare studier visat att metforminbehandling inte har någon betydande effekt på glukos- och insulinnivåerna, då man inte kunde se några skillnader mellan hästar behandlade med metformin jämfört med placebo (Colmer *et al.* 2024). Enligt Tinworth *et al.* (2012) har metformin även visat sig ha låg biotillgänglighet vid oral administrering. Detta har skapat tvivel kring dess effektivitet för att minska överdriven postprandiala insulinsvar.

SGLT2-hämmare

En nyare läkemedelsgrupp som används för behandling av DMT2 hos människor är SGLT-2-hämmare (Sodium- Glucose co-transporter 2 inhibitors). Dessa läkemedel verkar genom att blocka glukosåterupptaget i njurens proximala tubuli, vilket resulterar i sänkta blodglukosnivåer och ökad glukosutsöndring via urinen (Rosenwasser *et al.* 2013).

I en studie av Lindåse *et al.* (2023) undersöktes korttidseffekterna av SGLT2-hämmaren kanagliflozin jämfört med placebo på glukos- och insulinsvar efter ett OGTT hos hästar med ID. Studien visade att kanagliflozin effektivt minskade den postprandiala insulinresponsen genom att reducera det glykemiska svaret och minska β -cellernas känslighet för oralt glukos.

GLP-1 analog

GLP-1-analoger, som exempelvis exenatid och semaglutid, används inom humanvården för att stimulera insulinfrisättning efter måltid och därmed förhindra hyperglykemi. Dessa läkemedel har även andra fördelaktiga effekter, såsom fördröjd magsäckstömning, ökad mättnadskänsla, minskad glukosabsorption i tarmen samt minskad glukosproduktion i levern. Detta bidrar till förbättrad IS och främjar viktminskning (Knop *et al.* 2017; Htike *et al.* 2017; Nauck *et al.* 2021).

I en pilotstudie på hästar med mild ID visade exenatid potential att minska insulinfrisättningen efter utfodring (Stefanovski *et al.* 2022). Emellertid, visade en annan studie, ett examensarbete av Hannerz (2023), varierande resultat, där en häst uppvisade ett ökat insulinsvar och högre aktivitet i β -cellerna, vilket antyder att exenatid kanske inte är lämpligt för alla hästar med EMS. Detta kan bero på hästars naturliga förmåga att upprätthålla höga insulinnivåer som kompensationsmekanism (de Laat *et al.* 2016), vilket i vissa fall kan leda till att en förstärkt β -cellfunktion förvärrar snarare än förbättrar tillståndet.

2.10 Metodvalidering

Metodvalidering syftar till att säkerställa att en metod är både ändamålsenlig och pålitlig för sitt avsedda syfte. Det innebär att metoden ska producera resultat som är tillförlitliga, konsekventa och representativa för det aktuella provet. Validering minskar risken för oprecisa eller felaktiga resultat, vilket i sin tur stärker metodens trovärdighet och praktiska användbarhet (Magnusson & Örnemark 2014; Raposo & Ibelli-Bianco 2020).

Valideringens omfattning styrs i hög grad av metodens användningsområde och ändamål. För kvantitativa analyser är parametrar som linjäritet, precision och recovery centrala (Raposo & Ibelli-Bianco 2020). Vid utvärdering av linjäritet späder man prover med olika koncentrationer av analyten i flera steg, och utvärderar hur väl den analyserade koncentrationen av analyten motsvarar spädningen. Linjäritet redovisas ofta i % som observerad koncentration/förväntad koncentration (observed/expected) (Raposo 2015). Precision avser metodens förmåga att reproducera resultat och bedöms både inom och mellan analysomgångar genom beräkning av variationskoefficienten (CV) (Raposo & Ibelli-Bianco 2020). Recovery utvärderar hur väl metoden mäter analyten som ska undersökas och är således en

viktig indikator för metodens noggrannhet. För att kunna utvärdera recovery måste man ha tillgång till en känd koncentration av analyten som metoden avser att mäta (Magnusson & Örnemark 2014; Raposo & Ibelli-Bianco 2020). I många fall uppstår svårigheter med att mäta recovery ur ett veterinärmedicinskt perspektiv då man många gånger är beroende av att använda metoder utvecklade för humant bruk och det saknas således djurslagsspecifika kända koncentrationer (i regel standard som tillhör metoden) av den analyt man vill undersöka.

3. Material & metod

Studien genomfördes vid institutionen för kliniska vetenskaper (KV) vid Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) under vår- och höstterminen 2024. Studien är en del av ett pågående projekt gällande inkretineffektens betydelse hos friska hästar och hästar med ID. Projektet har godkänts av Uppsalas djurförsöksetiska nämnd (diarie-nummer 5.8.18-15 533/2018).

3.1 Deltagande hästar

Studien omfattade data från fem hästar ägda av Institutionen för kliniska vetenskaper vid SLU, vilka valdes ut slumpmässigt och bedömdes som kliniskt friska utan tidigare diagnos av ID. Dessa hästar fungerade som kontrollgrupp. Därtill inkluderades fem privatägda hästar, samtliga tidigare diagnostiserade med ID efter att ha undersökts med ett OGTT i fält. Urvalet av ID hästar till examensarbetet baserades på deras beräknade inkretineffekt. Fyra ID hästar med hög till mycket hög inkretineffekt valdes ut, samt en häst med kraftig ID men med mycket låg inkretineffekt. Målsättningen med urvalet var att få väldefinierade grupper, en frisk grupp med låg inkretineffekt (fem kontrollhästar) och en grupp med ID och hög inkretineffekt (4 ID hästar). För att ytterligare få kunskap om dynamiken kring inkretineffekten inkluderades även en häst med kraftig ID men med mycket låg inkretineffekt. Samtliga hästar i ID-gruppen hade tidigare drabbats av fång, med varierande svårighetsgrad och antal episoder. Hästar över 12 år testades även för PPID.

Samtliga hästar genomgick en allmän klinisk undersökning, där palperbara lymfknotor samt cirkulations-, andnings-, digestions- och rörelseorganen bedömdes. Utöver detta utvärderades hästarnas BCS med skala 1–9 och CNS med skala 0–5. Grundläggande information om de deltagande hästarna presenteras i tabell 1. Ägarna till de privatägda hästarna deltog frivilligt i studien och gav skriftligt samtycke för användning av insamlad information och blodprov för forskningsändamål.

Tabell 1. Basdata avseende ras, kön, ålder, BCS, CNS samt PPID-status för kontrollhästar (n=5) respektive hästar med ID (n=5). N, antal hästar; ID, insulindysreglering; SVT, svensk varmblodig travare; BCS, Body Condition Score; CNS, Cresty Neck Score; PPID, Pituitary Pars Intermedia Dysfunction.

Grupp	HÄST	RAS	KÖN	Ålder (År)	BCS (1–9)	CNS (1–5)	PPID
Kontroll	B	SVT	Valack	5	5,5	1,5	N
Kontroll	C	SVT	Sto	14	6	2,5	N
Kontroll	D	SVT	Sto	12	6	2,5	N
Kontroll	E	SVT	Sto	10	5,5	2	N
Kontroll	F	SVT	Sto	12	5,5	1,5	N
ID	G	Welsh pony	Valack	23	6,5	3	J
ID	H	Welsh-arab	Valack	21	5,5	2,5	N
ID	N	Shetlands-ponny	Sto	18	7	4	N
ID	O	Shetlands-ponny	Sto	16	6,5	3,5	N
ID	S	Islandshäst	Valack	11	5,5	2,5	N

3.2 Studiedesign

Samtliga hästar genomgick ett OGTT och en isoglykemisk intravenös glukos-infusion (IIGI). Under dessa tester togs blodprover vid specifika tidpunkter för att mäta plasmainsulin, blodglukos och plasmakoncentrationer av GLP-1. Hästarna fastade i cirka åtta timmar inför testerna men hade fri tillgång till vatten.

De privatägda hästarna inhystes i ett forskningstall tillhörande Universitetsdjursjukhuset vid SLU, medan de friska hästarna undersöktes i sin hemmiljö vid SLU. För att tillåta en acklimatiseringsperiod till den nya omgivningen anlände de privatägda hästarna två dagar före studiestart och stannade i totalt fyra dagar. På dag tre genomfördes ett OGTT, vilket följdes av ett IIGI på dag fyra. Hästarna vägdes vid ankomst och före varje test på samma stationära våg.

3.2.1 Uppstallning och utfodring

Hästarna utfodrades enligt sin vanliga foderstat med eget grovfoder, fördelat på 4 utfodringstillfällen per dag, med undantag för de tidpunkter då försöken pågick. Om en utfodring uteblev på grund av försöken, fördelades fodret jämnt över resterande utfodringstillfällen. Under studieperioden tillbringade hästarna några timmar dagligen i en grusad rasthage, medan de var uppstallade på nätterna och under pågående undersökningar.

3.2.2 Instrumentering

Dagen före OGTT:n undersöktes samtliga hästar kliniskt och en permanent venkateter (Vygon intranule 14 G, 105 × 2,0 mm) anlades under sterila förhållanden i ena jugularvenen efter lokalbedövning med EMLA®-kräm (kutan lokalanestesi innehållande prilokain 25 mg/g och lidokain 25 mg/g, Aspen Nordic) följt av subkutan deponering av lokalbedövning (Carbocain®, mepivakain 20 mg/ml, Aspen Nordic) vid insticksstället i jugularvenen. Efter avslutad OGTT anlades ytterligare en permanent venkateter enligt samma procedur i den motsatta sidans jugularven. Under IIGI användes den ena venkatetern för blodprovstagning och den andra för glukosinfusion. Efter avslutad studie avlägsnades venkateterna och hästarna återgick till sina normala rutiner.

3.2.3 Utförande av oralt glukostoleranstest (OGTT)

På dag tre genomfördes en OGTT. För OGTT användes Dansukker glykossirap, doserad enligt formeln: hästens vikt(kg) × 0,5 ml/kg=volym glykossirap (ml).

Glykossirapen värmdes i ett vattenbad och administrerades oralt med 100 ml sprutor. Efter administrering torkades hästens mule noggrant med vatten för att minimera risken för kontaminering. Blodprover togs innan glukosgiva (10 minuter respektive 1 minut före) samt var 10:e minut under totalt 180 minuter efter oral glukosgiva.

3.2.4 Utförande av isoglykemisk intravenös glukostoleranstest (IIGI)

På dag fyra utfördes en IIGI genom kontinuerlig glukosinfusion (Glukos 500 mg/ml, Fresenius Kabi) under totalt 180 minuter. Infusionshastigheten justerades kontinuerligt för att efterlikna glukosresponskurvan från OGTT.

Provtagningsproceduren och antal samlade blodprover var densamma som vid tidigare utförda OGTT (se sektion 2.2.3). Blodproverna togs från den venkateter som inte användes för glukosinfusion.

3.2.5 Provhantering och blodprovsanalyser

I direkt samband med respektive blodprovstagning under OGTT och IIGI analyserades blodglukos med en snabb glukosmätare (Accu-Chek® Aviva, Roche Diagnostics Scandinavia AB, Bromma, Sverige). Resterande blod från sprutan överfördes direkt till litium-heparinrör och EDTA-rör.

Blodproverna centrifugerades i 10 minuter vid 3000 varv per minut. Den erhållna supernatanten överfördes till märkta Eppendorfrör och frystes vid -80 °C fram till analys av plasmakoncentrationer av insulin och aktivt GLP-1 (aGLP-1).

Plasmainsulin analyserades i prover som togs under OGTT och IIGI. Insulinproverna var tagna en minut före teststart (före oral glukosadministration respektive intravenös glukosadministration) och därefter med 20 minuters intervall. Plasma aGLP-1 analyserades i prover tagna under OGTT. Dessa prover togs en minut före oral glukosadministration och därefter med 60 minuters intervall.

Analys av insulin och aGLP-1 genomfördes vid Institutionen för kliniska vetenskapers hormonlaboratorium, SLU. Insulinkoncentrationerna analyserade på litiumheparinplasma med en ELISA utformad för djurslaget (Mercodia Equine Insulin ELISA, Mercodia AB, Uppsala, Sverige) och aGLP-1 analyserades på EDTA-plasma med en humanspecifik aGLP-1 ELISA (EGLP-35K, Merck Millipore).

3.2.6 Statistiska beräkningar

Arean under kurvan (AUC) för total insulin (AUC insulin) och total aGLP-1 (AUC aGLP-1) beräknades för perioden 0–180 minuter under OGTT och IIGI för insulin och under OGTT för aGLP-1 med trapetsmetoden i GraphPad Prism 10. Inkretineffekten beräknades i procent enligt följande formel:

$$(\text{OGTT AUC insulin} - \text{IIGI AUC insulin}) / \text{OGTT AUC insulin} \times 100$$

De statistiska analyserna gjordes i programmet JMP Pro 17.2. För att undersöka skillnader i OGTT AUC aGLP-1 mellan grupperna användes en tvåsidigt t-test. Ett tvåsidigt t-test användes också för att analysera skillnader i inkretineffekt mellan alla ID-hästar (n=5) och kontrollgruppen (n=5) samt mellan ID-hästar med hög inkretineffekt (n=4) och kontrollgruppen (n=5). Skillnader i plasmakoncentrationer av aGLP-1 jämfördes mellan grupperna över tid under OGTTn med hjälp av en mixad modell ANOVA med upprepade mätningar. Korrelationen mellan inkretineffekten och OGTT AUC aGLP-1 undersöktes med hjälp av en enkel linjär regressionsmodell med AUC aGLP-1 som den beroende variabeln och inkretineffekten som den oberoende variabel. Data presenteras som medelvärde \pm standardavvikelse. Ett P-värde $\leq 0,05$ användes för statistiskt signifikant.

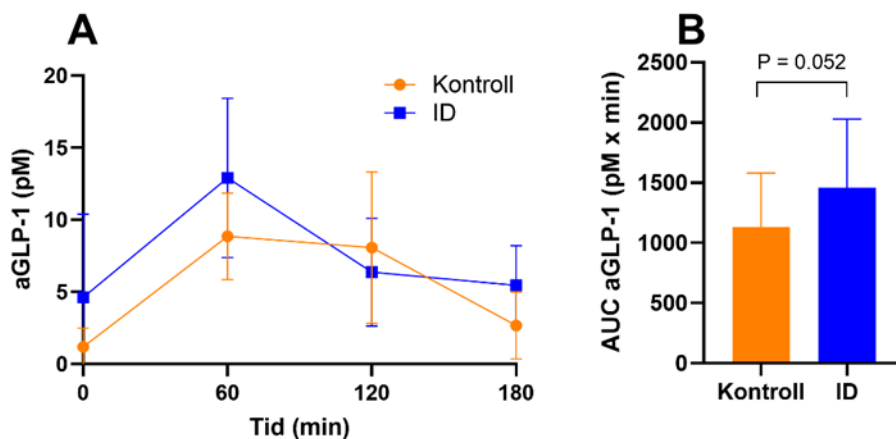
4. Resultat

4.1 Skillnader i aGLP-1 mellan grupper under OGTT

Plasmakoncentrationen av aGLP-1 ökade över tid under OGTT:n i både kontrollgruppen och ID-gruppen ($P < 0,0001$) men det förelåg inga skillnader i aGLP-1 koncentrationer mellan grupper över tid ($P=0,24$) (Figur 1A).

Det fanns inga statistiska signifikanta skillnader i OGTT AUC aGLP-1 mellan kontrollgruppen och ID-gruppen ($P=0,052$) (Figur 1B). Detta innebär att det inte går att dra slutsatsen att GLP-1-koncentrationerna skiljer sig mellan grupperna.

Figur 1. Data för 5 friska hästar (kontrollgrupp) och 5 hästar med insulin dysreglering (ID) undersökta med ett oralt glukostoleranstest (OGTT). Figur 1A visar medelvärde \pm standardavvikelse för aGLP-1 koncentrationer över tid under OGTTn, för respektive grupp. Figur 1B visar OGTT arean under kurvan (AUC) aGLP-1 för respektive grupp.



4.2 Samband mellan inkretineffekten och AUC aGLP-1 under OGTT

En signifikant högre inkretineffekt observerades i ID gruppen jämfört med kontrollgruppen, både vid jämförelsen mellan kontrollgruppen och samtliga ID-hästar ($P=0,019$) och vid jämförelse mellan kontrollgruppen och de 4 ID-hästarna (häst G, H, N och S) med hög inkretineffekt ($P < 0,0001$; Tabell 2).

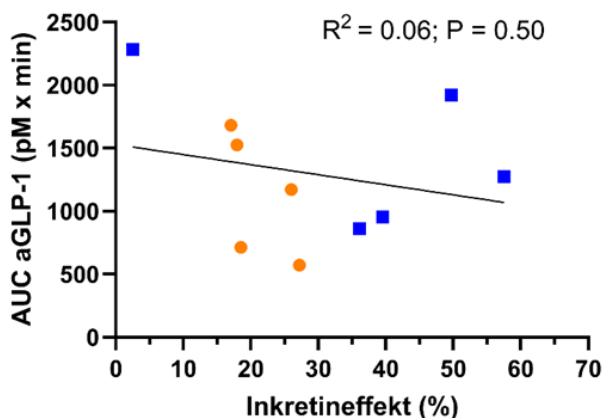
Tabell 2. Data för 5 friska hästar (kontrollgrupp) och 5 hästar med insulindysreglering (ID) undersökta med ett oralt glukostoleranstest (OGTT) och isoglykemiskt intravenös glukosinfusion (IIGI). Tabellen visar individuella värden för inkretineffekten samt medelvärde \pm standardavvikelse för kontrollgruppen (n=5), alla ID-hästar (n=5) och fyra ID-hästar (häst G, H, N och S) med hög inkretineffekt (n=4).

GRUPP	HÄST	INKRETINEFFEKT (%)
Kontroll	B	17
Kontroll	C	26
Kontroll	D	18,5
Kontroll	E	27,2
Kontroll	F	17,9
ID	G	36,1
ID	H	49,7
ID	N	57,5
ID	O	2,5
ID	S	39,5
		Medel \pm SD (%)
Kontroll (n=5)		21 \pm 4 ^a
ID (n=5)		37 \pm 19 ^b
ID (n=4)		45 \pm 9 ^b

^{a,b} = olika upphöjda bokstäver visar statistisk signifikant skillnad mellan grupper inom kolumn, $P \leq 0.05$.

Inget linjärt samband kunde identifieras mellan inkretineffekten och AUC aGLP-1 beräknad från OGTTn ($P=0,50$; $R^2=0,06$; Figur 2). Inkretineffekten kunde således inte användas för att förklara variationer i OGTT AUC aGLP-1 i den undersökta populationen av kontrollhästar och hästar med ID. Den kraftigt insulindysregerade hästen som inkluderades trots mycket låg inkretineffekt (2,5 %) hade högst beräknad AUC aGLP-1 (2284 pM x min) av alla inkluderade hästar.

Figur 2. Punktdiagram för 5 friska hästar (kontrollgrupp; orange cirklar) och 5 hästar med insulindysreglering (ID; blå fyrkanter) som visar korrelationen mellan inkretineffekten och arean under kurvan (AUC) för aGLP-1 beräknad från ett oralt glukostoleranstest (OGTT). R^2 =determinationskoefficienten.



5. Diskussion

Studiens primära syfte var att undersöka sambandet mellan plasmakoncentrationer av aGLP-1, analyserat med en humanspecifik ELISA, och inkretineffekten hos friska hästar och hästar med ID. Hypotesen var att aGLP-1 korrelerar med inkretineffekten samt att ID-hästar uppvisar både högre inkretineffekt och högre plasmakoncentrationer av aGLP-1 än friska kontroller.

Studien visade att samtliga hästar uppvisade en inkretineffekt, vilken var högre hos ID-hästar än hos friska hästar. Trots detta kunde inga signifikanta skillnader i AUC aGLP-1 eller plasmakoncentrationer av aGLP-1 över tid påvisas mellan grupperna, även om ID-hästarna hade något högre numeriska värden. Vidare kunde ingen linjär korrelation identifieras mellan den postprandiella aGLP-1 responsen under ett OGTT och inkretineffekten, vilket indikerar att aGLP-1 inte förklarar inkretineffekten hos hästar. Fastän GLP-1 antas ha en liknande funktion hos hästar som hos människor, stöds inte detta av studiens resultat. Den analysmetod som användes, som är specifik för människor, bedöms därför inte vara tillräckligt specifik för hästspecifikt GLP-1, vilket gör den olämplig för användning på hästar.

Mot denna bakgrund är det relevant att jämföra med vad som är känt om GLP-1 hos andra arter. GLP-1 är hos människor ett centralt inkretinhormon som bidrar till insulinfrisättning och därmed inkretineffekten (Nauck & Meier 2018). Det är därför rimligt att anta att GLP-1 spelar en liknande roll hos hästar. I denna studie kunde dock inget samband påvisas mellan plasmakoncentrationer av aGLP-1 och inkretineffekten, vilket stämmer överens med men även avviker från tidigare studier. Fitzgerald *et al.* (2019b) fann likande resultat och kunde inte påvisa några signifikanta skillnader i GLP-1 koncentrationer mellan friska ponnyer och ponnyer med ID. Däremot rapporterade Bamford *et al.* (2015) en positiv korrelation mellan postprandiella GLP-1-nivåer och insulin hos ponnyer och andalusier. Chameroy *et al.* (2016) observerade också högre GLP-1-nivåer hos hästar med EMS, men dessa skillnader var inte statistiskt signifikanta.

En möjlig förklaring till avsaknad av samband mellan GLP-1 och inkretineffekten är metodologiska begränsningar. Den humanspecifika analysmetoden som användes för att mäta aGLP-1 kan ha varit otillräcklig för att korrekt detektera hästspecifikt GLP-1. Eftersom metoden bygger på humana antikroppar kan dess förmåga att på ett tillförlitligt sätt identifiera aGLP-1 hos hästar vara begränsad. Även om metoden validerades för hästar av De Laat *et al.* (2016), som rapporterade god linjäritet, precision och recovery, är det svårt att säkerställa en korrekt recovery eftersom koncentrationerna av hästspecifikt GLP-1 är okända. Detta innebär att även en validerad metod kan vara bristfällig om den inte är tillräckligt specifik för

att mäta det ämne den är avsedd för hos olika arter, särskilt om metoden riskerar att detektera andra substanser. Detta försvårar möjligheten att dra säkra slutsatser om GLP-1:s roll hos hästar och understryker behovet av att utveckla specifika och tillförlitliga analysmetoder för hästar.

Andra faktorer kan även ha påverkat resultaten och försvårat möjligheten att påvisa ett linjärt samband mellan GLP-1 och inkretineffekten, samt att identifiera en signifikant skillnad i AUC aGLP-1 mellan grupperna. Även om ID-hästarna visade något högre numeriska värden av aGLP-1 jämfört med kontrollgruppen (figur 1b), är det möjligt att det låga antalet hästar i studien minskade den statistiska styrkan. Detta kan förklara det observerade p-värdet på 0,052, vilket ligger nära men inte är över gränsen för statistisk signifikans. Vidare kan användningen av EDTA-rör utan tillsats av DPP-4-hämmare ha bidragit till enzymatisk nedbrytning av aGLP-1 och därmed underskattade nivåer. Hos människor bryts aGLP-1 snabbt ned av enzymet Dipeptidylpeptidas-4 (DPP-4), det resulterar i en kort halveringstid (Baggio & Drucker 2007). Tidigare studier har visat att EDTA-rör utan DPP-4-hämmare ger tillförlitliga resultat för mätning av aGLP-1 hos hästar (De Laat *et al.* 2016), vilket tyder på att nedbrytningens påverkan troligtvis är begränsad.

Tidpunkten för blodprovstagningen kan också ha haft en betydande inverkan på resultaten. Hos människor når GLP-1 sina högsta nivåer snabbt efter födointag (Nauck & Meier 2018), men motsvarande tidsfönster för hästar är ännu inte fastställt. Om blodproverna inte togs vid optimala tidpunkter kan detta ha lett till underskattade aGLP-1-nivåer, vilket i sin tur kan ha försvårat identifieringen av ett samband med GLP-1 och inkretineffekten.

En annan möjlig förklaring är att GLP-1 inte är den primära faktorn bakom inkretineffekten hos hästar, trots att det hos människor anses vara ett av de viktigaste inkretinhormonerna för att stimulera insulinfrisättningen (Nauck & Meier 2018). Hos hästar är detta fortfarande otydligt, och det är möjligt att inkretinhormoner, såsom GIP, som inte analyserades i denna studie, spelar en större roll. Få studier har undersökt GIP hos hästar, vilket gör att vår kunskap om hormonets funktion hos dessa djurslag är begränsad. Det finns studier som har visat att koncentrationen av GIP var högre efter foderintag samt oral glukostillförsel, men ett tydligt samband mellan GIP och insulinnivåer har inte kunnat påvisas (Dühlmeier *et al.* 2001; De Laat *et al.* 2016; Fitzgerald *et al.* 2019b). De analysmetoder som användes i dessa studier var dock inte anpassade för hästar, vilket kan ha lett till felaktiga mätvärden på grund av bristande känslighet för hästspecifika former av inkretinhormoner. Dessa begränsningar i analysmetoderna gör det svårt att fastställa den exakta rollen för inkretinhormonerna i hästars insulinreglering. Mekanismerna bakom inkretineffekten är därför ännu inte helt klarlagda.

Denna studie visade även att samtliga hästar uppvisade en inkretineffekt och att hästar med ID hade en mer uttalad inkretineffekt jämfört med friska hästar. Medelvärdet för inkretineffekten var 37 ± 19 % hos ID-gruppen jämfört med 21 ± 4 % hos kontrollgruppen. En individ i ID-gruppen uppvisade en anmärkningsvärt låg inkretineffekt (2,5 %) trots en tydlig dysreglering, vilket påverkade gruppens medelvärde. När denna individ exkluderades steg medelvärdet för ID-gruppen till 45 ± 9 %. Dessa variationer tyder på att inkretineffekten kan skilja sig mellan individer med ID, det kan bero på att hästarna befinner sig i olika stadier av sjukdomsutvecklingen eller uppvisar olika grader av ID.

Det är möjligt att en förhöjd inkretineffekt är mer framträdande i de tidiga stadierna av ID och gradvis avtar i de senare faserna. Lindåse *et al.* (2016a) rapporterade lindrig hyperglykemi hos hästar med grav och långt gången ID, både i fastande tillstånd och postprandiellt, vilket kan tyda på en minskad inkretinfrisättning i dessa stadier. Huruvida en förhöjd inkretineffekt dominerar i de tidiga eller senare stadierna av ID är dock fortfarande outforskat. Ytterligare forskning krävs för att identifiera de bakomliggande mekanismerna bakom dessa variationer.

Trots osäkerheten kring de exakta rollerna hos inkretinhormonerna bekräftar denna studie att inkretineffekten är viktig för insulinfrisättningen hos både friska hästar och hästar med ID. Dessutom visar studien att inkretineffekten är förhöjd hos hästar med ID, vilket överensstämmer med resultaten från Sjöbergs examensarbete (2024), där likande mönster observerades. Denna förhöjda inkretineffekt kan potentiellt bidra till den observerade hyperinsulinemin, som i sin tur kan orsaka IR som en bieffekt. Detta skiljer sig från teorin att hyperinsulinemi enbart är en kompensatorisk mekanism för redan etablerad IR i vävnaderna. Istället kan en förhöjd inkretineffekt vara en primär rubbning hos hästar med ID, som driver hyperinsulinemi och därmed leder till utvecklingen av IR som en indirekt konsekvens.

För att klargöra GLP-1:s och andra inkretinhormoners roll i inkretineffekten hos hästar behövs utveckling av hästspecifika analysmetoder och studier som inkluderar större populationer. Det är även viktigt att undersöka hur inkretineffekten utvecklas över tid och dess relation till olika stadier av ID. Framtida forskning bör dessutom undersöka sambandet mellan GLP-1 och andra inkretinhormoner för att ge en mer heltäckande förståelse av den entero-insulära axeln hos hästar.

Konklusion

Studien bekräftar förekomsten av en inkretineffekt hos hästar och visar att hästar med ID har en högre inkretineffekt än friska hästar. Denna förhöjda inkretineffekt kan potentiellt bidra till utvecklingen av hyperinsulinemi hos ID-hästar. För att bättre förstå sambandet och patofysiologin bakom ID krävs ytterligare forskning, särskilt kring kopplingen mellan hyperinsulinemi och IR samt inkretinhormonernas roll i dessa mekanismer.

I studien observerades inga signifikanta skillnader i koncentrationer av aGLP-1 mellan grupperna, och inget linjärt samband identifierades mellan den postprandiella aGLP-1 responsen under ett OGTT och inkretineffekten. Fynden tyder på att den humanspecifika analysmetoden som använts för att analysera koncentrationer av aGLP-1 i denna och tidigare publicerade studier på häst sannolikt inte är optimal för att mäta GLP-1 hos hästar.

Referenser

- Arnold, W., Ruf, T. & Kuntz, R. (2006). Seasonal adjustment of energy budget in a large wild mammal, the Przewalski horse (*Equus ferus przewalskii*). II. Energy expenditure. *Journal of Experimental Biology*. 209(Pt 22), 4557–4565. <https://doi.org/10.1242/jeb.02535>
- 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(3), 530–535. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.003>
- Baggio, L.L., & Drucker, D.J. (2007). Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*. 132(6), 2131–2157. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.03.054>
- Bamford, N.J., Baskerville, C.L., Harris, P.A. & Bailey, S.R. (2015). Postprandial glucose, insulin, and glucagon-like peptide-1 responses of different equine breeds adapted to meals containing micronized maize. *Journal of Animal Science*. 93(7), 3377–3383. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8736>
- Bamford, N.J., Potter, S.J., Baskerville, C.L., Harris, P.A. & Bailey, S.R. (2019). Influence of dietary restriction and low-intensity exercise on weight loss and insulin sensitivity in obese equids. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 33(1), 280–286. <https://doi.org/10.1111/jvim.15374>
- Bamford, N.J., Potter, S.J., Harris, P.A., & Bailey, S.R. (2016). Effect of increased adiposity on insulin sensitivity and adipokine concentrations in horses and ponies fed a high fat diet, with or without a once daily high glycaemic meal. *Equine Veterinary Journal*. 48(3), 368–373. <https://doi.org/10.1111/evj.12434>
- Beech, J., Boston, R., & Lindborg, S. (2011). Comparison of cortisol and ACTH responses after administration of thyrotropin releasing hormone in normal horses and those with pituitary pars intermedia dysfunction. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 25(6), 1431–1438. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00810.x>
- Bertin, F.-R. & Fraser, N.S. (2020). Diseases of the endocrine pancreas and equine metabolic syndrome. *Equine Endocrinology*. 60–90. <https://doi.org/10.1079/9781789241099.0060>
- Beythien, E., Wulf, M., Ille, N., Aurich, J., & Aurich, C. (2017). Effects of sex, pregnancy and season on insulin secretion and carbohydrate metabolism in horses. *Animal Reproduction Science*. 184, 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.07.002>
- Brinkmann, L., Gerken, M., & Riek, A. (2012). Adaptation strategies to seasonal changes in environmental conditions of a domesticated horse breed, the Shetland pony (*Equus ferus caballus*). *The Journal of Experimental Biology*. 215(Pt 7), 1061–1068. <https://doi.org/10.1242/jeb.064832>
- Bröjer, J., Lindåse, S., Hedenskog, J., Alvarsson, K., & Nostell, K. (2013). Repeatability of the combined glucose-insulin tolerance test and the effect of a stressor before

- testing in horses of 2 breeds. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 27(6), 1543–1550. <https://doi.org/10.1111/jvim.12172>
- Carter, R.A., Geor, R.J., Burton Staniar, W., Cubitt, T.A., & Harris, P.A. (2009b). Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. *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. (2009a). Effects of diet-induced weight gain on insulin sensitivity and plasma hormone and lipid concentrations in horses. *American Journal of Veterinary Research*. 70(10), 1250–1258. <https://doi.org/10.2460/ajvr.70.10.1250>
- Carter, R.A., McCutcheon, L.J., Valle, E., Meilahn, E.N. & 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(3), 314–321. <https://doi.org/10.2460/ajvr.71.3.314>
- Chameroy, K.A., Frank, N., Elliott, S.B. & Boston, R.C. (2016). Comparison of plasma active glucagon-like peptide 1 concentrations in normal horses and those with equine metabolic syndrome and in horses placed on a high-grain diet. *Journal of Equine Veterinary Science*. 40, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2016.01.009>
- Colmer, S.F., Adams, A.A., Adam, E., Miller, R., Stefanovski, D., Kulp, J.C. & Eps, A. (2024). The effect of pre-dosing with metformin on the insulin response to oral sugar in insulin-dysregulated horses. *Equine Veterinary Journal*. 56 (2), 318–325. <https://doi.org/10.1111/evj.13979>
- de Laat, M.A., McGowan, C.M., Sillence, M.N., & Pollitt, C.C. (2010). Equine laminitis: induced by 48 h hyperinsulinaemia in Standardbred horses. *Equine Veterinary Journal*. 42(2), 129–135. <https://doi.org/10.2746/042516409X475779>
- de Laat, M.A., McGree J.M. & Sillence, M.N. (2016). Equine hyperinsulinemia - investigation of the enteroinsular axis during insulin dysregulation. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*. 310(1), E61–72. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00362.2015>
- de Laat, M.A., Patterson-Kane, J.C., Pollitt, C.C., Sillence, M.N., & McGowan, C.M. (2013). Histological and morphometric lesions in the pre-clinical, developmental phase of insulin-induced laminitis in Standardbred horses. *Veterinary Journal*. 195(3), 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.07.003>
- Drucker, D.J. (2006). The biology of incretin hormones. *Cell Metabolism*. 3, 153–165. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.01.004>
- Dunkel, B., & McKenzie, H. C. (2003). Severe hypertriglyceridaemia in clinically ill horses: diagnosis, treatment and outcome. *Equine Veterinary Journal*. 35(6), 590–595. <https://doi.org/10.2746/042516403775467270>
- Durham, A.E., Frank, N., McGowan, C.M., Menzies-Gow, N.J., Roelfsema, E., Vervuert, I., Feige, K., & Fey, K. (2019). ECEIM consensus statement on equine metabolic syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 33(2), 335–349. <https://doi.org/10.1111/jvim.15423>

- Durham, A.E., Rendle, D.I., & Newton, J.E. (2008). The effect of metformin on measurements of insulin sensitivity and beta cell response in 18 horses and ponies with insulin resistance. *Equine Veterinary Journal*. 40(5), 493–500. <https://doi.org/10.2746/042516408X273648>
- Dühlmeier, R., Deegen, E., Fuhrmann, H., Widdel, A., & Sallmann, H. P. (2001). Glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and the enteroinsular axis in equines (*Equus caballus*). *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology*. 129(2-3), 563–575. [https://doi.org/10.1016/s1095-6433\(01\)00295-1](https://doi.org/10.1016/s1095-6433(01)00295-1)
- Firshman, A.M., & Valberg, S.J. (2007). Factors affecting clinical assessment of insulin sensitivity in horses. *Equine Veterinary Journal*. 39(6), 567–575. <https://doi.org/10.2746/042516407X238512>
- Fitzgerald, D.M., Anderson, S.T., Sillence, M.N., & de Laat, M.A. (2019a). The cresty neck score is an independent predictor of insulin dysregulation in ponies. *PLoS One*. 14(7), e0220203. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220203>
- Fitzgerald, D.M., Walsh, D.M., Sillence, M.N., Pollitt, C.C., & de Laat, M.A. (2019b). Insulin and incretin responses to grazing in insulin-dysregulated and healthy ponies. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 33(1), 225–232. <https://doi.org/10.1111/jvim.15363>
- Frank N. (2011). Equine metabolic syndrome. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*. 27(1), 73–92. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.12.004>
- Frank, N. (2012). Oral sugar test used to diagnose insulin resistance in horses. *American Association of Equine Practitioners, Proceedings from AAEP Annual Convention*, Anaheim, Dec 5, 2012. 58, 576.
- Frank, N., Geor, R.J., Bailey, S.R., Durham, A.E. & Johnson, P.J. (2010). Equine metabolic syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 24(3), 467–475. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0503.x>
- Geor, R.J. & Harris, P. (2009). Dietary management of obesity and insulin resistance - countering risk for laminitis. *The Veterinary Clinician Equine Practice*. 25(1), 51–65. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2008.11.007>
- 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>
- Hannerz, S. (2023). *Effekten av exentid på insulinresponsen hos häst*. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet. <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-s-20040>
- Henneke, D.R., Potter, G.D., Kreider, J.L., & Yeates, B.F. (1983). Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Veterinary Journal*. 15(4), 371–372. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1983.tb01826.x>

- Hoffman, R.M., Boston, R.C., Stefanovski, D., Kronfeld, D.S., & Harris, P.A. (2003). Obesity and diet affect glucose dynamics and insulin sensitivity in Thoroughbred geldings. *Journal of Animal Science*. 81(9), 2333–2342. <https://doi.org/10.2527/2003.8192333x>
- Htike, Z.Z., Zaccardi, F., Papamargaritis, D., Webb, D.R., Khunti, K. & Davies, M.J. (2017). Efficacy and safety of glucagon-like peptide-1 receptor agonists in type 2 diabetes: A systematic review and mixed-treatment comparison analysis. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 19 (4), 524–536. <https://doi.org/10.1111/dom.12849>
- Jacob, S.I., Geor, R.J., Weber, P.S.D., Harris, P.A., & McCue, M.E. (2018). Effect of age and dietary carbohydrate profiles on glucose and insulin dynamics in horses. *Equine Veterinary Journal*. 50(2), 249–254. <https://doi.org/10.1111/evj.12745>
- Karikoski, N.P., Box, J.R., Mykkänen, A.K., Kotiranta, V.V., & Raekallio, M.R. (2022). Variation in insulin response to oral sugar test in a cohort of horses throughout the year and evaluation of risk factors for insulin dysregulation. *Equine Veterinary Journal*. 54(5), 905–913. <https://doi.org/10.1111/evj.13529>
- Kirkwood, N.C., Hughes, K.J., & Stewart, A.J. (2022). Pituitary pars intermedia dysfunction (PPID) in horses. *Veterinary Sciences*. 9(10), 556. <https://doi.org/10.3390/vetsci9100556>
- Knop, F.K., Brønden, A. & Vilsbøll, T. (2017). Exenatide: pharmacokinetics, clinical use, and future directions. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 18 (6), 555–571. <https://doi.org/10.1080/14656566.2017.1282463>
- Kronfeld, D.S., Treiber, K.H. & Geor, R.J. (2005). Comparison of nonspecific indications and quantitative methods for the assessment of insulin resistance in horses and ponies. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 226(5), 712–719. <https://doi.org/10.2460/javma.2005.226.712>
- Lindåse, S., Nostell, K. & Brøjer, J. (2016a). A modified oral sugar test for evaluation of insulin and glucose dynamics in horses. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 58 (Suppl 1), 64–64. <https://doi.org/10.1186/s13028-016-0246-z>
- Lindåse, S., Nostell, K., Forslund, A., Bergsten, P. & Brøjer, 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. <https://doi.org/10.1111/jvim.16906>
- Lindåse, S.S., Nostell, K.E., Müller, C.E., Jensen-Waern, M., & Brøjer, J.T. (2016b). Effects of diet-induced weight gain and turnout to pasture on insulin sensitivity in moderately insulin resistant horses. *American Journal of Veterinary Research*. 77(3), 300–309. <https://doi.org/10.2460/ajvr.77.3.300>
- Lindåse, S., Nostell, K., Söder, J. & Brøjer, J. (2017). Relationship between β -cell response and insulin sensitivity in horses based on the oral sugar test and the euglycemic hyperinsulinemic clamp. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 31(5), 1541–1550. <https://doi.org/10.1111/jvim.14799>
- Macon, E.L., Harris, P., Barker, V.D. & Adams, A.A. (2022). Seasonal Insulin Responses to the Oral Sugar Test in Healthy and Insulin Dysregulated Horses. *Journal of*

- Equine Veterinary Science*. 113, 103945–103945.
<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2022.103945>
- Magnusson, B. & Örnemark, U. (2014) *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. 2nd ed., Eurachem. ISBN 978-91-87461-59-0. Available at:
www.eurachem.org
- McFarlane D. (2011). Equine pituitary pars intermedia dysfunction. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*. 27(1), 93–113.
<https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.12.007>
- Müller, C.E., Nostell, K. & Bröjer, J. (2016). Methods for reduction of water soluble carbohydrate content in grass forages for horses. *Livestock Science*. 186, 46–52.
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.06.011>
- Nauck, M.A., & Meier, J.J. (2018). Incretin hormones: Their role in health and disease. *Diabetes, Obesity & Metabolism*. 20(1), 5–21. <https://doi.org/10.1111/dom.13129>
- Nauck, M.A., & Müller, T.D. (2023). Incretin hormones and type 2 diabetes. *Diabetologia*. 66(10), 1780–1795. <https://doi.org/10.1007/s00125-023-05956-x>
- Nauck, M., Stöckmann, F., Ebert, R., Creutzfeldt, W. (1986). Reduced incretin effect in Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia*, 29, 46–52.
<https://doi.org/10.1007/BF02427280>
- Nauck, M.A., Quast, D.R., Wefers, J. & Meier, J.J. (2021). GLP-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes - state-of-the-art. *Molecular Metabolism*. 46, 101102. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101102>
- Obel, N. (1948). *Studies on the histopathology of acute laminitis*. Almquist & Wiksell.
- Pollitt, C.C. (2004). Equine laminitis. *Clinical Techniques in Equine Practice*. 3, 34–44.
<https://doi.org/10.1053/j.ctep.2004.07.003>
- Rachman, J., Barrow, B.A., Levy, J.C., & Turner, R.C. (1997). Near-normalisation of diurnal glucose concentrations by continuous administration of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in subjects with NIDDM. *Diabetologia*. 40(2), 205–211.
<https://doi.org/10.1007/s001250050664>
- Raposo, F. (2015). Evaluation of analytical calibration based on least-squares linear regression for instrumental techniques: A tutorial review. *Trends in Analytical Chemistry*. 77(6). <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.12.006>
- Raposo, F. & Ibelli-Bianco, C. (2020). Performance parameters for analytical method validation: Controversies and discrepancies among numerous guidelines. *Trends in Analytical Chemistry*. 129, 115913. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115913>
- Rosenwasser, R.F., Sultan, S., Sutton, D., Choksi, R., & Epstein, B.J. (2013). SGLT-2 inhibitors and their potential in the treatment of diabetes. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*. 6, 453–467.
<https://doi.org/10.2147/DMSO.S34416>
- Sjaastad, Ø.V, Hove K. & Sand, O. (2016). *Physiology of Domestic Animals*. 3rd ed. Oslo: Scandinavian Veterinary Press

- Sjöberg, A (2024). *Inkretineffekten hos friska hästar och hos hästar med insulindysreglering*. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet. <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-s-20387>
- Schott, H.C. (2002). Pituitary pars intermedia dysfunction: equine Cushing's disease. *The Veterinary Clinics of North America. Equine practice*. 18 (2), 237–270. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(02\)00018-4](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(02)00018-4)
- Stefanovski, D., Robinson, M.A. & Van Eps, A. (2022). Effect of a GLP-1 mimetic on the insulin response to oral sugar testing in horses. *BMC Veterinary Research*. 18(1), 294. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03394-2>
- 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. *Veterinary Journal*. 191(1), 79–84. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.01.015>
- Toft-Nielsen, M.B., Madsbad, S., & Holst, J.J. (1999). Continuous subcutaneous infusion of glucagon-like peptide 1 lowers plasma glucose and reduces appetite in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 22(7), 1137–1143. <https://doi.org/10.2337/diacare.22.7.1137>
- 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>
- van Eps, A.W., & 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? *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*. 35(2), 379–398. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2019.04.001>
- Vick, M.M., Adams, A.A., Murphy, B.A., Sessions, D.R., Horohov, D.W., Cook, R.F., Shelton, B.J., & Fitzgerald, B.P. (2007). Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. *Journal of Animal Science*. 85(5), 1144–1155. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-673>

Populärvetenskaplig sammanfattning

Insulindysreglering (ID) är ett tillstånd som gör att kroppen har svårt att reglera insulinnivåerna. Detta leder till rubbningar i blodglukosbalansen och energi-metabolismen. Insulin, ett hormon som produceras av bukspottkörteln, sänker blodsockret efter måltid genom att hjälpa kroppens celler att ta upp glukos från blodet. Vid ID utvecklas oftast insulinresistens (IR), vilket innebär att kroppens celler blir mindre känsliga för insulin. Som kompensation producerar bukspottkörteln mer insulin, vilket ofta resulterar i höga insulinnivåer, så kallad hyperinsulinemi.

Hos hästar är hyperinsulinemi särskilt allvarligt, eftersom det är en känd riskfaktor för fång, en smärtsam och potentiellt livshotande hovsjukdom. Insulindysreglering är också en viktig del i ekvint metabolt syndrom (EMS), ett samlingsnamn för sjukdomar som ger flera störningar i ämnesomsättningen. Behandlingen av ID fokuserar på att stabilisera glukos- och insulinnivåer genom anpassad diet och regelbunden motion.

Inkretinhormon, frisätts från mag-tarmkanalen vid måltid och, spelar en viktig roll i regleringen av blodglukos eftersom de stimulerar insulinfrisättning. När glukos intas oralt blir insulinfrisättning högre än när glukos ges intravenöst - ett fenomen som kallas inkretineffekten.

Hos människor med typ 2-diabetes är inkretineffekten ofta nedsatt, vilket försvårar blodsockerkontrollen. Kunskapen om inkretineffekten hos hästar är än så länge begränsad, men tidigare examensarbete har visat att hästar har en inkretineffekt och att denna är mer uttalad hos hästar med ID. En fördjupad förståelse för inkretineffekten kan ge viktiga insikter om varför hästar med ID ofta har förhöjda insulinnivåer i blodet.

I denna studie undersöktes sambandet mellan inkretineffekten och nivåerna av inkretinhormonet GLP-1 i blodet hos friska hästar och hästar med ID.

I studien deltog tio hästar, fem friska och fem med ID. Två tester utfördes på varje häst: ett oralt glukostoleranstest (OGTT), där glukos tillfördes via munnen, och ett intravenöst glukostoleranstest (IVGTT), där glukos gavs direkt i blodet. Under testerna togs blodprover för att mäta nivåerna av glukos, insulin och GLP-1. GLP-1 analyserades med en humanspecifik metod, vilket kan ha påverkat resultatens tillförlitlighet. Insulinnivåerna från de två testerna jämfördes för att utvärdera skillnader i frisättning av insulin och därigenom inkretineffekten.

Studien visade att det inte fanns någon betydelsefull skillnad i GLP-1-nivåerna mellan friska hästar och hästar med ID. Det gick inte heller att se ett samband mellan GLP-1 och inkretineffekten. En trolig förklaring är att den humanspecifika analysmetoden som användes inte är tillräckligt känslig för att upptäcka GLP-1 hos hästar.

För att förstå kopplingen mellan inkretineffekten och GLP-1 behövs vidare forskning. Utveckling av analysmetoder specifikt anpassade för hästar skulle kunna ge mer tillförlitliga resultat. Framtida studier bör också undersöka relationen mellan GLP-1 och andra inkretinhormoner för att få en djupare förståelse av glukos- och insulinregleringen samt inkretineffekten hos hästar.

Tack

Stort tack till min handledare Sanna Trulsen Lindåse och min biträdande handledare Johan Bröjer för ert ovärderliga stöd och engagemang. Er expertis och inspiration har varit avgörande för framgången i mitt examensarbete.

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU kan publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver i sådana fall godkänna publiceringen. I samband med att du godkänner publicering kommer SLU även att behandla dina personuppgifter (namn) för att göra arbetet sökbart på internet. Du kan närsomhelst återkalla ditt godkännande genom att kontakta biblioteket.

Även om du väljer att inte publicera arbetet eller återkallar ditt godkännande så kommer det arkiveras digitalt enligt arkivlagstiftningen.

Du hittar länkar till SLU:s publiceringsavtal och SLU:s behandling av personuppgifter och dina rättigheter på den här sidan:

- <https://libanswers.slu.se/sv/faq/228316>

JA, jag har läst och godkänner avtalet för publicering samt den personuppgiftsbehandling som sker i samband med detta

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