



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för Kliniska Vetenskaper

Diagnostik av hypofysär pars intermedia dysfunktion (PPID) hos häst

med en retrospektiv studie över 289 dexametasonhämningstest

Jennie Ljungberg

Uppsala

2011

Examensarbete inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2011:6*

Diagnostik av hypofysär pars intermedia
dysfunktion (PPID) hos häst
med en retrospektiv studie över 289 dexametasonhämningstest

Jennie Ljungberg

*Handledare: Inger Lilliehöök, Klinisk kemiska laboratoriet, UDS
och Bodil Ström Holst, Institutionen för Kliniska vetenskaper
Examinator: Bernt Jones, Institutionen för Kliniska Vetenskaper*

*Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2011
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för Kliniska vetenskaper
Kurskod: EX0239, Nivå X, 30hp*

Cushings syndrom, häst, PPID, pituitary pars intermedia dysfunction, dexametasonhämning, fång, hirsutism

*Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>
ISSN 1652-8697
Examensarbete 2011:6*

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	4
Summary	4
Inledning	6
Litteraturoversikt.....	6
Anatomi och fysiologi.....	6
Patofysiologi vid PPID	8
Symtom	9
Biokemiska förändringar i blodprov	12
Lite om Ekvint metaboliskt syndrom (EMS).....	12
Diagnostiska metoder.....	12
Plasma-kortisol	12
Dexametasonhämningstest.....	13
Kortisol-/kreatininkvot i urin	14
Salivkortisolkoncentration	14
Thyrotropin releasing hormone (TRH) -stimulering	15
Kombinerat TRH/DT	15
P-ACTH	15
ACTH-stimulering	16
Seruminsulinkoncentration	16
Obduktion	16
Bilddiagnostiska metoder.....	17
Domperidon	17
Muskelbiopsi.....	18
α -melanocytstimulerande hormon (α -MSH).....	18
Egna studier	19
Bakgrund o syfte.....	19
Studie 1	19
Studie 2	19
Material och metoder	19
Studie 1	19
Delstudie 1	19
Delstudie 2	20
Studie 2	20
Resultat	20
Studie 1	20
Delstudie 1:	20
Delstudie 2:	25
Studie 2	29
Diskussion.....	29
Litteraturförteckning	32
Övriga källor	34
Acknowledgment	34
Bilaga 1	35

SAMMANFATTNING

Flera av de metoder som används för att diagnostisera hypofysär pars intermedia dysfunktion (PPID) bygger på att mäta hormonnivåer, framför allt kortisol eller ACTH, i plasma. Det har dock visat sig att tolkningen av testerna kan vara osäker delvis på grund av att utsöndringen av dessa hormoner normalt varierar under året. I litteraturstudien presenteras metoder som används för diagnostisera PPID idag och metoder som studeras för att få en möjlighet till säkrare diagnosställande. I detta examensarbete sammanställs resultaten från drygt fem års dexametasonhämningstester (DT) som utförts i Sverige och som analyserats av Klinisk kemiska laboratoriet, Universitetsdjursjukhuset Uppsala (UDS). Etthundra enkäter angående de hästar med plasmakortisolvärden ovan 10 nmol/l men under 100 nmol/l skickades ut till ansvarig veterinär för att utreda om resultatet på testet verkade överensstämna med den slutliga diagnosen. Urinprover från elva friska hästar analyserades för att undersöka normalvärden på urinkortisol/urinkreatinin och för att se om denna metod på sikt kan användas som en del i utredningen av PPID.

De 289 hästar som testats genom dexametasonhämning (DH) i Sverige under perioden var mellan tre och 31 år, medelåldern på dem med positivt DT var 19 år. Den ras som oftast provtogs var Islandshäst men 72 % av dessa test visade negativt resultat. Oktober var den månad då störst andel testade hästar, 63 %, visade positivt resultat.

Av 100 utskickade enkäter kunde 42 användas i enkätstudien. Enligt veterinärerna som utfört testerna stämde resultaten av DT väl överens med den slutliga diagnosen hästen fick. I de flesta fall (66 %) använde veterinärerna både testresultat och symtomen för att ställa diagnos. I sex fall uppgav veterinär att deras slutliga diagnos enbart grundades på testresultatet. I fem fall angavs att hästen inte längre misstänktes för PPID, i inget av dessa fem fall översteg kortisolvärdet i plasma referensvärdet 45 nmol/l efter DT. Resultaten i studien tyder på att veterinärer som använder DT litar på resultaten.

Resultaten från de elva urinproven visade urinkortisol/urinkreatinin-kvot mellan 1 och 13 och stämmer väl överens med resultaten från andra tidigare utförda studier.

SUMMARY

Several of the methods used to diagnose pituitary pars intermedia dysfunction (PPID) include testing concentrations of cortisol or ACTH in plasma. Recent findings have shown that secretion of these hormones vary throughout the year, causing difficulties in the interpretation of the tests. This study presents different methods that have been used or studied to diagnose PPID, it also summarizes more than five years of dexamethasone suppression tests (DST) conducted in Sweden and analyzed by Clinical Pathology Laboratory, University Animal Hospital, Uppsala (UDS). 100 questionnaires, concerning horses with plasma cortisol levels after DST > 10 nmol/l and <100 nmol/l, were sent to the responsible veterinarians. The purpose was to evaluate whether the results from DST corresponded with the final diagnosis. Urine samples were collected from eleven healthy horses to evaluate normal cortisol creatinine ratio.

The 289 horses tested in Sweden during the period investigated were between three and 31 years old. Average age of those with a positive DST was 19 years. The breed most often tested was the Icelandic horse, but 72 % of the DST performed showed a negative result. October was the month when the largest per cent, 63 % of the horses tested, showed a positive result.

Of 100 questionnaires sent, 42 were returned and used in this study. According to the veterinarians conducting the DST the result of the test corresponds well to the clinical diagnosis of the horse. 66 % of the veterinarian considered the result of the DST *and* the clinical signs when making a diagnosis. In six cases the veterinarian declared that their final diagnose relied only on the DST-result. Five of the 42 horses were not diagnosed with PPID, in none of those five cases the plasma cortisol level exceeded the reference level 45 nmol/l after DST. This concludes that most Swedish veterinarians using the DST rely on the results.

The result from the urine samples showed a cortisol and creatinine ratio between 1 and 13, which correspond well with results from similar studies.

INLEDNING

Hypofysär pars intermedia dysfunktion, eller Pituitary pars intermedia dysfunction (PPID) orsakas oftast av adenom, hyperplasi eller hypertrofi i hypofysens pars intermedia vilket i sin tur leder till förändringar i hormonsyntesen. Förändringarna består i att ett eller flera hormon som normalt produceras i pars intermedia produceras i onormal mängd. Tidigare benämning på PPID på häst var Cushings syndrom eftersom symtomen som ses vid sjukdomen ansågs orsakas av förhöjda kortisolvärden, som hos människa och hund med Cushings syndrom. Detta examensarbete inleds med en beskrivning av hypofysens normala fysiologi, en sammanställning av aktuell information/litteratur om PPID och en beskrivning av olika diagnostiska metoder.

LITTERATURÖVERSIKT

Anatomi och fysiologi

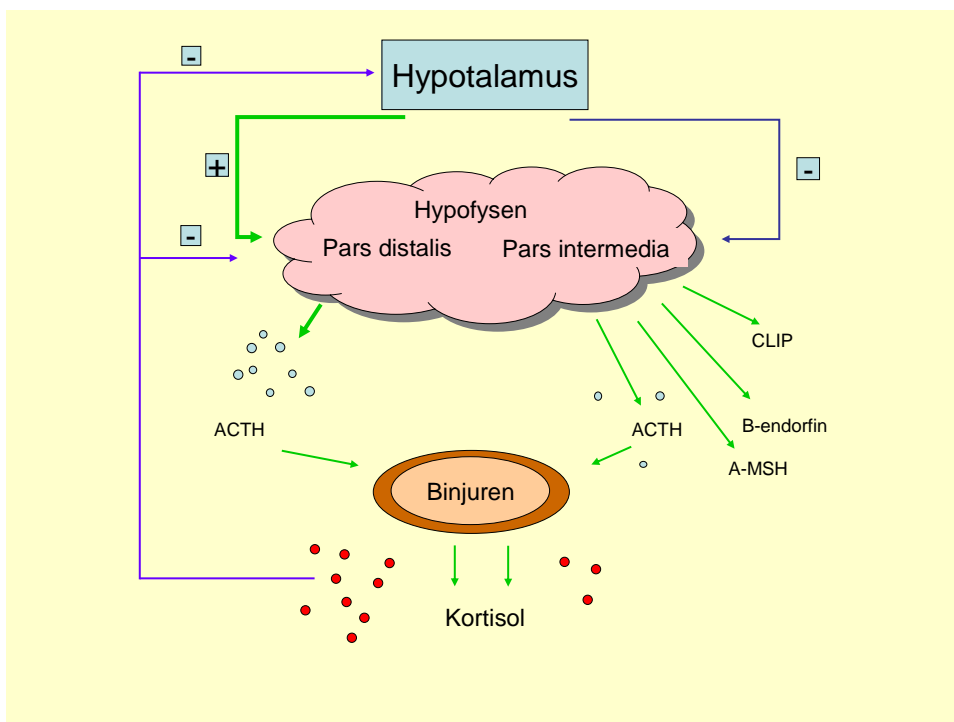
Hästens hypofys delas in i neurohypofysen och adenohypofysen. Adenohypofysen kan ytterligare indelas i pars distalis, pars intermedia och pars tuberalis. Adenohypofysen består av hormonproducerande celler, vilken typ och vilken mängd hormon som produceras skiljer sig något mellan de olika delarna. I samband med det som kallas Cushings syndrom verkar, beroende på djurslag, hormonproduktionen i pars distalis och pars intermedia ha störst betydelse (Schott II, 2002). Cellerna i pars intermedia, *melanotroper* (Dybdal *et al*, 1994, McFarlane *et al*, 2006), och ca 10 % av cellerna i pars distalis, så kallade *kortikotroper* (Schott II, 2002), producerar ett protein, pro-opiomelanocortin (POMC), som är en hormonprekursor. Melanotroperna i pars intermedia omvandlar sedan POMC till adrenocorticotrop hormon (ACTH) och β -lipoprotein. Omvandlingen fortsätter sedan i samma celler. Den största delen ACTH i pars intermedia omvandlas till α -melanocyststimulerande hormon (α -MSH) och corticotropin-like intermediär lobe peptide (CLIP) medan β -lipoprotein omvandlas till β -endorfin och γ -lipoprotein. (Dybdal *et al*, 1994, McFarlane *et al*, 2006) Även i pars distalis sker en omvandling av POMC, här av kortikotroperna, till β -lipoprotein som i sin tur omvandlas till β -endorfin och γ -lipoprotein men framför allt omvandlas POMC i pars distalis till ACTH. ACTH från pars distalis insöndras i blodet utan att ytterligare omvandling sker. (Tabell 1.)

Tabell 1. Hormonproducerande celler i hypofysen och deras produkter, av betydelse vid PPID, hos häst.

	Celltyp	Hormonprekursor protein	Hormon	Hormon som insöndras
Pars distalis	Corticotroper	POMC	ACTH	ACTH
			β -lipoprotein	β -endorfin och γ -lipoprotein
Pars intermedia	Melanotroper	POMC	ACTH	α -MSH, CLIP, (ACTH)
			β -lipoprotein	β -endorfin

Hypotalamus kan reglera hypofysens syntes och insöndring av hormon genom att utsöndra egna hormon. Detta sker till exempel genom att corticotropin releasing hormone (CRH) från hypotalamus frisätts till en artär som leder blod via hypotalamus till hypofysen och pars distalis, CRH stimulerar där frisättning av ACTH. ACTH stimulerar i sin tur frisättning av kortisol från binjurebarken. Mellan 60 och 80 % av det frisatta kortisolet binds till globuliner i blodet och endast den fria fraktionen kortisol utövar sin effekt i kroppen. Pars distalis, som insöndrar den största mängden ACTH till blodet, har kortisolreceptorer. När kortisol binder till dessa hämmas pars distalis och dess ACTH-insöndring minskar (Schott II, 2002). Plasmakoncentrationen av ACTH hos hästar varierar normalt beroende på tid på dygnet, ACTH-nivåerna är högst sent på natten och tidigt på morgonen (Sjaastad *et al*, 2003). Även kortisol följer detta mönster, när kortisolvärdet mäts i blodet hos friska hästar under ett dygn syns fluktuationer med de högsta värdena under morgontimmarna. I en studie, där tio friska hästar ingick, uppmättes mer än dubbelt så höga koncentrationer i blodet under morgontimmarna jämfört med kvällstid. (Toutain *et al*, 1988)

Hypotalamus reglerar hormonproduktionen i Pars intermedia genom hämmande signaler. Via axon, vars neuron ligger i hypotalamus, kan hypotalamus insöndra dopamin till hypofysen. Dopaminet binder till D2-receptorer i hypofysens melanotroper och hämmar därmed frisättning av hormon från pars intermedia (Schott II, 2002). Se figur 1.



Figur 1. En förenklad översikt över normal interaktion mellan hypotalamus, hypofys och binjurar hos häst.

I både pars distalis och pars intermedia finns receptorer för Thyrotropin releasing hormone (TRH) och i försök har TRH setts stimulera frisättning av ACTH och α -MSH. Betydelsen av dessa fynd är inte utredd. (Mc Farlane *et al*, 2006)

Plasmakoncentration av ACTH (P-ACTH) hos hästar varierar som nämnts beroende av tid på dygnet, men den varierar även normalt beroende på årstid. I en studie har signifikant högre P-ACTH uppmätts i september jämfört med maj och januari. I samma studie sågs

också en positiv korrelering mellan ålder och P-ACTH, ju äldre hästar desto högre ACTH-värden. Under en mätning i september månad sågs också att ju äldre hästarna var desto högre var deras plasmakortisolkoncentration (P-kortisol). I studien utvärderades inte huruvida P-kortisol skiljde sig mellan årstider. (Donaldson, 2005)

Hormonfrisättningen från pars intermedia varierar också, i en studie av McFarlane *et al.* där α -MSH-koncentrationen uppmättes i plasma (P- α -MSH) hos friska hästar och ponnys sågs tydliga skillnader både mellan årstider och mellan hästar och ponnys. Hos ponnys sågs att P- α -MSH under september var elva gånger högre än under vårmånaderna, hos hästar sågs endast en dubbling under samma tid. Däremot sågs ingen skillnad i plasmakoncentrationen av α -MSH beroende på vilken tid på dagen som provet togs, inga skillnader sågs heller mellan olika kön. (McFarlane *et al.*, 2004) För en kort beskrivning av funktionen hos hormoner från pars intermedia se tabell 2.

Tabell 2. Känd funktion hos hormonerna från pars intermedia.

Hormon	Funktion
MSH	Melanocytstimulerande, inflammationshämmande (Rang <i>et al.</i> , 2003)
CLIP	Stimulerar frisättning av insulin (Blood & Studdert, 2002)
B-endorfin	κ , δ och μ -receptor-agonist: analgesi, sedering, nedsatt andningsfrekvens och nedsatt gastro-intestinal motilitet, eufori eller dysfori (Rang <i>et al.</i> , 2003)
ACTH	Stimulerar frisättningen av kortisol (Sjaastad <i>et al.</i> , 2003)

Patofysiologi vid PPID

Hypofysär pars intermedia dysfunktion eller Pituitary pars intermedia dysfunktion (PPID) är en funktionsstörning som vanligtvis orsakas av adenom, hyperplasi eller hypertrofi i hypofysens pars intermedia (Schott II, 2002). I en studie av 100 holländska varmblod mellan två och 28 år, utan symtom på PPID, sågs att förändringar som hyperplasi och/eller adenom i hypofysen var vanligare bland hästar äldre än 10 år (van der Kolk, 2004). Inga studier är gjorda på häst om bakgrunden till förändringens uppkomst, därför finns bara teorier kring huruvida förändringen hos häst uppkommer spontant eller av andra bakomliggande orsaker. En teori är att förändringen skulle kunna vara en följd av ett minskat antal hämmande nervbanor från hypotalamus till hypofysen, en så kallad minskad dopaminerg innervering. När hämningen av melanotroperna i pars intermedia avtar kan de hypertrofiera med en störd hormonproduktion som följd (Schott II, 2002). Denna teori byggde från början på studier utförda på råttor där det setts att råttor med pars intermedia-adenom har förändringar i nervbanorna mellan hypotalamus och hypofysen. Förändringen består just i ett minskat antal axon från sådana neuron i hypotalamus som kan hämma pars intermedia genom frisättning av dopamin (Miller, M.A. *et al.*, 2008). Teorin stöds av en studie där man sett ett mindre antal nervterminaler som frisätter dopamin i pars intermedia hos hästar med PPID jämfört med friska hästar i samma ålder (Mc Farlane & Holbrook, 2008). Teorin stöds också av studier där betydligt lägre dopaminkoncentrationer har uppmätts i hypofysen hos hästar med PPID än hos friska hästar (van der Kolk, 2004, Miller *et al.*, 2008). P-ACTH stiger ofta vid PPID men ökningen av andra hormoner som α -MSH

och B-endorfin är större (Wilson *et al*, 1982). Då A-MSH och β -endorfin potentierar ACTHs verkan på binjuren kan en liten ökning i ACTH vara tillräcklig för att höja plasmakortisolkoncentrationen. Denna potentiering är också tillräcklig för att kunna orsaka en störning i den normala dygnsvariationen av plasmakortisol (Messer IV, 2006). Adenomet/hyperplasin i pars intermedia metastaserar inte men kan ibland orsaka tryck på hypotalamus och/eller synnervskorsningen och även leda till neurologisk påverkan och/eller synpåverkan (Schott II, 2002).

Symtom

Det är svårt att beskriva den typiska PPID-hästen då symtomspektrat är brett. Flera av sjukdomens symtom förklaras idag bero på att PPID-hästarna har förhöjda P-kortisolvärden trots att detta inte ses hos alla drabbade hästar. Vissa symtom kan ännu bara delvis eller inte alls kan förklaras av de förändringar som ses i hypofysen.

Ston och valacker drabbas i lika stor utsträckning, hästen som utvecklar symtom är troligen 7 år eller uppåt men medelåldern hos de drabbade hästarna är 18-23 år (Scott II, H.C. *et al.*, 2006). I några studier anges att ponnys och Morganhästar drabbas oftare än andra hästar (Petersen & Schott II, 2005, Mc Farlane & Holbrook, 2008). Av alla hästar som undersökts vid ett djursjukhus i Utrecht mellan 1990 och 1992 hade 0,5 % PPID (van der Kolk *et al*, 1993).

De symtom som rapporterats vid sju olika studier (1990-2006) kring PPID sammanfattades 2006 av Schott. Studierna omfattar 176 olika hästar och ponnys, både de vars diagnos, PPID, bekräftats genom obduktion och sådana där sjukdomen anses bekräftad genom diagnostiska tester (Tabell 3) (Schott II, 2006).

Tabell 3. Översikt över symtom som rapporterats i sju studier (Schott II, 2006). I kolumn 1, där samtliga studier ingår, anges hur stor procentuell andel av samtliga hästar som har respektive symtom. I kolumn 2, där endast de fyra av studierna där PPID konfirmerats genom obduktion ingår, anges hur stor procentuell andel av hästarna som i dessa fyra studier visat respektive symtom.

Symtom	Samtliga 7 studier (n=176)	Endast de 4 studier där PPID har konfirmerats genom obduktion (72)
Hirsutism	85 %	81 %
Letargi	63 %	0 %
Viktförlust/muskelförlust	51,6 %	36,5 %
Kronisk fång	49 %	26,5 %
Svettningar	43 %	67 %
Polyuri och polydispi	37 %	21,5%
Kroniska infektioner	35 %	32,5 %
Onormal fettdistribution	27 %	43 %
Neurologiska symtom (inklusive krampanfall)	22 %	27 %

Symtomen kommer smygande och utvecklas ofta under en längre period; månader till år (Schott II, 2002, Pilsworth & Knottenbelt, 2006). Nedan följer en mer ingående beskrivning av respektive symtom.

Hirsutism och svettningar

Uttalad hirsutism är ett symptom som anses patognomont för PPID och innebär en lång, tjock päls som inte fälls säsongsmässigt eller inte fälls alls (Pilsworth & Knottenbelt, 2006) eftersom hårfolliklarna stannat i en av utvecklingsfaserna (telogen fas) (Petersen & Schott II, 2005). Pälsen kan vara lockig eller ha en annorlunda struktur i jämförelse med en frisk hästs hårrem (Pilsworth & Knottenbelt, 2006). Orsaken till att hästar med PPID utvecklar hirsutism är inte känd. Hästar med PPID kan drabbas av onormalt mycket svettningar, som oftast ses över hals och skuldror, orsaken till detta är inte heller inte känd men kan eventuellt vara en onormalt tjock hårrem (Petersen & Schott II, 2005).

Letargi

β -endorfin som syntetiseras i ökad mängd vid PPID är en κ , δ och μ -receptor-agonist vilket innebär att den har en sederande effekt. β -endorfinet kan också orsaka analgesi, eufori eller dysfori, nedsatt andningsfrekvens och nedsatt gastro-intestinal motilitet (Rang *et al*, 2003)

Viktförlust/muskelförlust

Förlust av muskulatur, ofta över rygg och bakdel, som drabbar många PPID-hästar kan vara en följd av de förhöjda kortisolvärden som ses hos en del av dessa hästar (Petersen & Schott II, 2005). Kortisol hämmar proteinsyntesen och stimulerar nedbrytning av protein, framför allt muskelproteiner (Rang *et al*, 2003).

Fång

Många hästar med PPID utvecklar kroniska fångtillstånd. (Johnson *et al*, 2004) Donaldson *et al* antog i en studie (2004) att just PPID var en vanlig orsak till kronisk fång, under sex år provtog därför Donaldson alla hästar som han diagnostiserat med fång efter att den akuta fasen lagt sig. Av 40 hästar hade 28 stycken förhöjda ACTH-värden vilket skulle kunna tyda på PPID (Donaldson *et al*, 2004). Fång karaktäriseras av att dermis separeras från epidermis när keratinocyterna inte längre kan ankra vid basalmembranet. På samma sätt som glukokortikoider (GK), genom proteinnedbrytning, kan orsaka atrofi av huden skulle GK också kunna försvaga lamellagret. Till exempel har Dexametason, som är ett syntetiskt kortisonpreparat, visats minska mängden av just de specifika proteiner som behövs för att keratinocyterna skall kunna ankra till basalmembranet. Normala reparationsmekanismer, som fibroblastaktivitet och kollagensyntes, hämmas också av GK. Reparationsmekanismerna är nödvändiga då stora krafter verkar på lamellagret när hästen rör sig. Med stöd av detta har Johnson *et al* i tidigare studier föreslagit att förhöjda glukokortikoidkoncentrationer i blodet under en längre tid, till exempel vid Cushing hos häst, orsakar sådana strukturella förändringar i hoven att lamellförankringen försvagas. Denna försvagning kan bidra till att andra mer traditionella orsaker leder till fång, till exempel hög belastning av hoven och livmoderinflemmation. Risken att utveckla fång efter enstaka glukokortikoidgiva är mycket liten för friska hästar. (Johnson *et al*, 2004) En annan teori är att kortisolet orsakar insulinresistens som leder till förhöjda glukosnivåer i blodet. De förhöjda blodsockernivåerna orsakar bland annat oxidativ stress som gör att endotelcellernas frisättning av kväveoxid (NO) minskar och att deras frisättning av endothelin 1 (ET-1) ökar. Sammantaget bidrar detta till vasokonstriktion och därmed en förändrad blodperfusion i hovens lamellager som skulle kunna öka risken för fång. Förhöjda nivåer av ET-1 har också hittats i fångdrabbade hovar (Johnson, 2002).

Polyuri och/eller polydipsi

Kortisol ger insulinresistens vilket hämmar cellernas upptag av glukos ur blodet och ökar glukoneogenesen, detta har i enstaka fall setts kunna leda till hyperglykemi med medföljande glukosuri och osmotisk diures (Rang *et al*, 2003). Kortisol kan också öka glomululära filtrations-hastigheten och därmed orsaka polyuri (Knottenbelt, 2003). En annan teori är att när pars intermedia expanderar påverkas den närliggande neurohypofysen och bidrar till utvecklingen av en partiell neurogen diabetes insipidus. (Schott II, 2002).

Kroniska infektioner

Kortisol hämmar transkriptionsfaktorer som styr produktionen av COX 2, adhesionsfaktorer och vissa cytokiner hos leukocyter och makrofager. Ökad kortisolkoncentration i plasma leder därför till en lägre aktivitet än normalt i områden med inflammation på grund av hämmad diapedes; de vita blodkropparna hittar inte fram till och kan inte heller ta sig ut till inflammationsplatsen i lika stor utsträckning som normalt, vare sig inflammationen orsakats av ett infektiöst agens eller annat. Kortisol påverkar också fibroblasternas kollagensyntes negativt vilket leder till försämrad sårhäkning och därmed en ökad mottaglighet för infektioner. I lymfoid vävnad har kortisol en hämmande effekt på produktionen av T och B-lymfocyter. På så sätt bidrar kortisol på flera plan till ett försämrat immunförsvar. MSH bidrar också till ett försämrat immunförsvar bland annat genom att hämma IL-1 β och TNF α och genom att minska neutrofil infiltration. (Rang *et al*, 2003.)

Onormal fettdistribution

Hos hästar med PPID ses ibland fettilagringar på, för PPID, typiska områden på kroppen; supraorbitalt, vid svansroten, längs nacken och i skapet (Schott II, 2002). Kroniskt förhöjda P-kortisolvärden orsakar en omfördelning av fett i kroppen (Rang *et al*, 2003), eventuellt kan också andra hormoner bidra (Mc Farlane *et al*, 2004).

I en studie på får bröts hypotalamus reglering av hypofysen kirurgiskt. Det orsakade kroniskt förhöjda α -MSH-värden i fårens plasma och fåren drabbades av en kronisk viktökning. Hos får, men även hos andra däggdjur som hamster och människa, har förhöjda α -MSH värden uppmätts under sensommar och höst. Samma fynd gjordes i en annan studie av hästar och ponnys där α -MSH-värdena i plasma ökade två respektive elva gånger under hösten jämfört med prover tagna under våren. Författaren anser att fynden talar för att de hormon som bildas från POMC skulle kunna vara en del i djurens naturliga förberedelse för vintern med förändrad metabolism där α -MSH hjälper kroppen att lagra reserver inför den kalla årstiden. Vidare anser författaren att en förhöjd halt av dessa hormon i plasma hos PPID-hästar skulle kunna vara orsaken till den onormala fettilagring och fettdistribution som ibland ses vid PPID. (Mc Farlane *et al*, 2004)

Neurologiska symtom

Adenomet/hyperplasin i pars intermedia kan ibland orsaka tryck på hypotalamus och/eller synnervskorsningen och leda till neurologisk påverkan och/eller synpåverkan (Schott II, 2002).

Övriga symtom

Andra symtom som beskrivits av Schott II (2002) är infertilitet, dålig mun- och tandhälsa, ljusare päls än tidigare, nedsatt prestation, tachycardi, tachypné och försämrad funktion i ståapparaten, framför allt i bakbenen.

Biokemiska förändringar i blodprov

I samband med PPID kan ibland biokemiska förändringar i blodet uppmätas. I en studie där 31 hästar ingick, huvuddelen av dem ponnys, jämfördes olika biokemiska egenskaper i blodprov. Hästarna indelades i tre grupper, friska hästar, hästar med hirsutism och hästar med ett positivt dexametasonhämningstest (DT). Ett blodprov togs på morgonen efter att hästens inte haft tillgång till foder under natten, provet togs i hästens hemmamiljö för att minimera stressrelaterade förändringar i blodet. I studien upptäcktes hyperglykemi hos fler än 50 % av hästarna i gruppen med hirsutism, ingen i de övriga två grupperna led av hyperglykemi. Hos 14 av de 31 hästarna sågs hyperinsulinemi, dessa 14 hästar var fördelade mellan grupperna men den största andelen, åtta stycken, fanns i gruppen med hirsutism (Tabell 4) (Keen *et al*, 2004).

Tabell 4. Andel hästar (%) med förhöjda glukos, insulin och/eller ACTH-värden i en testgrupp.

	Hyperglykemi	Hyperinsulinemi	Förhöjt ACTH
Hirsutism (n=12)	58 %	67 %	92 %
Positivt DT (10)	0 %	30 %	60 %
Friska hästar (9)	0 %	33 %	78 %

Andra biokemiska förändringar som ibland kan ses hos PPID-hästar är mild anemi, neutrofil, lymfopeni, hyperkolesterolemi, triglyceridemi och förhöjda leverenzymvärden (Sojka, 2008)

Lite om Ekvint metaboliskt syndrom (EMS)

Flera av de symtom som ses hos hästar med PPID kan också ses hos hästar med så kallat Ekvint metaboliskt syndrom (EMS). Exempel på sådana symtom är fettansamling längs nacke och skap, nedsatt fruktsamhet, fång, hyperinsulinemi och förhöjda glukosvärden. EMS drabbar också ofta samma typ av hästar som drabbas av PPID, något äldre ponnys och Morganhästar. En intressant teori, som ännu inte bevisats, är att oxidativ stress på grund av en förändrad metabolism vid EMS i förlängningen kan orsaka PPID (Johnson, 2004). På grund av att symtomen är så lika är det viktigt att försöka hitta diagnostiska metoder för att differentiera mellan PPID och EMS.

DIAGNOSTISKA METODER

Diagnosen PPID är säker hos hästar med uttalad hirsutism, men svårare att ställa då sjukdomen just börjat utvecklas eller då symtomen är vaga (Miller *et al*, 2008). I praktiken ställs ibland diagnosen då hirsutism eller andra ovan beskrivna kliniska symtom uppstår hos äldre hästar (Schott II, 2002). Nedan beskrivs metoder som används eller som utprovas för att kunna diagnostisera PPID.

Plasma-kortisol

Då PPID tidigare har ansetts vara en form av Cushing hos häst har flera studier gjorts på olika sätt att mäta kortisol, både med och utan olika former av hämningar. En del hästar med PPID har ett förändrat plasmakortisolvärde (P-kortisol).

Hästar med PPID överskrider inte alltid den övre referensvärdesgränsen av P-kortisol, en del hästar har till och med haft låga värden. Ett alternativ är därför att undersöka kortisolinsöndringens dygnsrytm där plasmakoncentrationen på morgonen förväntas stiga i

förhållande till övrig tid på dygnet. Ett laboratorium som har använt denna metod har räknat med att mindre än 30 % skillnad i P-kortisol mellan morgon och kväll innebär förlust av dygnsrytm, detta baserat på mätningar på ca 1000 hästar med misstänkt PPID (Schott II *et al*, 2006). I en annan studie jämförs kortisolinsöndringens dygnsrytm hos friska hästar och hos hästar med PPID, skillnad kan ses mellan dessa grupper, men den är inte signifikant (Dybdal *et al*, 1994). Många yttre faktorer påverkar hästens kortisolutsöndring till exempel stress som kan orsakas av fasta, smärta eller annan sjukdom än PPID (Sjaastad *et al*, 2003).

Dexametasonhämningstest

Dexametasonhämningstest (DT) är en metod som ofta används vid utredning av PPID-misstanke på häst. Det finns några olika sätt att använda sig av DT för att utvärdera hypofys-binjureaxeln, men principen är densamma (Dybdal *et al*, 1994). DT innebär att en dos kortison (dexametason) ges intramuskulärt till en häst som misstänks ha PPID. Blodprov tas, för att mäta P-kortisol, före kortisongivan och en bestämd tid efter. Hos friska hästar hämmas ACTH-syntesen i pars distalis då dexametason fäster till kortisolreceptorer där (se figur 1), den minskade ACTH-syntesen leder i sin tur till minskad kortisol syntes hos dessa hästar. Testet bygger på principen att det hos hästar med PPID utsöndras en högre mängd ACTH från hypofysens pars intermedia än normalt. Denna del av hypofysen saknar receptorer för kortison/kortisol och ACTH-produktionen i pars intermedia kommer därför inte heller att hämmas då dexametason injiceras. Enligt denna princip kommer P-kortisol inte att sjunka lika mycket hos hästar med PPID som hos friska hästar (Dybdal *et al*, 1994 & Miller *et al*, 2008).

I en studie av Dybdal (1994) jämförs tre olika varianter på DT på 66 hästar med kliniska symtom och patologiska förändringar som tyder på PPID. Denna studie visar att olika tidsintervall mellan dexametasongiva och mätning av P-kortisol samt storleken på dexametasondosen kan leda till olika resultat. I studien stämmer resultaten från testet bäst överens med de kliniska och patologiska fynden då en dos på 4 mg/100 kg häst gavs till patienten på kvällen efter att ett så kallat 0-prov tagits. Nya blodprov togs sedan 15 och 19 h efter injektionen. Då kunde de friska hästarna skiljas från dem med PPID genom att en P-kortisolnivå på 27,59 nmol/L (1 µg/dl) användes som referens, de friska hästarna hade alla P-kortisolvärden under referensvärdet och de med PPID hade alla värden över referensvärdet. En lägre dos än 4 mg/kg gjorde att färre än 97 % av kontrollhästarna kunde skiljas från hästarna med PPID. Dock finns både falskt positiva och falskt negativa enligt andra studier. Författaren fastslår också att inget samband mellan graden av suppression/icke suppression av kortisolinsöndring och symtom kan ses, det vill säga att kraftiga symtom inte alltid korrelerar med ett kraftigt svar på DT. Testet visar inte heller hur utvecklad sjukdomen är innan den ger tydligt utslag på DT. (Dybdal *et al*, 1994.)

I en annan studie upprepades DT tre gånger med 30 dagars mellanrum på 7 hästar med kliniska tecken på PPID, endast en av hästarna visade positiva testresultat vid varje tillfälle. (Miesner *et al*, 2003) I ytterligare en studie, från 2005 (Donaldson) testas 39 friska hästar/ponnyer genom dexametasonhämning (DH) både i januari och i september. I januari är samtliga hästar inom referensvärdena för negativt DT, medan tio av de 39 hästarna i september är positiva i DT.

När DT utförs i Sverige för att analyseras på Klinisk kemiska laboratoriet, Universitetsdjursjukhuset Uppsala (UDS), rekommenderar laboratoriet följande schema:

0-prov tas 16.00-17.00. Därefter injiceras dexametason intramuskulärt (4 mg/100 kg kroppsvikt). Blodprov tas nästa morgon 08.00-12.00.

Referensvärden: 0-prov <320 nmol/l, hämningsprov <45nmol/l

Glukokortikoider, som används vid DT, har av flera författare ansetts kunna framkalla akut fång hos häst (Dybdal *et al*, 1994). Trots många försök att experimentellt inducera fång genom glukokortikoidgiva är risken för fång oförutsägbar (Johnson *et al*, 2004). För vidare diskussion se avsnittet om symtom.

Kortisol-/kreatininkvot i urin

När glukokortikoider syntetiserats och cirkulerar i blodet kommer en del av kortisolmolekylerna att utsöndras via urinen. Istället för att mäta kortisolkoncentrationen i plasma vid den tidpunkt då ett blodprov tas kan ett urinprov ge en bild av hur kortisolproduktionen sett ut sedan senaste urineringen. För att kompensera för urinens utspädning jämförs kortisol-nivån med kreatinin-nivån i urinen. Mätning av urinkortisol-/urinkreatinin-kvot är en metod som används för att skilja friska hundar från hundar med hyperadrenokortisism. Urinprovet kan tas hemma av djurägaren och innebär därför troligen ingen stress för hunden, stress skulle kunna påverka resultatet. Provet anses med hög sensitivitet kunna skilja ut hundar med normal kortisolproduktion från de med förhöjd kortisolproduktion. Förhöjd urinkortisol-/urinkreatinin-kvot kan orsakas av hyperadrenokortisism, men även många andra sjukdomar kan ge förhöjd kvot (Cerondulo, 2009).

I några få mindre studier har denna teknik provats även på häst, i dessa har man sett viss överlappning i resultat mellan hästar med PPID och friska djur (van der Kolk *et al*, 1994). Exempel på detta finns i en studie över sammanlagt 33 hästar där urinkortisol/urinkreatininkvoten hos friska hästar jämförs med värden hos hästar med Cushings syndrom eller mag-tarmsjukdomen grässjuka. Mätningarna utfördes i morgonurinprov utan att hämmande kortison givits. Urinkortisolmedelvärdet var signifikant högre i grässjukegruppen än hos de övriga två grupperna. Mellan cushinggruppen och grässjukegruppen sågs ingen signifikant skillnad i medelvärdet. Överlappningar i urinkortisolvärdena kunde ses mellan alla tre grupper. När urinkortisol/urinkreatinin-kvoten jämfördes sågs däremot ingen signifikant skillnad mellan grupperna men däremot ansåg författarna att det fanns en trend mot högre kvoter i grässjukegruppen och cushinggruppen jämfört med den friska gruppen. Den högsta mediankvoten hittades i grässjukegruppen. Då alla hästars resultat jämfördes hade testet sensitivitet 84,6 % och en specificitet på 54,5 % (Chandler & Dixon, 2002). I en studie där urinkortisol-kreatinin-kvot jämförs mellan ponnys med hyperlipoproteinemi och hyperadrenokortisism ses ingen signifikant skillnad mellan värdena (van der Kolk & Wensing, 2000).

Salivkortisolkoncentration

Endast fritt kortisol kan utsöndras i saliv. I en studie tenderade salivkortisol att vara något högre än normalt hos PPID hästar som visat mycket liten suppression vid DT och haft ett överdrivet svar på ACTH-stimulering. Dessa studier antyder att testet skulle kunna fungera som verktyg för utredning, men det kan visa sig att detta test har samma brister som ett vanligt blodprov vid diagnostisering av PPID. Metoden skulle eventuellt kunna vara till hjälp där upprepade blodprov vid DT är svåra att ta (Schott II, 2002).

Thyrotropin releasing hormone (TRH) -stimulering

TRH från hypotalamus stimulerar hypofysen att frisätta tyroideastimulerande hormon (Sjaastad *et al*, 2003). I pars distalis och pars intermedia finns också TRH-receptorer där TRH stimulerar till frisättning av hormon som bildas från POMC; som α -MSH och ACTH. Detta kan ses hos både hos friska hästar och hos hästar som diagnostiserats med PPID (McFarlane *et al*, 2006). Efter att elva hästar med kliniska symtom av PPID injicerades med TRH ökade kortisolnivån i plasma med 90 och 120 % efter 15 respektive 30 minuter. Ingen ökning sågs hos en referensgrupp med 12 friska hästar. När metoden utprovades bestämdes att en ökning med 30 % innebar att hästen hade PPID. Problemet med metoden var att den initiala kortisolnivån varierade mellan djuren. De djur som initialt hade förhöjda kortisolnivåer fick inte samma höjning. Detta skulle kunna leda till falskt negativa resultat. (Schott II, 2002)

En senare studie av McFarlane *et al* (2006) visade ett något annorlunda resultat. Studien omfattade 16 friska hästar och sju hästar med tydliga kliniska tecken på PPID, positiv DT och/eller positiva obduktionsfynd. Dessa gavs 1 mg TRH intravenöst. Blodprov togs före givan och 30 minuter efter. Hos PPID hästarna sågs förhöjda plasmakortisolvärden 30-90 min efter TRH administration, men det sågs även hos tio av de 16 friska hästarna. Samma författare har också visat att ACTH-nivåerna i plasma ökar vid TRH-giva, både hos friska hästar och hos hästar med PPID (McFarlane *et al*, 2006).

Kombinerat TRH/DT

Detta test utvecklades för att komma ifrån problemet med olika basalnivåer av kortisol vid TRH-stimulering. Dexametason ges tre timmar innan TRH för att sänka kortisolnivåerna till likvärdiga nivåer hos hästar med PPID och kliniskt friska hästar. Detta görs för att hämma ACTH-insöndringen från pars distalis. Kortisolnivåerna mäts 30 minuter före och 30 minuter efter TRH-givan. Hästar med PPID visar med denna metod en ökning av P-kortisol jämfört med friska hästar, där en ökning saknas. Efter 24 h är P-kortisol hos de friska hästarna fortfarande låg, medan hos hästar med PPID är nivåerna åter normala. De patologiska fynden konfirmerades endast hos en av hästarna, konfirmeringen skedde genom obduktion. (Eiler *et al*, 1997)

I en utvärdering av metoden 2006 testades 42 hästar för PPID med hjälp av det kombinerade testet. Efter testet obducerades hästarna och delades in i grupper efter histopatologiska fynd. Hästar med mikro- eller makroadenom i pars intermedia fick diagnosen PPID och fick ingå i den positiva gruppen medan hästarna utan sådana histologiska fynd ingick i kontrollgruppen. När resultaten i det kombinerade TRH/DT jämfördes med resultaten från obduktionen visade sig det kombinerade testet 88 % sensitivt och 76 % specifikt. Då flera av hästarna led av symtomet hirsutism jämfördes även resultatet från obduktionen med symtomet, det visade en sensitivitet på 71 % och en specificitet på 95 %. För det kombinerade TRH/DT-testet krävs 1 mg TRH till både häst och ponny (Frank *et al*, 2006). Beställning och användning av TRH i Sverige kräver godkänd licens från Läkemedelsverket. 1mg TRH som beställs via Europharma kostar idag 965 kr. (Eriksson, M. K. pers. medd. 2010)

P-ACTH

Normala variationer i ACTH i förhållande till ålder, kön och årstid har studerats hos 39 förvildade ponnys. Dessa normalvariationer var i vissa fall så stora att flera av de friska hästarna skulle ha diagnostiserats med PPID om hänsyn endast tagits till blodprovresultat

(Donaldson *et al*, 2005). Se också tabell 4. Dock har hästar med PPID förhöjda ACTH-värden i hypofysen men också i blodet. Ingen korrelation har setts mellan ACTH och kortisolvärden. Även hästar med PPID och låga ACTH-värden har setts, därför bör denna metod inte användas som enda diagnostisk metod. Begränsningarna med metoden är också att provet kräver speciell hantering, ACTH kan absorberas av glas och degraderas av enzymer i både helblod och plasma. Enligt Schott bör provet därför snabbt hållas i plaströr, centrifugeras så att plasman kan samlas, provet bör sedan frysas för att skickas i fryst tillstånd till analyserande laboratorium. Många laboratorier erbjuder ACTH analys men använder metoder som inte utprovats för häst och som kan korsreagera med andra peptider som härstammar från POMC. (Schott II, 2002)

ACTH-stimulering

ACTH-stimulering är en metod som i Sverige används av veterinärer för att bekräfta hypoadrenokortisism hos hund. En hög ACTH-dos stimulerar binjurebarkens celler att tömmas på sitt förråd av kortisol. Kortisolnivåerna mäts både före och efter injektionen och hos hypoadrena hundar förväntas skillnaden mellan proverna vara obefintlig eller mycket liten. När metoden används på hundar med hypofys- eller binjurebarksberoende hyperadrenokortisism ses ibland en kraftig stegring av kortisolvärdet efter ACTH-injektionen, i en sammanfattning av sju olika studier svarar dock 16 % (hypofysberoende hyperadrenokorticism) respektive 49 % (binjurebarksberoende hyperadrenokorticism) med normala värden. (Stockham & Scott, 2002).

I en studie från 1994 finns ACTH-stimulering beskriven som en metod som kan användas för att avgöra om hyperadrenokortisism föreligger hos häst. I studien injicerades ACTH intravenöst och blodprov togs strax innan och två timmar efter injektionen. Trots att testet utfördes på hästar med uttalad hirsutism kunde inte alla hästarna (n=8) uppvisa värden som skiljde sig från friska kontrollhästar (van der Kolk *et al*, 1994). I en annan studie på 66 hästar med kliniska symtom och patologiska fynd som tyder på PPID kunde dessa inte skiljas från kontrollhästar genom ACTH-stimulering (Dybdal *et al*, 1994).

Seruminsulinkoncentration

Många hästar med PPID (speciellt ponny) har hyperinsulinemi, oftare än hyperglykemi. Kortisol och insulin har motsatta metaboliska effekter. Studier där fasteinsulinnivån har mätts hos hästar med PPID har utvärderats för att se om den skulle kunna användas som ensamt test. Andra sjukdomar som kan orsaka hyperinsulinemi är till exempel ekvint metaboliskt syndrom (EMS). EMS innebär bland annat överdriven kortisolaktivitet i perifer vävnad som till exempel hud, fett och lamellerna i hoven då ett enzym ökar omvandlingen av inaktivt kortison i vävnaderna till aktivt kortisol. Hyperinsulinemi är alltså inte specifikt för PPID utan förekommer också vid andra sjukdomar. Studier har visat att man kan få både falskt positiva och falskt negativa med denna metod (Schott II, 2002). Ingen korrelation har påvisats mellan hypofysens vikt och insulinkoncentrationen i serum (van der Kolk *et al*, 2004).

Obduktion

I en studie av van der Kolk *et al*. (2004) jämfördes hypofysens storlek och vikt samt ålder och kön mellan friska hästar (utan kliniska tecken på PPID) och hästar med PPID (obduktionsdiagnos). Materialet bestod av 36 hästar med PPID samt 100 hästar utan PPID-symtom. Alla hypofyser vägdes, mättes och undersöktes histologiskt efter fixering i formalin. Hästarna delades in i grupper efter histologiska fynd. I gruppen utan PPID sågs

signifikant skillnad mellan hästar <10 år och hästar >10 år avseende medelvikt och medelhöjd på hypofysen. Hypofyserna var generellt större och tyngre i gruppen med hästar äldre än tio år. Signifikant korrelation sågs mellan ålder och lesioner i hypofysen hos hästar utan kliniska tecken på PPID, där äldre hästar hade fler lesioner. Dräktiga och lakterande ston utan kliniska tecken på PPID avvek från de övriga friska hästarna på flera sätt. De hade till exempel signifikant tyngre hypofys än övriga ston, ingen korrelation kunde ses mellan ålder och närvaro av lesioner hos de dräktiga och lakterande. Av de friska dräktiga stona visade 84 % lesioner som hyperplasi eller adenom i pars intermedia, vilket endast 46 % av de icke dräktiga friska hästarna hade. Flera hästar utan kliniska symtom hade vid obduktion förändringar i pars intermedia (se tabell 5), tre av dessa fick diagnosen PPID post mortem.

Tabell 5. Jämförelse mellan antal hästar (n=100) som ingår i gruppen utan kliniska symtom och fynd av antingen hyperplasi eller adenom i pars intermedia i en studie av van der Kolk *et al* (2004).

	Könsfördelning (n=100)	Antal och % med förändringar pars intermedia
Sto	69 %	39 (57 %)
Valack	26 %	7 (28 %)
Hingst	5 %	1 (20 %)

I en studie av Miller *et al* (2008) undersöks hypofyserna hos 33 hästar med och utan misstänkt PPID. Hästarnas ålder korrelerade positivt med hur stora förändringar som kunde ses på hypofysen – äldre hästar hade fler och kraftigare förändringar. De flesta hästarna mellan 10 och 20 år uppvisade fokala eller multifokala förändringar med hyperplasi eller hypertrofi i pars intermedia. Fynden skulle enligt författarna kunna tyda på att förändringar i hypofysen är en del av det naturliga åldrandet. Författarna anser också, efter att ha jämfört sina histologiska fynd med fynd som gjorts i äldre histologiska preparat, att ett standardschema för bedömning av hypofyspreparat på häst skulle bidra till att lättare kunna jämföra olika studier.

Bilddiagnostiska metoder

Ventrodorsal röntgen och CT har utnyttjats för att undersöka hypofysens storlek men metoderna är riskfyllda då de kräver generell anestesi (Schott II, 2002) och i en studie av van der Kolk (1997) hade endast 68 % av hästarna med PPID förstörade hypofyser. Data över normal hypofysstorlek hos häst är begränsad, men i en studie över 136 hästar av van der Kolk *et al* (2004) jämförs hypofysstorlek, ålder och kön mellan 100 friska hästar och 36 hästar med obduktionsdiagnosen PPID. I denna studie och i en studie av Miller *et al* (2008) ses en åldersrelaterad ökning i hypofysens storlek hos både ston och valacker. I van der Kolks studie (2004) fanns en signifikant skillnad i medelstorlek mellan hypofyserna hos friska hästar och hästar med PPID men det fanns också en överlappning i hypofysstorlek mellan grupperna. I Miller *et al*'s (2008) studie visas att höjden på hypofysen, som inte kan mätas vid ventrodorsal röntgen, är det mått som bäst korrelerar till hur grava förändringar som finns i hypofysen. CT över hypofysens höjd ger enligt samma författare en dålig precision vilket gör det svårt att avgöra höjden på hypofysen utan ett invasivt ingrepp.

Domperidon

I ett försök av som utfördes på 33 hästar, med och utan misstänkt PPID, gavs domperidon oralt (Miller *et al*, 2008). Domperidon är en dopaminantagonist som är godkänd för

användning inom EU för agalakti hos sto. (L 367/44 SV Europeiska unionens officiella tidning 22.12.2006) Domperidon binder till och blockerar dopaminreceptorer (perifera D2-receptorer som de i pars intermedia). Då dopaminreceptorerna blockerats minskar bland annat hämningen av POMC-syntesen i pars intermedia. Syftet med försöket av Miller *et al.* var att undersöka domperidons effekt på ACTH-insöndringen från pars intermedia då hämningen av POMC-syntesen minskar. Författarna ansåg att hos hästar med normal pars intermedia-funktion borde inte domperidon-givan ha någon tydlig effekt, medan P-ACTH-nivån borde öka hos hästar med ett funktionellt adenom eller hyperplasi i pars intermedia och att detta test skulle kunna skilja friska hästar från hästar med PPID. P-ACTH mättes före domperidon-givan samt fyra och åtta timmar efter. Varje hästs individuella basalnivå P-ACTH jämfördes sedan med dess P-ACTH efter domperidon-giva för att se hur många gånger nivån ACTH ökat. Då testet genomförts obducerades hästarnas hypofyser och hästarna delades därefter in i fem grupper utifrån histologiska och morfologiska fynd utan att svaret på domperidontestet var känt för patologerna. Fynden jämfördes med hästarnas svar på domperidon-giva. P-ACTH åtta timmar efter domperidongivan korrelerade bäst med hypofysfynden. Ökningen P-ACTH hos hästar vars hypofyser saknade förändringar som ansågs patologiska var aldrig större än 1,9 gånger vid avläsning efter åtta timmar. Hos hästarna med diffus adenomatös hyperplasi, mikroadenom eller adenom i pars intermedia uppmättes hos 15 av 21 hästar en ökning i P-ACTH med minst 1,9 gånger vid avläsningen efter åtta timmar. Av de resterande sju hästarna i gruppen hade alla, utom två, en höjning med minst 1,9 gånger av P-ACTH efter avläsningen vid fyra timmar. De återstående två hästarna i samma grupp hade en sänkning av P-ACTH efter både fyra och åtta timmar. Miller *et al.* anser att detta test skulle kunna användas för att ställa diagnosen PPID på ett stadie där hästen ännu inte utvecklat hirsutism eller andra tydliga symtom. De anser också att vidare studier krävs för att utreda om det kan finnas årstidsvariationer att ta hänsyn till i tolkningen av ACTH-svaret.

Muskelbiopsi

Aleman *et al* (2006) tog muskelbiopsier på 15 hästar med PPID, dessa jämfördes med muskelbiopsier från 15 kontrollhästar av samma ras och ålder. Hästarna med PPID uppvisade förlust av typ 2-muskelfibrer jämfört med de friska hästarna. Detta kan tyda på att den minskade muskelmassa som ibland ses vid PPID beror på förlust av typ 2 fibrer, vilket kan ses hos andra djurarter med Cushings syndrom.

α -melanocytstimulerande hormon (α -MSH)

Vid PPID insöndras en större mängd α -MSH från hypofysens pars intermedia än normalt (McFarlane *et al*, 2006), men för att hormonet skall kunna användas i diagnostik av PPID krävs kunskap i hormonets normala variation under året och hur nivåerna av α -MSH i blodprov påverkas av olika sorts hantering efter provtagning (McFarlane *et al*, 2004). I en studie av McFarlane *et al* (2004) togs blodprover på friska hästar under olika tider under året och under dagen, för att undersöka om det fanns skillnader i nivåer av α -MSH. Inga skillnader kunde ses under olika tidpunkter på dagen, däremot sågs stora variationer vid olika tidpunkter på året, fram för allt hos ponnys som hade en elva gånger högre koncentration av α -MSH i september jämfört med vårmånaderna. Studien visade också att prover som centrifugeras direkt efter provtagning kan förvaras som plasma i 25°C i 24 timmar eller i 4°C i 48 timmar utan att nivåerna av α -MSH förändras signifikant. En lagring i 4 °C 48 h utan centrifugering visade dock en signifikant skillnad med högre värden α -MSH i provet som inte centrifugerats. Hästens α -MSH är identiskt med människans, det gör att det går att använda radioimmunoassays som designats för att mäta α -MSH i människoplasma till hästplasma. I en annan studie av McFarlane *et al* (2006) analyserades

α -MSH i plasman hos en grupp friska hästar och en grupp hästar med PPID. Alla hästarna injicerades därefter med TRH. Efter 30 minuter provtogs hästarna igen för att jämföra om hypofysens svar med insöndring av α -MSH skiljde sig mellan grupperna. Den procentuella ökningen av α -MSH efter TRH-givan skiljde sig inte mellan grupperna. Det som däremot sågs var att nivån α -MSH i plasma var signifikant högre hos hästar med PPID både före och 30 minuter efter TRH-givan.

EGNA STUDIER

Bakgrund o syfte

Studie 1

Trots att DT är den metod man ofta använder för att diagnostisera PPID i Sverige idag kan resultaten av analysen vara svårtolkade då både falskt positiva och falskt negativa resultat har setts vid studier av metoden (Dybdal *et al*, 1994, Miesner *et al*, 2003 och Donaldson, 2005). Normal respons efter hämning med dexametason är kortisolvärden under 10 nmol/l, men koncentrationer upp till 45 nmol/l anses ändå vara negativa i test enligt den metod som används vid Klinisk Kemiska laboratoriet, Universitetsdjursjukhuset, SLU. Inom ramen för detta examensarbete utfördes en studie av resultaten från alla prover som tagits vid DT och skickats till Klinisk Kemiska laboratoriet, Universitetsdjursjukhuset, SLU mellan 2002-06-25 och 2008-02-14 i syfte att ta reda på hur populationen som misstänks för PPID i Sverige ser ut och hur resultaten från DT blivit.

Ytterligare en delstudie utfördes där enkäter skickades ut till veterinärer eller kliniker som utfört DT på hästar med misstänkt PPID och där proverna analyserats vid Klinisk kemiska laboratoriet, UDS. I första hand valdes de patienter utan tydligt diagnostiska kortisolnivåer (10-100 nmol/l efter dexametasonhämning). Enkätens syfte var att undersöka hur svenska veterinärer tolkar DT, anser de *i efterhand* att resultatet från DT överensstämmer med hästens symtom och sjukdomsutveckling. I enkäten ställdes också frågor kring symtom, behandling och om andra tester utförts som undersökande veterinär anser verifiera sjukdomen, syftet med dessa frågor var att få ytterligare information om hur populationen som misstänks för PPID ser ut.

Studie 2

Klinisk kemiska laboratoriet, UDS, analyserar idag urinkortisol-/urinkreatininkvot på hund där provsvaret används för att skilja friska hundar från hundar med förhöjd kortisolproduktion orsakat av till exempel hyperadrenokortisism. Urinprov från elva kliniskt friska hästar analyserades inom ramen för detta examensarbete för att undersöka normalvärden på kortisol-/kreatininkvot i urinprov på häst samt för att se om urinprov från häst har potential att användas på liknande sätt i utredningen av misstänkt PPID. Urinproven togs av djurägaren i hästens hemmiljö för att minimera stress och därmed kortisolutsöndring, vilket kan uppstå i samband med klinikbesök.

MATERIAL OCH METODER

Studie 1

Delstudie 1

Mellan 2002-06-25 och 2008-02-14 har 289 dexametasonhämningstest (DT) på häst analyserats vid Klinisk kemiska laboratoriet, UDS, i syfte att fastställa om den provtagna hästen lider av PPID (PPID/Cushing's syndrom/hyperadrenokortisism). Data från dessa 289 hästar togs fram från Klinisk kemiska laboratoriets datasystem Labmaster (Lab-IT

solutions, Sollentuna, Sverige). Informationen från Labmaster innehöll provtagningsdatum, ras, kön, ålder och kortisolnivåer före och efter DH.

Delstudie 2

100 hästar valdes ut ur samma material, i första hand efter kriteriet att deras kortisolvärde efter DH varken hade en tydlig hämning, dvs översteg 10 nmol/l eller tydlig brist på hämning, dvs inte översteg 100 nmol/l. I de fall antalet hästar som screenats vid samma station, klinik eller av samma veterinär översteg tre valdes de tre hästar ut som låg närmast över gränsvärdet för positivt prov (>45 nmol/l). Detta ledde till att färre än 100 hästar uppfyllde de grundläggande kriterierna, därför valdes även de hästar som låg närmast över gränsvärdet 100 nmol/l ut tills dess att 100 hästar fanns med i materialet. Högsta kortisolvärdet, efter DH, som ingår i studien blev därför 148 nmol/l. Enkäter (bilaga 1) skickades ut till de veterinärer, veterinärstationer eller kliniker som utfört provtagningen på dessa 100 hästar.

I de fall där veterinär angett antingen polyuri (PU) eller polydipsi (PD) har hästarnas symtom i resultatet beskrivits som PU/PD. I de fall undersökande veterinär angett att en häst inte fällt sin päls vid normal tidpunkt och också anger att den har förändrad päls har hästarna tolkats lida av hirsutism. Därför ingår både sådana hästar och hästar där veterinären uttryckligen angett hirsutism som symtom i gruppen med hirsutism.

Studie 2

I studien där hästar provtogs för urinkortisol/urinkreatinin ingick elva hästar: sju valacker varav fyra halvblod; tre, fem, 19 respektive 21 år gamla, ett engelskt fullblod; sju år gammal, en nordsvensk brukshäst; 12 år gammal och ett kallblod; 13 år gammalt. Fyra ston varav tre halvblod; nio, nio respektive 15 år gamla och en varmblodig travare; åtta år gammal.

Urinproven togs under sista veckan i september och första veckan i oktober 2008. För att minimera stresspåverkan utfördes provtagningen av djurägaren i hästens hemmiljö och inga rutiner ändrades inför provtagningen. Proven samlades vid urinering och förvarades, i de fall då analys inte kunde utföras inom 24 timmar efter provtagning, frysta (-20°C) tills analys kunde utföras.

Urinproven analyserades på Klinisk kemiska laboratoriet, UDS, för kortisol-kreatinin-kvot. Urinkortisol analyserades med en radioimmunoassay (RIA) Coat-a-count, Siemens Healthcare Diagnostics, Los Angeles, US. Urinkreatinin analyserades med ett kliniskt kemiskt analysinstrument (Konelab 30, Thermo Scientific, Vantaa, Finland) med reagens från Thermo. Provtagningen är godkänd av Djurförsöksetiska nämnden, Uppsala, diarienummer C112/8, och djurägarna.

RESULTAT

Studie 1

Delstudie 1:

Sammanlagt 289 DT analyserades av Klinisk kemiska laboratoriet, UDS, emellan 2002-06-25 och 2008-02-14.

Provsvär

En övervägande andel av hästarna, (55 %) svarade med hämning under 45 nmol/L efter DT. (Tabell 6) Maxvärdet var 248 nmol/l.

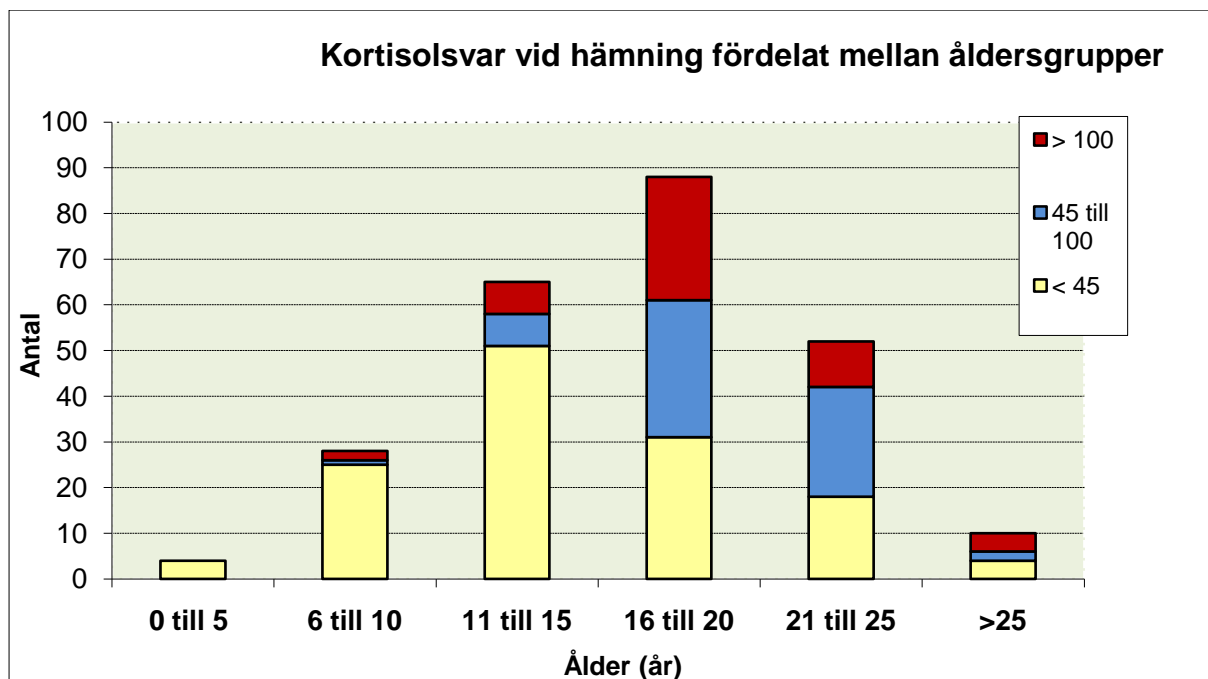
Endast en häst hade ett kortisolvärde vid noll-prov som kan anses ligga över referensvärdet för prov taget på eftermiddagen (341 nmol/l), denna häst hade en hämning inom referensramen (22 nmol/l). 62 hästar (21 %) hade ett kortisolvärde efter DH som var högre än nollprovet, alltså högre än provet som togs innan DH, och visade därmed ingen hämning alls efter dexametason. Alla 62 hästarna var enligt referensvärde positiva i DT (>45 nmol/l).

Tabell 6. Kortisolvärden efter DH från samtliga hästar förutom två där analysresultat efter DH saknas, fördelade mellan grupper.

Kortisolvärde efter DH, nmol/l	Antal prov	Procentuell andel
<10	119	41 %
10-45	39	14 %
46-100	76	26 %
>100	53	18 %

Ålder

På 247 av provremisserna fanns åldersangivelse, den yngsta provtagna hästen var tre år och den äldsta var 31 år. De flesta hästarna, 61 %, var vid provtagningstillfället äldre än 15 år (figur 2). Av hästarna med positivt DT (>45nmol/L) var 85 % äldre än 15 år. Bland hästarna med kortisolsvär på >100 nmol/l var 82 % äldre än 16 år.



Figur 2. Kortisol svar efter DT fördelat mellan åldersgrupper

Kön

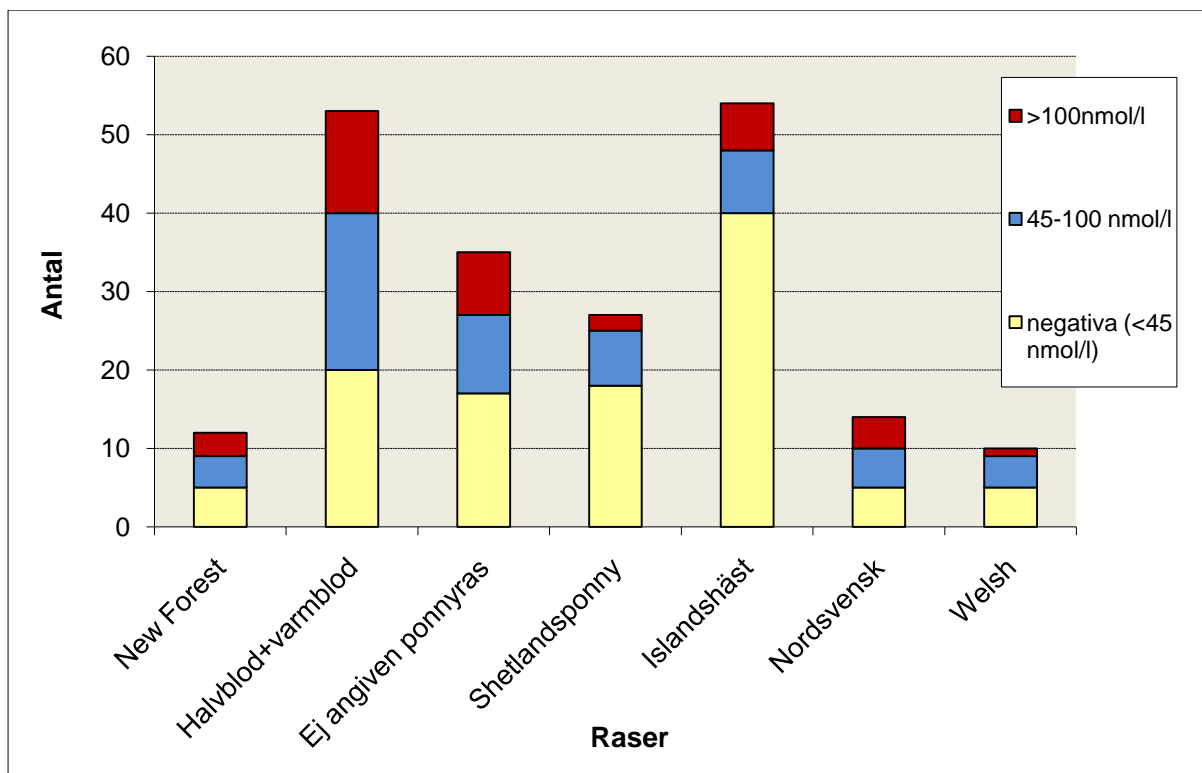
På 273 provremisser angavs kön (tabell 7), av dessa var 55 % ston. Av samtliga provtagna hästar visade 129 positivt test, det vill säga att kortisol i plasma översteg 45 nmol/l, av dessa var 56 % ston. Av alla testade ston var 48 % positiva i DT, jämfört med valacker där 40 % testade positivt. Av samtliga provtagna hästar hade 52 ett kortisolvärde efter DH som översteg 100 nmol/l, på 50 av dessa fanns könsangivelse, 27 av proverna kom från ston.

Tabell 7. Könsfördelning, antal testade och andel positiva inom könsgrupp.

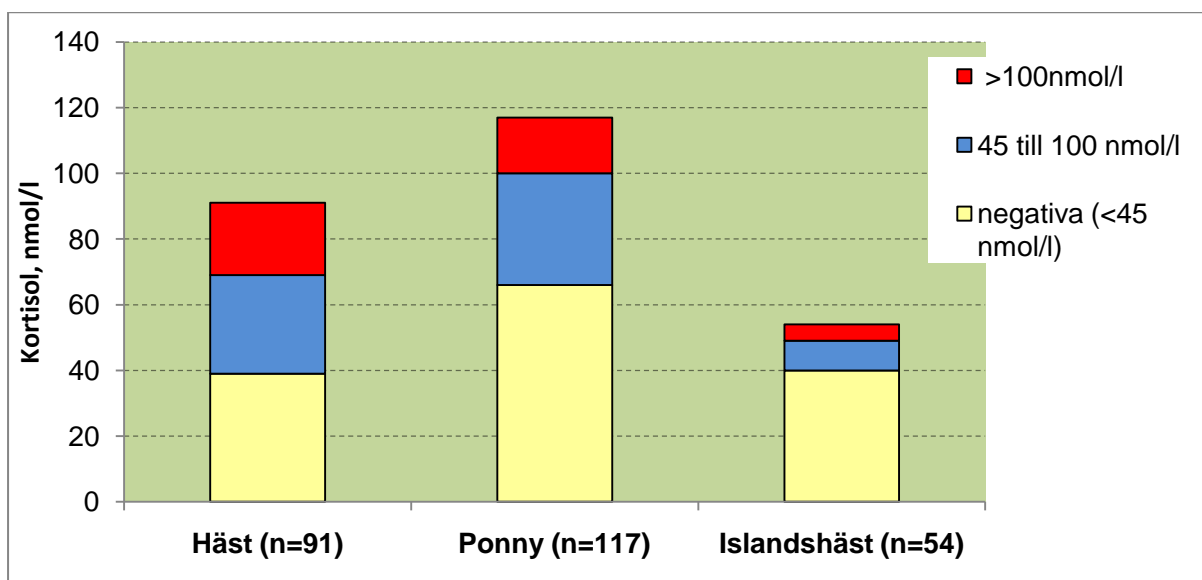
Kön	Könsfördelning (%)	Antal testade	Antal positiva >45nmol/L	Andel positiva (%) >45nmol/L
Hingstar	3 %	8	6	75 %
Valacker	42 %	114	46	40 %
Ston	55 %	151	72	48 %

Ras

På 262 av remisserna angavs om den testade hästen är av häst eller ponnyras. Av dessa är 35 % hästar, 45 % ponnyer och 20 % islandshästar. Den största enskilda testade rasgruppen består av islandshästar. Vid jämförelse mellan grupperna där fler än tio individer av samma ras testats (figur 3) är det i gruppen med islandshästar där den största andelen negativa prov, 74 %, finns i förhållande till antal prov tagna. Vid jämförelse mellan grupperna häst, ponny och islandshäst är det i gruppen med hästar där störst andel, 24 %, haft ett kortisol svar >100nmol/l vid DT (figur 4).



Figur 3. Fördelning av positiva och negativa test hos hästar som dexametsonscreenats uppdelat på raser. Endast de raser där 10 eller fler individer av samma ras testats ingår. I gruppen Nordsvensk ingår både brukshäst och travare. I gruppen Welsh ingår alla kategorier av Welsh (Mountain, cob och pony).



Figur 4. Fördelning av svar på DT inom respektive grupp.

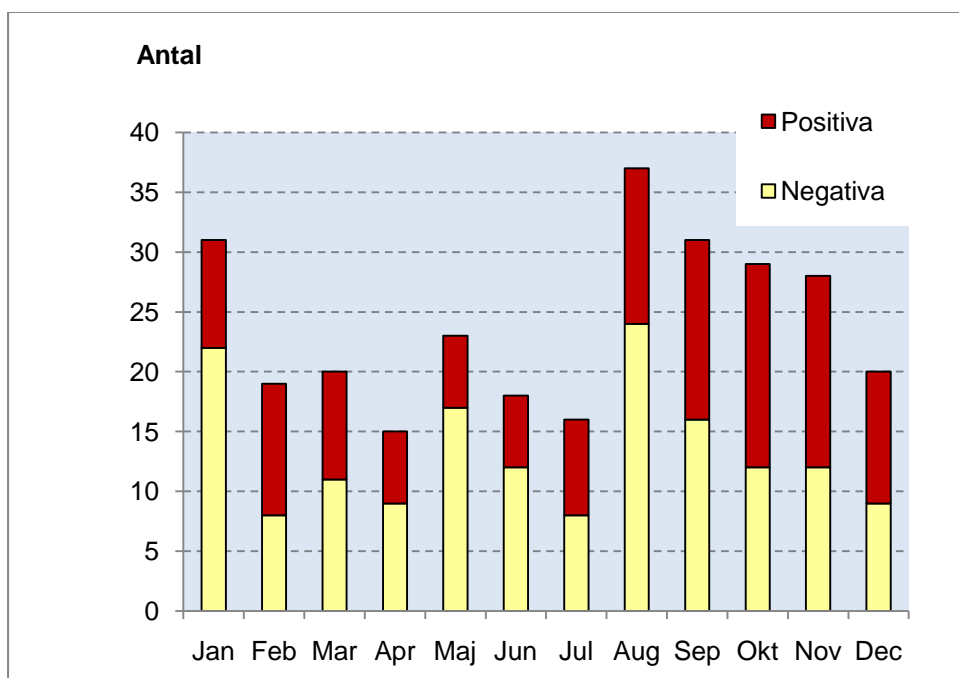
I jämförelse med siffror från Jordbruksverkets rapport; Kartläggning och analys av hästverksamheten i Sverige (2005), är ponnyns överrepresenterade i gruppen med positiva DT; 43 % av alla hästar i Sverige tillhör en ponnyras (Islandshäst inkluderad) men 51,7 % av alla positiva DT kommer från ponny. (Tabell 8.)

Tabell 8. Jämförelse mellan Jordbruksverkets uppskattning av antal hästar 2003 (Kartläggning och analys av hästverksamheten i Sverige, 2005), och andel positiva i DT, där det angivits om den testade hästen är av häst- eller ponny-ras, mellan 2002-06-25 och 2008-02-14. Varm- och kallblodiga travare är ej inräknade.

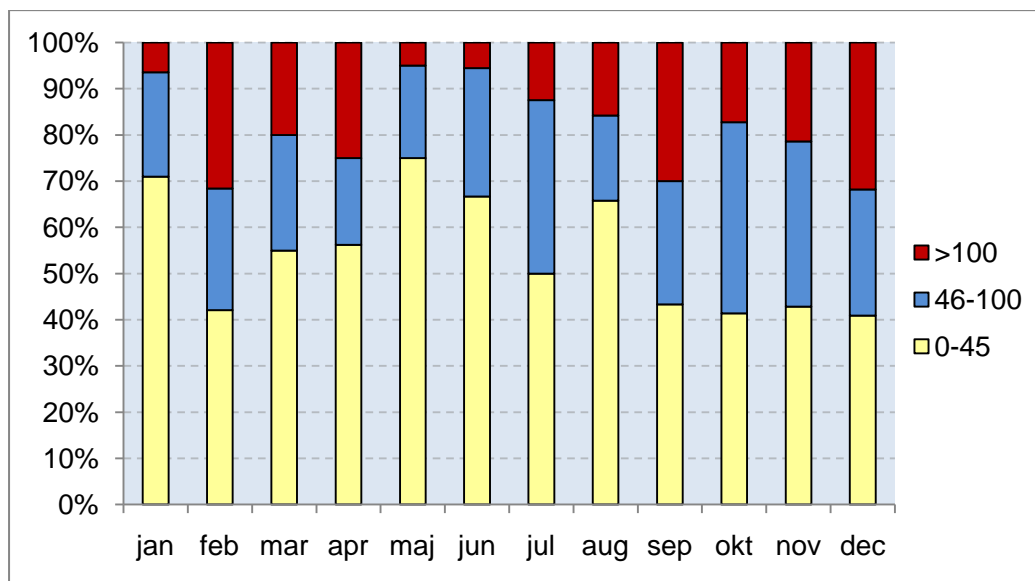
Ras	Antal (st)	Andel (%) av totalantal hästar och ponnys (SJV)	Andel (%) av totalantal positiva i DT
Ardenner	4000	2	0
Arabiskt fullblod	5000	2	2
Nordsv. Bruks	7000	3	2
Engelskt fullblod	8000	3	2
Övriga hästraser	10000	4	16
Sv halvblod	80000	40	24
Totalt antal hästar	114000		
Islandshäst	18000	9	11
Russ	8000	4	3
Welsh, Connemara, New Forest	12000	6	12
Shetlandsponny	20000	10	7
Övriga ponnyraser	28000	14	16
Totalt antal ponnys	86000		

Årstid

De flesta DT utförs i augusti (13 %), (figur 5) men de flesta positiva test i förhållande till antal gjorda test ses i februari (n=19 test), oktober (29) och december (22) då 58 %, 63 % respektive 59 % är positiva (figur 6).



Figur 5. Samtliga DT och utslag fördelade mellan månader.



Figur 6. Procentuell fördelning av provsvar mellan 0-45, 46-100 respektive >100 nmol/ över året

Delstudie 2:

Svarsfrekvensen på enkäterna var 51 %. Nio svar användes inte då enkäten var ofullständigt ifylld, journal saknades eller då veterinär uppgett att djurägare inte vill lämna ut information. Hästarna indelas i tre grupper efter enkätsvar:

- A (n=5) - veterinär anser att hästen ej hade/har PPID
- B (7) - veterinär misstänker och/eller kan ej utesluta PPID
- C (30) - veterinär anser att hästen hade/har PPID

Ålder

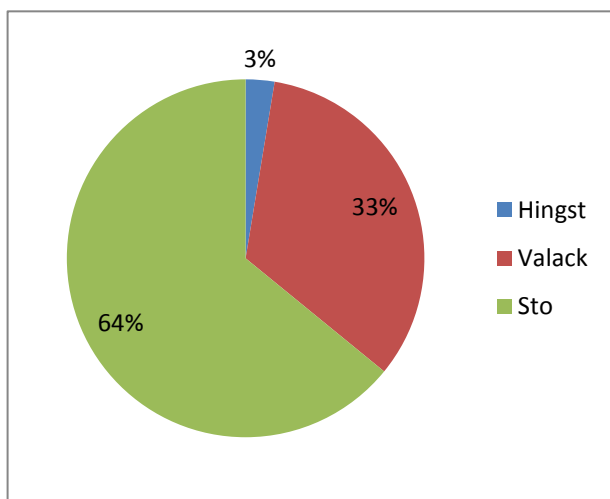
På 37 av provremisserna fanns åldersangivelse på hästen som testats genom DT. Den yngsta provtagna hästen var åtta år och den äldsta var 31 år. De flesta hästarna, 78 %, var vid provtagningsstillfället >16 år gamla (tabell 9).

Tabell 9. Medelålder (år) hos hästarna där veterinär svarat på enkät och där ålder uppgivits, fördelat mellan grupper; A: ej PPID, B: misstänkt PPID och C: PPID

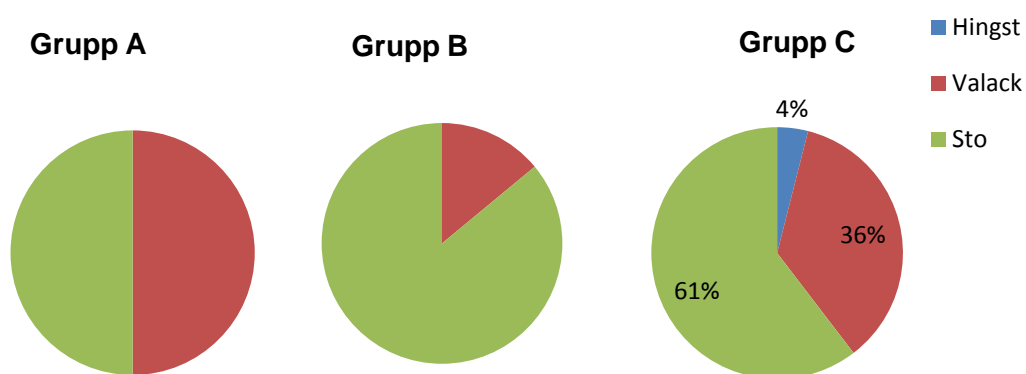
Grupp	medel	Lägsta	Högsta
A	15,8	12	22
B	16,3	8	21
C	20,0	12	31

Kön

På 39 provremisser hade kön angetts, de flesta hästarna (n= 25) var ston. (Figur 6) Fördelningen av kön mellan de olika grupperna (A, B och C) visas i figur 7.



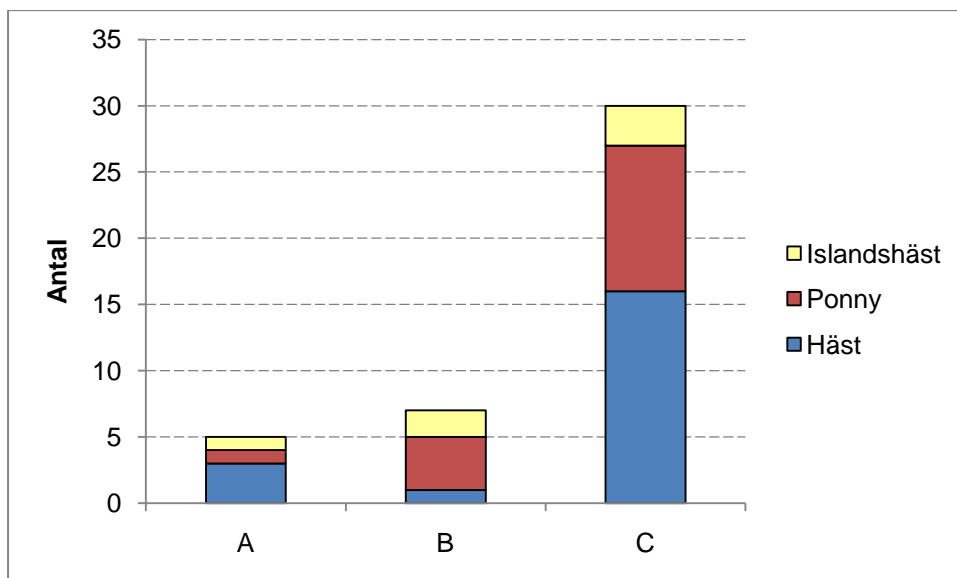
Figur 6. Könsfördelning hos hästarna där veterinär svarat på enkät



Figur 7. Procentuell fördelning av kön i respektive grupp; A: ej PPID, B: misstänkt PPID och C: PPID

Ras

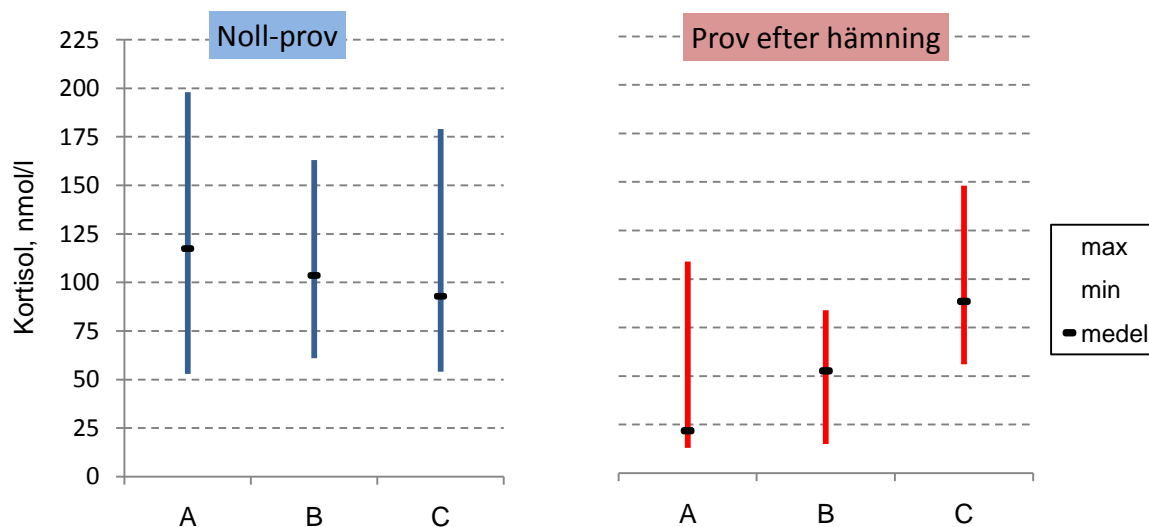
På 36 av remisserna, tillhörande hästarna där veterinär svarat på enkät, anges ras. Av dessa är 22 % hästar, 61 % ponnyer och 17 % islandshästar, i figur 8 ses rasfördelningen mellan grupperna A, B och C.



Figur 8. Fördelning av hästarna, där veterinär svarat på enkät, mellan häst, islandshäst och ponny där A: ej PPID, B: misstänkt PPID och C: PPID

Kortisolvärden vid DT

I figur 9 ses en jämförelse av kortisolvärden, noll-prov och prov efter DH, mellan de olika grupperna.



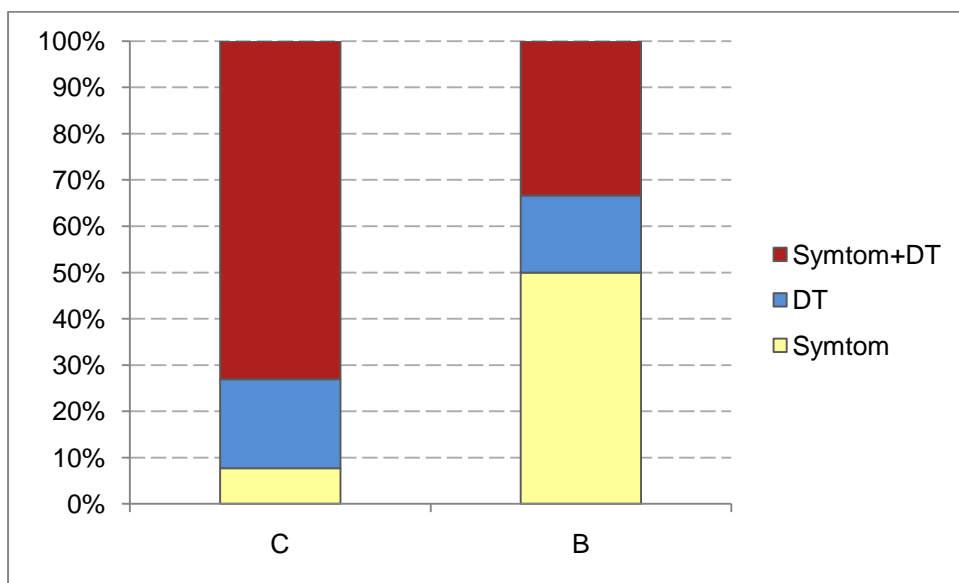
Figur 9. Jämförelse av kortisolvärden vid DT mellan de olika grupperna; A: ej PPID, B: misstänkt PPID och C: PPID. Vänster diagram visar kortisolvärden vid nollprov, höger diagram visar kortisolvärden efter DH. Staplarna anger range med högsta och lägsta kortisolvärden inom gruppen. Strecket markerar medelvärde i gruppen. Endast hästar vars veterinär svarat på enkät ingår.

Symtom

I grupp B är fång och fettinlagring de vanligaste symtomen då de förekommer i 71 respektive 57 % av fallen. I grupp C är fång och pälsförändring de vanligaste symtomen, båda förekommer i 70 % av fallen. 13 av de provtagna hästarna har hirsutism. En av hästarna med hirsutism har ett kortisolvärde efter DH som inte överskrider referensvärdet, övriga hästar med hirsutism har hämningsvärden som motsvarar positivt prov (>45 nmol/l). Två av de testade hästarna har kronisk fång som enda symtom.

Diagnos

Av alla hästar i enkätgruppen där veterinären svarat på enkät visade 35 positivt DT, det vill säga att kortisol i plasma översteg 45 nmol/l. Ingen av hästarna i grupp C har ett hämningsvärde som understiger 45 nmol/l. Det lägsta värdet i Grupp C är 56 nmol/l. Alla hästar som visade positiv DT anses av provtagande veterinär antingen ha PPID eller att diagnosen inte kan uteslutas hos hästen. Hos ytterligare två hästar, som visat negativt test kunde veterinär inte utesluta PPID på grund av symtomen. I de fall, 32 stycken, där veterinär angett vad diagnosen grundar sig på har 21 angett både DT och den kliniska bilden, fem har angett endast den kliniska bilden och sex angett endast DT (figur 11). Fem veterinärer har angett att de i efterhand inte misstänker PPID på hästarna de provtagit, de har inte angett orsaken men ingen av dessa hästar har ett hämningsvärde som överstiger 45 nmol/l.



Figur 11. Vad veterinären grundar sin diagnos på i de olika grupperna; A: ej PPID, B: misstänkt PPID och C: PPID

Andra tester som också använts för att konfirmera diagnos är följande:

9 av 42 anger att hästen har förhöjt glukosvärde.

2 av 42 anger lågt Mg

2 av 42 anger lymfopeni

Alla hästar med dessa förändringar ingår i grupp B eller C.

Behandling och överlevnad

Elva av hästarna i grupp C har behandlats på grund av sin PPID, tre av dessa lever fortfarande vid tidpunkten för enkäten. Behandlingen har då pågått i 34, 20 respektive 20 månader.

Av de resterande som uppgett att hästen behandlats i Grupp C har två veterinärer uppgett att behandlingen gav positivt resultat i 18 respektive 36 månader innan hästen avlivades. Övriga har inte angett resultat (n=3) eller angett dåligt resultat (3).

Studie 2

Elva hästar, sju valacker och fyra ston, provtogs för urinkortisol urinkreatinin-kvot (tabell 10).

Tabell 10. Provsvar urinkortisol/urinkrea

Ålder (år)	Ras	Kön	U-kortisol/kreakvot
3	Sv. Halvblod	Valack	13
5	Sv.halvblod	Valack	1
7	Eng. fullblod	Valack	5
8	Varmbl. Travare	Sto	7
9	Sv.halvblod	Sto	4
9	Sv halvblod	Sto	12
12	Nordsv brukshäst	Valack	3
13	Kallblod	Valack	5
15	Sv halvblod	Sto	7
19	Sv halvblod	Valack	4
21	Sv halvblod	Valack	5

DISKUSSION

När ett nytt diagnostiskt test utvecklas för att kunna användas vid diagnostiken av en sjukdom krävs en "Golden standard", då kan specificitet och sensitivitet jämföras för att utvärdera den nya metoden. Idag finns ingen "Golden standard" för att kunna diagnostisera sjukdomen PPID. Den metod som tidigare ansågs 100 % sensitiv och specifik, dexametasonscreening, har visat brister, kanske framför allt tidigt i sjukdomen. I flera av de studier som ingår i litteraturöversikten i detta examensarbete har just DT använts som "Golden standard" vilket gör att vi måste se med kritiska ögon på resultaten.

Under senare år verkar allt fler veterinärer och forskare ha fått upp ögonen för att Ekvint cushings syndrom/hyperadrenokortisism/PPID inte kan jämföras med Cushing hos andra djurslag (Sgorbini *et al*, 2004, Schott II, 2006) och flera studier har utförts för att hitta alternativa diagnostiska metoder (McFarlane *et al*, 2004, McFarlane *et al*, 2006, Miller *et al*, 2008, McFarlane *et al*, 2008). I allt fler av de senare studier som gjorts har också hästarnas diagnos konfirmerats genom obduktion istället för att konfirmeras genom DT (Frank *et al*, 2006, Miller *et al*, 2008 och van der Kolk *et al*, 2004).

I detta examensarbete med resultat från 289 DT sågs att medelåldern på de hästar som var positiva (>45nmol/L) i DT var 19 år, vilket stämmer överens med de PPID-sjuka hästar/ponnyer som beskrivs i litteraturen där medelåldern hos de drabbade hästarna anges vara 18-23 år (Schott II, 2006). Ponnyer verkar insjukna i PPID oftare än hästar. Ett intressant fynd är att nästan en femtedel av alla hästar som testats med DH är islandshästar, trots att dessa endast står för 9 % av hästpopulationen. Bland islandshästarna ses också många negativa test, 72 %, i jämförelse med övriga rasgrupper som testats. Islandshäst är, trots alla negativa DT, tillsammans med Welsh, Connemara och New Forest, den ras som i förhållande till hela häst- och ponnypopulationen har flest positiva svar på DT. I litteraturen finns inte belägg för att islandshästar oftare drabbas av PPID men en trolig anledning till att så många positiva hästar hittas skulle kunna vara det faktum att många testas. Orsaken till att så många islandshästar testas kan endast spekuleras kring då detta inte visas av studien; kanske är de mer benägna att utveckla EMS med liknande symtom som PPID, mer benägna att utveckla kronisk fång, eller kanske behöver de fler ljustimmar per dygn i jämförelse med andra hästraser innan deras vårfällning kommer igång, kanske har denna ras ett något annorlunda pälslag som svenska veterinärer och djurägare är ovana att bedöma. Det skulle också kunna vara så att hästar av denna ras ofta blir gamla och därmed oftare hinner utveckla sjukdomen PPID än vissa andra raser. För att svara på dessa frågor krävs vidare studier.

I Donaldson *et al*'s studie (2005) visas att ACTH-värdet i plasma hos friska hästar är högre under september än januari, i samma studie visas också att mediankortisolkoncentrationen i plasma är högre i september än i januari både före och efter DH. I Donaldsons studie jämförs endast januari och september och studien har utförts på friska hästar. I detta examensarbete har resultaten från prov tagna under alla årets månader på misstänkta PPID-hästar studerats. Trots det kan ett mönster anas; om endast de månader där fler än 20 prov tagits jämförs med varandra, märker september till och med december ut sig genom att närmare 60 % av hästarna är positiva i DT. I september och december överstiger 30 respektive 32 % av proven kortisolvärden på 100 nmol/l. Då provunderlaget inte är så stort skulle det naturligtvis kunna falla sig så att fler hästar med PPID faktiskt hittats under perioden, men en annan förklaring skulle även kunna vara att hästar under dessa månader har en naturlig höjning av α -MSH (McFarlane *et al*, 2004) vilket i sin tur orsakar en ökad kortisolnivå som inte påverkas av en dexametasongiva (Messer IV, 2006). I North Grafton, Massachusetts pågår just nu ett projekt på TUFTS UNIVERSITY, för att undersöka hur α -MSH och ACTH varierar under året och mellan olika breddgrader hos häst och ponny (<http://www.reeis.usda.gov/web/crisprojectpages/215016.html> 16/3 2010), kanske kan detta projekt ge oss svar på den frågan.

Enkätstudien är utförd sju till 75 månader efter att DT utförts, det innebär tyvärr att några av de journaler som ingår i studien inte tolkats av den veterinär som skrev den. Vissa journaler har tolkats av mig, andra journaler har tolkats av veterinärer på den klinik/station där testet utförts. Studien har vänt sig till veterinärer som använt DT som en del i diagnostiken av en häst/ponny som de misstänker ha PPID, endast i något fall anges att det är djurägaren själv som begärt testet. Det kan förväntas att de flesta av de veterinärer som svarat på enkäten anser att testet är en någorlunda fungerande diagnostisk metod. Detta sammantaget kan i sin tur vara anledningen till att endast hästar och ponnyer som varit negativa i DT ingår i grupp A som ej anses ha PPID och att endast hästar och ponnyer med positivt DT ingår i grupp C som anses ha PPID. Studien har framförallt vänt sig till de veterinärer som fått svar att hästen/ponnyn de testat genom DH har en onormal respons efter dexametasongiva men inte tydligt onormal. Enkäten skickades ut, som tidigare

nämnts, sju till 75 månader efter DT och trots att DT har begränsat diagnostisk värde, så är det förvånande litet i enkätsvaren som indikerar att veterinären i efterhand sett kliniska indikationer hos patienterna som gjort att de helt ifrågasatt resultaten från DT. En anledning till detta kan vara just det att hästarna redan innan DT utfördes misstänktes ha PPID och att testet använts för att konfirmera sjukdomen.

En fråga som tyvärr inte ställdes i enkätstudien är den om vilken diagnos de hästar som inte fick diagnosen PPID fick. Dessa diagnoser hade varit kandidater till sådana diagnoser som bör uteslutas vid misstanke om PPID. Den sjukdom som troligtvis ligger närmast till hands, då hästen har många symtom som tyder på PPID, är ekvint metaboliskt syndrom (EMS). I enkätstudien visar det sig att i grupp A och B är fång och fettinlagring de vanligaste anledningarna till att hästar testas. Dessa symtom hör även samman med just EMS.

I examensarbetet ingår även en pilotstudie där friska hästars normalvärde för urinkortisol/urinkreatinin undersöktes med syftet att undersöka om metoden skulle kunna användas som den gör på hund; att screena efter hästar som lider av hyperadrenokortisism. Urinproven togs dagtid men ingen standardiserad tidpunkt användes. Kvoten hos de hästar som undersöktes låg mellan 1 och 13. I en studie från 1994 (Van Der Kolk *et al*) provtogs sju friska hästars urin för urinkortisol/urinkreatinin-kvot. I den studien sågs värden från 4,7 till 16,0. Dessa hästar provtogs genom kateterisering mellan kl 9 och 11 på förmiddagen. 2002 provtog Chandler & Dixon 12 friska hästars urin, urinproven samlades på morgonen genom kateterisering eller genom frivillig urinering. Kvoterna låg i denna studie mellan 3,2 och 12,5. Ett problem med att jämföra resultaten från studierna är att de metoder som används för att mäta kortisol och kreatinin i urinen inte är desamma i de olika studierna, det är trots detta faktum intressant att se att resultaten stämmer väl överens. Det är också intressant att det i pilotstudien, där ingen standardiserad tidpunkt för provtagningen används, ses värden mycket lika dem där en sådan används. När testmetoden används på hundar används morgonurinprov och ägaren kan själv ta provet hemma. Morgonurinprovet på hund speglar de senaste timmarnas kortisolutsöndring, framför allt då hundars urinering kan styras med hjälp av rastning och de oftast hålls inomhus nattetid. Eftersom hästar har en annan möjlighet att urinera när helst det passar dem kan det misstänkas att ett liknande provtagningsförfarande på häst inte på samma sätt skulle spegla hela nattens kortisolutsöndring. Kanske tyder resultaten i pilotstudien på att tidpunkten för urinprovet på häst inte har så stor betydelse. I pilotstudien jämförs inte provresultaten med prov från PPID-hästar vilket görs i de tidigare två nämnda studierna. I de båda studierna har hästarna som ingår uttalade symtom av PPID. I studien från 1994 ses en signifikant skillnad i provresultat mellan friska hästar och hästar med PPID, men det finns också resultat som överlappar varandra mellan friska och sjuka grupper. Av den anledningen är metoden tveksam för användning som enda diagnostik på en häst vid utredning av PPID men skulle kunna vara intressant som en del i utredningen då misstanke om PPID uppkommer.

En brist i några av de endokrinologiska tester som beskrivs i litteratur är tillgången på analysmetoder utvärderade för häst. En annan brist är avsaknaden av referensvärden sedan det upptäckts normala årstidsvariationer i sekretion av både ACTH och α -MSH. Förhoppningsvis kommer den fortsatta forskningen att ge oss bra referenser och därmed underlag för en säkrare diagnostisk metod, det kan i förlängningen leda till en ökad tillgänglighet till utvärderade analysmetoder. En intressant och tänkbar kandidat för framtida provtagning är en metod där endast ett blodprov behöver tas för analys av kombinationen ACTH, α -MSH och β -endorfin. En metod som bidrar till att PPID kan upptäckas (eller uteslutas) i ett tidigt stadie, kanske redan vid ett första fånganfall, skulle kunna bespara mycket lidande för den individuella hästen.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Aleman M., Watson J. L., Williams D. C., LeCouteur R. A., Nieto J. E. & Shelton G. D. 2006. Myopathy in horses with pituitary pars intermedia dysfunction (Cushing's disease). *NEUROMUSCULAR DISORDERS*, vol 16. pp 737-744.
- Blood D. C. & Studdert V. P. 2002. *Saunders Comprehensive Veterinary Dictionary*. Second edition. p. 283. Bath, England.
- Cerondulo R. 2009. Hyperadrenocorticism in *Hair Loss Disorders in Domestic Animals*. First edition pp 132-139. Iowa, USA. Wiley-Blackwell.
- Chandler K. J. & Dixon R. M. 2002. Urinary cortisol:creatinin ratios in healthy horses and horses with hyperadrenocorticism and non-adrenal disease. *The Veterinary Record* 150. pp 773-776
- Donaldson M. T., Jorgensen A. J. R. & Beech J. 2004. Evaluation of suspected pituitary pars intermedia dysfunction in horses with laminitis. *JAVMA*, vol 224. pp 1123-1127
- Donaldson M. T., McDonnell S. M., Schanbacher B. J., Lamb S. V., McFarlane D. & Beech J. 2005. Variation in Plasma Adrenocorticotrophic Hormone Concentration and Dexamethasone Suppression Test Results with Season, Age and Sex in Healthy Ponies and Horses. *J Vet Intern Med* 19. pp 217-222.
- Dybdal N. O., Hargreaves K. M., Madigan J. E., Gribble D. H. Kennedy P. C. & Stabenfeldt G. H. 1994. Diagnostic testing for pituitary pars intermedia dysfunction in horses. *JAVMA*, vol 204. pp 627-632.
- Eiler H., Oliver J. W., Andrews F. M, Fecteau K. A., Green E. M. & Mc Cracken M. 1997. Results of a combined dexamethasone suppression/thyrotropin-releasing hormone stimulation test in healthy horses and horses suspected to have a pars intermedia adenoma . *JAVMA*, vol 211 pp 79-81.
- Frank N., Andrews F. M., Sommardahl C. S., Eiler H., Rohrbach B. W. & Donnell R. L. 2006. Evaluation of the Combined Dexamethasone Suppression /Thyrotropin-Releasing Hormone Stimulation Test for Detection of Pars Intermedia Pituitary Adenomas in Horses. *J Vet Intern Vet* 20. pp 987-993.
- Johnson P. J. 2002. The equine metabolic syndrome Peripheral Cushing's syndrome, In *THE VETERINARY CLINICS Equine Practice*. Pp 271-293. Elsevier science (USA).
- Johnson P. J., Messer N. T., Slight S. H., Wiedmeyer C., Buff P. & Ganjam V. K. 2004. Clinical Techniques in Equine Practice 3. pp 45-56
- Keen J. A., McLaren M., Chandler K. J. & McGorum B. C. 2004. Biochemical indices of vascular function, glucose metabolism and oxidative stress in horses with equine Cushing's disease. *Equine vet. J* 36. pp 226-229.
- Knottenbelt D. C. 2003. Differential Diagnosis of Polyuria/Polydipsia in *Current Therapy in Equine Medicine* 5. pp 828-837. St Louis, Missouri. Saunders
- McFarlane D., Donaldson M. T., McDonnell S. & Alastair E. C. 2004. Effects of season and sample handling on measurement of plasma α -melanocyte-stimulating hormone concentrations in horses and ponies. *AJVR*, vol 65. pp 1463-1468
- McFarlane D., Beech J. & Cribb A. 2006. Alpha-melanocyte stimulating hormone release in response to thyrotropin releasing hormone in helthy horses, horses with pituitary pars intermedia dysfunction and equine pars intermedia explants. *Domestic animal endocrinology* vol 30. pp 276-288.
- McFarlane D. & Holbrook T. C. 2008. Cytokine Dysregulation in Aged Horses with Pituitary Pars Intermedia Dysfunction. *J Vet Intern Med* 22. pp 436-442.

- Messer IV N. T. 2006. Endocrine dysfunction in the aged horse in *Equine Geriatric Medicine and Surgery*. pp 59-67. St Louis, Missouri. Saunders Elsevire.
- Miesner T. J., Beard L. A. & Schmall S. M. 2003. Results of overnight dexamethasone suppression test repeated over time in horses suspected of having equine Cushing's disease. *J Vet Intern Med* vol 17. p 420
- Miller M. A., Pardo I. D., Jackson L. P., Moore G. E. & Sojka J. E. 2008. Correlation of Pituitary Histomorphology with Adrenocorticotrophic Hormone Response to Domperidone Administration in the Diagnosis of Equine Pituitary Pars Intermedia Dysfunction. *Vet Pathol* 45. pp 26-38.
- Petersen A. D. & Schott II H. C. 2005. Cutaneous Markers of Disorders Affecting Adult Horses. *Clinical Techniques in Equine Practice* 4. pp 324-338
- Pilsworth R. C. & Knottenbelt D. C. 2006. Skin Diseases Refresher in *Equine Veterinary Education* 18. pp120-121.
- Rang H. P, Dale M. M, Ritter J. M. & Moore P. K. 2003. Analgesic drugs & The pituitary and adrenal cortex In *Pharmacology*. Fifth edition. pp 562-584 respektive 404-420. England (UK).
- Schott II H. C. 2002. Pituitary pars intermedia dysfunction: equine Cushing's disease, in *THE VETERINARY CLINICS Equine Practice*. pp 237-270. Elsevier science (USA).
- Schott II H. C. 2006. Pituitary Pars Intermedia Dysfunction: Challenges of Diagnosis and Treatment. *AAEP Proceedings* vol 52. pp 60-72.
- Sgorbini M., Panzani D., Maccheroni M. & Corazza M. 2004 Equine Cushing-like Syndrome: Diagnosis and Therapy in Two Cases. *Veterinary Research Communications* 128. pp 377-380.
- Sjaastad Ö. V., Hove K. & Sand O. 2003. The endocrine system, In *Physiology of domestic animals*. pp. 199-234. Scandinavian veterinary press, Oslo.
- Sojka J. 2008. Pituitary Pars Intermedia Dysfunction in *Current Therapy in Equine Medicine* 6. pp 732-735. St Louis, Missouri. Saunders Elsevire.
- Stockam S. L. & Scott M. A. 2002. Adrenocortical function in *Fundamentals of veterinary clinic pathology*. pp 555-574. Iowa State Press, Iowa USA.
- Toutain P. L., Oukessou M., Autefage A. & Alvinerie M. 1988. Diurnal and episodic variations of plasma hydrocortisone concentrations in horses. *Domest Anim Endocrinol* 5. pp 55-59
- Van der Kolk J. H., Kalsbeek H. C. & van Garderen E.. 1993. Equine pituitary neoplasia: a clinical report of 21 cases (1990-1992). *Vet rec* 133. pp 594-597.
- Van der Kolk J. H., Kalsbeek H. C., Wensing T. & Breukink H. J. 1994. Urinary concentration of corticoids in normal horses and in horses with hyperadrenocorticism. *Researsch in Veterinary Science*. Vol 56. pp 126-128.
- Van der Kolk J. H. 1997. Equine Cushing's disease. *Equine Vet Educ*. Vol 9. pp 209-214.
- Van der Kolk J. H. & Wensing T. 2000. Urinary concentration of corticoids in ponies with hyperlipoproteinemi or hyperadrenocortiscism. *Veterinary Quarterly*. Vol 22. pp 55-57.
- Van der Kolk J. H., Heinrichs, M., van Amerongen J. D., Stoker R. C. J., Jansen in de Wal L. & van den Ingh T. S. G. A. M. 2004. Evaluation of pituitary gland anatomy and histopathologic findings in clinically normal horses and horses with pituitary pars intermedia adenoma. *AJVR*, vol 65. pp 1701-1707
- Wilson M. G., Nicholson W. E., Holscher M. A., Sherrell B. J., Mount C. D. & Orth D. N. 1982. Proopiomelanocortin peptides in normal pituitary, pituitary tumor, and plasma of normal and Cushing's horses. *Endocrinology* vol 110. pp 941-954.

ÖVRIGA KÄLLOR

Europeiska unionens officiella hemsida. [online] (2006-12-22) L 367/44 SV Europeiska unionens officiella tidning 22.12.2006 http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/sv/oj/2006/l_367/l_36720061222sv00330045.pdf [2010-03-29]

Eriksson M. K. Leg apotekare, Djurapoteket Eskilstuna. Personligt meddelande 2010-10-21.

Jordbruksverket. Hemsida. [online] (2005-02-01) Kartläggning och analys av hästverksamheten i Sverige 2005. Tillgänglig:
<http://www.sjv.se/presskontakten/pressmeddelanden/pressmeddelanden/kartlaggningavhastverksamhetvisarpastoraskillnader.5.1c30993101a3f64a3780002532.html> [2010-01-26]

Current Research Information System (CRIS), United states Department of Agriculture [online] <http://www.reeis.usda.gov/web/crisprojectpages/215016.html> [2010-03-16]

ACKNOWLEDGMENT

Jag vill tacka alla de veterinärer som tagit sig tid att fylla i enkäten och därmed bidragit till ett intressant resultat. Jag vill också tacka de hästägare som med entusiasm väntat ut sina hästars kisspauser och bidragit med urinprover till pilotstudien.

Jag vill även passa på att tacka min handledare Inger Lilliehöök som lotsat mig genom examensarbetet, haft svar på mina frågor och engagerat utomstående expertis för kloka kommentarer på mitt arbete.

BILAGA 1

Enkäten som skickades ut till veterinärer, kliniker och djursjukhus angående hästar som testats genom dexametasonhämning.

Enkät angående Cushings syndrom

**Svaren i enkäten gäller hästen med
journalnummer_____**

Vilka symtom uppvisade hästen då Ni beslutade att utföra en dexametasonscreening?

Sågs andra testresultat som du anser tyda på att hästen har Cushing?

Anser Ni att hästen har/hade Cushing?

Om ja, vad baserade Ni diagnosen på?

Behandlas/behandlades hästen för Cushings syndrom?

Om Ja, hur behandlades/behandlas hästen och hur svarar/svarade den på behandlingen?

Är hästen fortfarande i livet?

Om Nej, utfördes obduktion på hästen?

Om obduktion utfördes, stöder obduktionsfynden Er diagnos?

Utfördes provtagningen i klinik eller hemmamiljö?