



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap
Institutionen för Kliniska Vetenskaper

Förändring i insulinkänslighet vid dietinducerad fetma och betesgång hos varmblodiga travhästar

Elin Hedin

*Uppsala
2014*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2014:11*

Förändring i insulinkänslighet vid dietinducerad fetma och betesgång hos varmlodiga travhästar

Changes in insulin sensitivity due to diet-induced obesity and grazing on pasture in Standardbred horses

Elin Hedin

Handledare: Johan Bröjer, institutionen för Kliniska Vetenskaper

Biträdande handledare: Sanna Truelsen Lindåse, institutionen för Kliniska Vetenskaper

Examinator: Katarina Nostell, institutionen för Kliniska Vetenskaper

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0736

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2014

Delnummer i serie: Examensarbete 2014:11

ISSN: 1652-8697

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Ekvint metabolt syndrom, EMS, EHC, Insulinresistens, fetma

Key words: Equine metabolic syndrome, EMS, EHC, Insulin resistance, obesity

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för Kliniska Vetenskaper

SAMMANFATTNING

Fetma är ett ökande problem hos dagens hästupopulation. Allt fler hästar diagnosticeras också med insulinresistens (IR) och ekvint metabolt syndrom (EMS). Dessa sjukdomar har ofta kopplats samman med intag av lättlösliga kolhydrater och fetma. Behandlingsregimen för de drabbade hästarna utgörs till stor del av dietprogram där mängden lättlösliga kolhydrater är kraftigt reducerad. Dock vet man inte om både utfodring med lättlösliga kolhydrater och fetma utgör riskfaktorer. Flera studier har gjorts där utfodring med lättlösliga kolhydrater har kopplats till sänkt insulinkänslighet. Det är dock inte studerat om fetma i sig innebär en riskfaktor för utvecklandet av insulinresistens och EMS.

Denna studie syftade till att undersöka hur fetma till följd av intag av en fettrik diet med låg andel lättlösliga kolhydrater - *water soluble carbohydrates* (WSC) påverkade insulinkänsligheten hos måttligt insulinresistenta hästar. Vidare studerades sedan hur de överviktiga hästarnas insulinkänslighet förändrades när de släpptes på bete och därmed exponerades för ökad mängd lättlösliga kolhydrater.

I studien ingick nio varmlodiga travhäststom som vid studiens start var kliniskt friska, i normalhull enligt *Body Condition Score* (BCS) och *Cresty Neck Score* (CNS) och måttligt insulinresistenta vid mätning av insulinkänslighet med Euglykemisk Hyperinsulinemisk Clamp (EHC). Studien genomfördes som en prospektiv experimentell studie mellan december 2012 och juni 2013 och bestod av fyra perioder, vilka utgjordes av: invänjning på ny foderstat, viktökningsperiod, invänjning på bete samt betesperiod. Tre EHC:er genomfördes för att mäta förändringar i insulinkänslighet; EHC 1 vid studiens start, EHC 2 efter viktökning och EHC 3 efter tre veckors bete.

Samtliga nio hästar fullföljde studien och de ökade i vikt, BCS och CNS under viktökningsperioden. Ingen av hästarna uppvisade hyperinsulinemi eller hyperglykemi vid fasteprover. Viktökningen hade ingen påverkan på hästarnas insulinkänslighet, uttryckt som metaboliserat glukos (M-värde) och metaboliserat glukos per insulinenhet (M/I-kvot). *Metabolic clearance rate* (MCR) av insulin påverkades inte heller av viktökning. Efter betesgång sågs ett högre M-värde i EHC-3 jämfört med EHC 1 samt en högre M/I-kvot i EHC 3 jämfört med både EHC 1 och EHC 2. *Metabolic clearance rate* av insulin var högre i EHC-3 jämfört med både EHC 1 och EHC 2. Sammantaget visar detta att betesgången förbättrade insulinkänsligheten och *insulin clearance* hos hästarna

Utifrån denna studie verkar det som att typ av foder har en större betydelse för utvecklande av insulinresistens än fetma i sig. Resultatet från studien kan också ses som ytterligare en indikation på att det inte är kortvariga förändringar som ger störst påverkan på hästens glukos- och insulinmetabolism. Istället verkar det som att låggradiga och långvariga förändringar är av större betydelse. Riskfaktorer för utvecklandet av skadlig insulinresistens och EMS kan också misstänkas skilja sig mycket mellan olika individer. En möjlig hypotes är att de tidiga åren i hästens liv till stor del bidrar till dess känslighet för dessa riskfaktorer i framtiden. Det krävs mer studier på olika typer av hästar samt hästar i olika åldrar för att få mer kunskap om både normalvariation och hur fetma och insulinresistens påverkar olika individer.

SUMMARY

Obesity is an increasing problem within the horse population today. An increasing number of horses are diagnosed with insulin resistance (IR) and Equine Metabolic Syndrome (EMS). These diseases are associated with obesity and diets rich in water-soluble carbohydrates (WSC) and obesity. The treatment regime for horses with EMS and IR include diets where the percentage of water-soluble carbohydrates (WSC) is minimized. Many studies have linked consumption of WSC and obesity to decreased insulin sensitivity. However, it has not yet been established whether obesity per se is a risk factor for the development of EMS and IR.

The aim of the study was to examine how obesity, induced by a diet rich in fat but with a low percentage of WSC, influence the insulin sensitivity in moderately insulin resistant horses. A second aim was to evaluate if the induced obesity had an impact on the insulin sensitivity when the horses were kept on pasture and thereby were exposed to increased amounts of WSC.

The study comprised 9 Standardbred mares. At the start of the study all horses were healthy on clinical examination, within normal ranges of Body Condition Score (BCS) and Cresty Neck Score (CNS) and moderately insulin resistant when insulin sensitivity was measured with the Euglycemic Hyperinsulinemic Clamp (EHC). The study was conducted between December 2012 and June 2013 and consisted of four periods; 2 weeks to become accustomed to the new feed, a 23 week long weight-gain period, 1 week to get used to grazing on pasture followed by 3 weeks of 24 hour grazing on pasture. Three EHC:s were conducted; the first at the beginning of the study, the second after the weight gain period and the third after three weeks on pasture.

All of the nine horses completed the study and all of them increased in weight, BCS and CNS during the weight gain period. None of the horses showed fasting hyperinsulinemia or hyperglycaemia. The weight gain did not affect the insulin sensitivity in any of the horses when expressed as M-value or M/I-ratio. Neither did the metabolic clearance rate (MCR) of insulin change after the weight-gain. After grazing on pasture a significant increased M-value and M/I-ratio were seen in EHC-3 compared to EHC 1, and for M/I ratio a significant increase was also seen between EHC 3 and EHC 2. MCR of insulin was significantly increased in EHC 3 compared to both EHC 1 and EHC 2. This shows that grazing on pasture improved insulin sensitivity and insulin clearance in the horses.

The results from this study indicate that the energy-source in the diet plays a more important role than obesity in the development of insulin resistance in horses. It also raises the suspicion that changes over a longer period of time rather than short-term alterations are more likely to affect the insulin- and glucose metabolism in the horse. Risk factors for the development of EMS and IR most likely differ between individuals. A possible hypothesis is that the management and feeding in the early years in the life of a horse are contributing risk factors for developing IR later in life. More studies are needed to gain more knowledge about the reference ranges for insulin sensitivity in horses and how obesity and insulin resistance affect different individuals.

INNEHÅLL

Inledning	2
Syfte	2
litteraturöversikt	3
Ekvint metabolt syndrom	3
Insulinresistens	3
Fång	4
Utfodring och fetma	5
Metoder för mätning av insulinkänslighet	6
Material och metoder	8
Hästar	8
Försöksdesign	8
EHC-metodik	8
Blodanalyser	9
Foder	9
Statistiska analyser och beräkningar	10
Resultat	12
Viktökning och foderintag	12
Fasteprövar av insulin och glukos	13
Mätningar av insulinkänslighet	13
Diskussion	16
Referenser	24

INLEDNING

Fetma är ett ökande problem inom hästpopulationen (Geor & Harris, 2009). Sjukdomskomplex, vilka påminner om de så kallade välfärdssjukdomar som finns hos människor, verkar nu också drabba våra hästar. Fetmans betydelse i utvecklande av dessa sjukdomar är inte helt känd, men mycket tyder på att fetma spelar en central roll (Frank *et al.*, 2010; Geor & Harris, 2009). Insulinresistens och fetma ses ofta tillsammans hos individer som drabbas av detta sjukdomskomplex (Frank *et al.*, 2010). Intag av lättlösliga kolhydrater har i flera studier kunnat kopplas till både insulinresistens och fetma (Treiber *et al.*, 2005a; Hoffman *et al.*, 2003). I dessa studier har man framför allt tittat på hur utfodring med kraftfoder har påverkat insulinkänsligheten. Ökad insulinresistens har då kopplats till typ av fodergiva snarare än den viktökning som utfodringen orsakat.

Ett ökande antal hästar och ponnyer används till fritidsridning i dag. Den begränsade mängd arbete dessa hästar utför tillsammans med det höga energiinnehållet i fodret misstänks vara viktiga orsaker till den ökade fetman (Jeffcott *et al.*, 1986). Dagens hästar bibehåller en positiv energibalans hela året till skillnad från hästens fodertillgång historiskt sett då det fanns en naturlig säsongsbunden förändring i näringsintaget med minskad energitillgång under vinterhalvåret (McGregor-Argo, 2009; Johnson, 2002; Jeffcott *et al.*, 1986).

Syfte

Denna studie syftar till att studera hur fetma till följd av intag av en fettrik diet med låg andel lättlösliga kolhydrater - *water soluble carbohydrates* (WSC) påverkar insulinkänsligheten hos måttligt insulinresistenta hästar. Vidare studeras sedan hur dessa hästar tolererar att släppas på bete och därmed exponeras för lättlösliga kolhydrater samt om deras insulinkänslighet förändras i samband med betessläpp.

Den hypotes som ska testas är om fetma i sig är en riskfaktor för insulinresistens. Det har tidigare visats att ett högt intag av lättlösliga kolhydrater kan orsaka insulinresistens och fetma. Men är fetma i sig en riskfaktor?

Studien är en del av ett doktorandprojekt inom EMS.

LITTERATURÖVERSIKT

Ekvint metabolt syndrom

År 2002 myntades begreppet *Ekvint metabolt syndrom* (EMS) av Johnson. Ekvint metabolt syndrom beskrivs som ett sjukdomskomplex, vilket är associerat med bland annat fång. I ett konsensusuttalande 2010 av *American College of Veterinary Medicine* (ACVIM) (Frank *et al.*, 2010) föreslogs en fenotyp för EMS-hästar. Denna EMS-fenotyp innefattar generell och/eller regional fetma (i nackregion, kring svans, bog, juver/preputium), insulinresistens och predisposition för fång (Frank *et al.*, 2010). Övriga komponenter som diskuteras ha ett samband med denna fenotyp är bland andra onormal brunstcykel, högt blodtryck, hypertriglyceridemi och ökad mängd inflammationsmarkörer i blodet (Frank *et al.*, 2010; Carter *et al.*, 2009b; Treiber *et al.*, 2006a)

Ekvint metabolt syndrom är ett sjukdomskomplex där mycket fortfarande är okänt vad gäller etiologi och patogenes. I konsensusuttalandet (Frank *et al.*, 2010) menar man att EMS-fenotypen kan finnas latent hos många hästar så länge intaget av lättlösliga kolhydrater begränsas. Om hästarna sedan utsätts för en ökad mängd lättlösliga kolhydrater kan fenotypen däremot bli synlig. Man menar alltså att EMS kan förebyggas genom rätt skötsel även om en häst kan vara predisponerad att utveckla sjukdomen från födseln (Frank *et al.*, 2010) samt att man genom felaktig skötsel med stärkelserik mat och liten mängd träning kan gynna utvecklingen av sjukdomen (Johnson, 2002).

Insulinresistens

Kroppens glukosbalans är noga kontrollerad och hålls inom ett snävt intervall. Detta upprätthålls och kontrolleras genom en balans mellan glukosabsorption i tarmen, produktion i levern och upptag och metabolism i perifera vävnader (Saltiel & Kahn, 2001). Insulin är det mest potenta anabola hormonet man känner till och det hormon i kroppen som svarar för den största delen av glukosregleringen i kroppen (Pessin & Saltiel, 2000).

Insulin utsöndras av pancreas β -celler, som svar på glukosstegring i blodet. Insulinet transporteras sedan via blodet ut till skelettmuskulatur och fettvävnad där det binder till insulinreceptorer på cellytan. Då insulin binder till sin receptor sker en translokation av glukosreceptorer (GLUT-4) till cellytan, vilket ger ett ökat upptag av glukos (Pessin & Saltiel, 2000). Insulin har dessutom en viktig roll i lipidmetabolismen genom att öka lipidsyntesen i lever- och fettceller samt minska fettsyrefrisättningen från triglycerider i fett- och muskelceller (Pessin & Saltiel, 2000). Insulin inhiberar också leverns glukoneogenes och glykogenolys. Vidare bidrar insulin till cellernas tillväxt och differentiering samt stimulering av glykogen- och proteinsyntes (Saltiel & Kahn, 2001).

Insulinresistens (IR) innebär att insulinkänslig vävnad har en försämrad förmåga att svara på normala nivåer av insulin. Det kan också beskrivas som ett minskat insulinmedierat upptag av glukos i muskel, lever och fettväv. (Muniyappa *et al.*, 2007; Kronfeld *et al.*, 2005). Insulinresistens anses vara en mycket viktig del i EMS-komplexet.

Nedsatt insulinkänslighet leder till ett försämrat upptag av glukos och höga glukosnivåer i blodet. Hyperglykemin som uppstår ger ytterligare frisättning av insulin från pancreas, vilket leder till höga nivåer av insulin i blodet, en så kallad hyperinsulinemi (Treiber *et al.*, 2006b; Hoffman *et al.*, 2003). Hos hästar uppstår då oftast en kompenserad IR, där de höga insulinnivåerna leder till att glukosnivåerna i blodet kan normaliseras (Johnson, 2002). Om den kompensatoriskt höga insulinproduktionen avtar eller är otillräcklig kan glukosnivåerna i blodet inte normaliseras. Det leder till en icke-kompenserad IR, vilken kännetecknas av både hyperinsulinemi och hyperglykemi i blodet (diabetes typ 2) (Johnson, 2002).

Ponnyer har i jämförelse med hästar visat sig vara mindre insulinkänsliga samt mer benägna att bli feta och utveckla fång (Alford *et al.*, 2001; Freestone *et al.*, 1992; Jeffcott *et al.*, 1986). Feta ponnyer har också visats vara mer insulinresistenta än ponnyer i normalhull (Jeffcott *et al.*, 1986).

Fång

Fång orsakar mycket lidande och förkortat liv för de drabbade hästarna samt känslomässig och ekonomisk förlust för deras ägare. Trots många års forskning är kunskaperna om etiologi och patogenes till fång fortfarande bristande. På senare år har det utvecklats ett nytt sätt att se på fång. Fång delas nu upp i tre olika typer utifrån trolig etiologi, patogenes och klinisk presentation. De tre typerna är; inflammatorisk-, endokrinopatisk- och belastningsfång (Katz & Bailey, 2012). Endokrinopatisk fång syftar till fång som uppkommit till följd av en felaktig hormonbalans i kroppen (Karikoski *et al.*, 2011). Endokrinopatisk fång ses framför allt i samband med *pituitary pars intermedia dysfunction/Cushings* (PPID) och EMS (McGowan, 2008). Samma typ av fång kan också ses hos hästar som medicineras med kortikosteroider, men dessa utgör endast en mindre andel av de drabbade individerna (Johnson *et al.*, 2004).

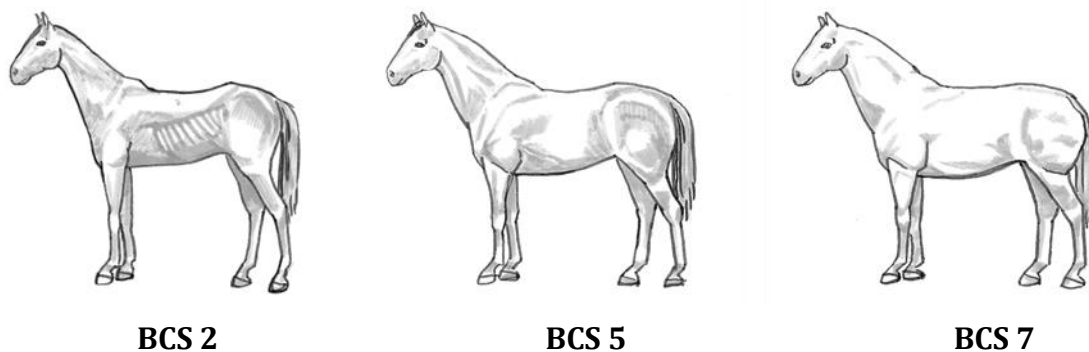
Fång har sedan 1980-talet kopplats samman med IR och hyperinsulinemi (Coffman & Colles, 1983). Sambandet har sedan samlats i komplexet EMS (Frank *et al.*, 2010; Carter *et al.*, 2009b; Walsh, 2009; Treiber *et al.*, 2006a; Johnson, 2002). Endokrinopatisk fång har på senare år visats vara den vanligaste formen av fång hos hästar som söker veterinärvård med fång som huvudproblem (Karikoski *et al.*, 2011; Donaldson *et al.*, 2004). I en studie av Karikoski *et al.* (2011) studerades endokrina rubbningar hos hästar som kom in till *Helsinki University Equine Teaching Hospital* med en primär fångproblematik. I deras studie sågs tecken på endokrin rubbning hos 89 % av de 36 hästar som undersöktes.

Hyperinsulinemi har visats kunna orsaka fång hos i övrigt fullt friska och icke överviktiga ponnyer och stora hästar (de Laat *et al.*, 2010; Asplin *et al.*, 2007). Studiens författare menar att insulintoxicitet är en viktig faktor i utvecklingen av fång. Insulintoxicitet kan förutom att vara en viktig del i patogenesen vid endokrinopatisk fång också vara en betydande faktor vid dietinducerade former av fång där högt intag av lättlösliga kolhydrater kan göra att insulinnivåerna stiger över kroppens toleransnivå för insulin. I en annan studie av Walsh *et al.* (2009) såg man också att insulinkoncentrationen i blodet kunde korreleras till hur allvarlig fång hästen har. Där undersöktes 25 fånghästar med avseende på grad av fång samt blodanalyser för kontroll av bland annat insulinnivåer. Studien visade att hästar med högre

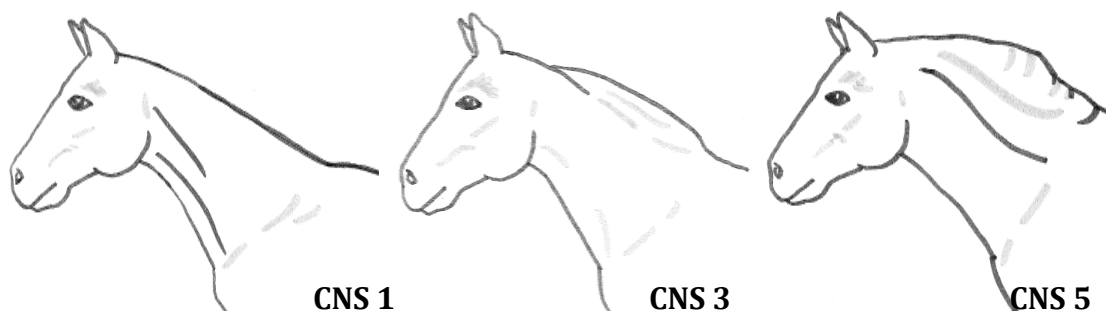
obel-grad också hade en högre basal insulinnivå (Walsh *et al.* 2009). Samma studie visade också att samtliga EMS-hästar i studien hade ett *Cresty Neck Score* (CNS) högre än 3. Detta har även i andra studier visats vara associerat med en ökad risk att utveckla fång (Carter *et al.*, 2009a; Alford *et al.*, 2001). Prevalensen av fång har visats öka under sen vår/tidig sommar då intag av lättlösliga kolhydrater är som störst (Treiber *et al.*, 2006b). Under denna period har man även sett att insulinkänsligheten hos hästarna minskar i samband med att kolhydratssammansättningen ändras i betet (Bailey *et al.*, 2008).

Utfodring och fetma

För att kunna behandla EMS och fetma hos häst måste vi kunna bedöma, mäta och övervaka fetma och insulinkänslighet. *Body Condition Score* (BCS) är framtaget av Henneke *et al.* (1983) och ger en skala på nio steg där steg sju och uppåt klassas som fetma (figur 1). Regional fetma, vilket hos hästar med EMS framför allt ses på nacken, klassas enligt *Cresty Neck Score* (CNS) (Carter *et al.*, 2009a). Denna skala har fem steg, där steg tre och uppåt har visats medföra en ökad risk att utveckla fång (figur 2).



Figur 1. *Body condition score* (BCS) enligt Henneke *et al.* (1983). *Body condition score* utgörs av en skala med nio steg, där steg sju och uppåt klassas som fetma. I figuren visas steg 2, 5 och 7. Illustration av Evelina Hedin, fritt från Henneke *et al.* (1983).



Figur 2. *Cresty neck score* enligt (CNS) Carter *et al.* (2009a). *Cresty neck score* utgörs av en skala med fem steg, där steg 3 och uppåt innebär en ökad risk för att utveckla fång. I figuren visas steg 1, 3 och 5. Illustration av Evelina Hedin, fritt från Carter *et al.* (2009a).

Fettväv är hormonellt aktiv och producerar adipokiner och adipocytokiner (Rasouli & Kern, 2008; Muniyappa *et al.*, 2007). Adipokiner som verkar vara viktiga inom EMS är leptin,

adiponektin och resistin. Dessa är pro-inflammatoriska och skapar en kronisk låggradig inflammation i kroppen (Rasouli & Kern, 2008; Vick *et al.*, 2007). Denna låggradiga inflammation tros vara en av orsakerna till utvecklandet av IR (Vick *et al.*, 2007). Hos människa har man sett att fettinlagring i vissa områden (bukfetma) är mer hormonellt aktiv och detta kan även vara fallet hos våra hästar där fettinlagring i nacken, så kallad *cresty neck*, misstänks vara ett sådant område (Johnson *et al.*, 2004).

Fetma har kopplats till minskad insulinkänslighet och förekomst av insulinresistens och är därmed en central del i EMS (Carter *et al.*, 2009b; Frank *et al.*, 2006; Hoffman *et al.*, 2003). Fetma kan uppstå till följd av en mängd olika faktorer. En orsak som ofta studeras hos häst är intag av lättlösliga kolhydrater. Intag av icke-strukturella/lättlösliga kolhydrater (WSC) har i flera studier visats minska insulinkänsligheten (Carter *et al.*, 2009b; Treiber *et al.*, 2005a; Hoffman *et al.*, 2003). Foder med en hög andel lättlösliga kolhydrater har ett högt glykemiskt index, vilket innebär att det ger en kraftig glukostegring i blodet och därmed också en förhöjd insulinsekretion. Detta kan leda till sänkt insulinkänslighet i perifera vävnader. Carter *et al.* (2009b) studerade en grupp arabiska fullblod och arabkorsningar, vilka utfodrades för viktökning (hö samt koncentrat innehållande lättlösliga kolhydrater). Viktökningen resulterade i hyperinsulinemi och insulinresistens. I en annan studie, vilken tittade på insulin- och glukosvar hos avelsston till följd av utfodring med antingen hög andel socker och stärkelse eller hög andel fett och fiber, såg man en signifikant mindre ökning av nivåerna av både glukos och insulin i blodet efter utfodring med fett- och fiberdieten (Williams *et al.*, 2001). Att utfodra hästar med hö innehållande en låg-måttlig mängd (4-10 %) lättlösliga kolhydrater har visats ge ett mindre glykemiskt och insulinemiskt svar jämfört med ett hö innehållande hög andel lättlösliga kolhydrater (17 %). En mindre ökning av glukos- och insulinnivåerna medför en minskad risk för utvecklandet av EMS (Borgia *et al.*, 2011).

Metoder för mätning av insulinkänslighet

Det finns flera metoder för att mäta insulinkänslighet hos häst. I stora drag kan metoderna delas upp i enkla tester av fasteglukos och fasteinsulin, toleranstester samt kvantitativa metoder, vilka innefattar *clamp*- och *minimal-model* tekniker (Firshman & Valberg, 2007).

Nivåer av insulin och glukos vid fasteprov kan variera kraftigt på kort tid till följd av bland annat stress, dygnsvariation och utfodring. Hyperinsulinemi vid fasteprov kan också orsakas av nedsatt insulinkänslighet i perifera vävnader med en kompensatoriskt ökad insulinsekretion från pancreas (Treiber *et al.*, 2006a). Enbart fasteprov av insulin och glukos anses dock inte vara en säker metod för att mäta insulinkänslighet hos häst (Treiber *et al.*, 2005b).

Glukostolerans är ett uttryck som används för att beskriva hur snabbt glukosnivåerna återgår till normala värden efter en per oral (p.o.) eller intravenös (i.v.) glukosgiva (även kallat *glucose clearance*). Toleranstesterna går ut på att hästarna ges en bestämd mängd glukos i.v. eller p.o. och därefter tas blodprover på bestämda klockslag. Insulin och glukos analyseras och insulinkänsligheten bedöms utifrån hur snabbt nivåerna i blodet normaliseras.

Nackdelar med dessa metoder är att man inte kan kontrollera fluktuationer i den endogena insulinsekretionen, vilket påverkar glukosbalansen (Firshman & Valberg, 2007). För att undvika denna påverkan har man utvecklat så kallade *clamp*-tekniker där man har full kontroll över glukos- och insulinbalansen. Euglykemisk hyperinsulinemisk clamp (EHC) är den metod som anses vara *gold standard* för mätning av insulinkänslighet på häst (Firshman & Valberg, 2007).

Principen för EHC-metoden är att man genom en kontinuerlig infusion av insulin skapar ett *steady state* av hyperinsulinemi i blodet, vilket slår ut den egna insulinproduktionen och hämmar leverns glukoneogenes. Genom en samtidig infusion av glukos och mätning av glukosnivåerna i blodet upprätthålls normoglykemi. Infusionshastigheten av glukos ger ett värde på insulinkänsligheten i muskel- och fettväv (Treiber *et al.*, 2006a).

MATERIAL OCH METODER

Hästar

Nio varmblodiga travhästar tillhörande *Institutionen för Kliniska Vetenskaper*, SLU, ingick i studien. Samtliga hästar var ston med en medelålder på 17 år \pm 3 år (intervall 12-21 år). Hästarna bedömdes vara i normalhull enligt BCS ($5,5 \pm 0,5$) och CNS ($2,4 \pm 0,4$) samt friska vid en noggrann klinisk undersökning. Samtliga hästar hölls i sin hemmiljö; uppställning i boxar med pappersströ nattetid samt utevistelse i rasthagar dagtid. Ingen av hästarna tränades.

För att ingå i studien skulle hästarna vara måttligt insulinresistenta vid mätning av insulinkänslighet med EHC, gränsen sattes vid M-värde $<3,5$ mg/kg/min. Samtliga nio hästar uppfyllde detta inklusionskriterium.

Försöksdesign

Studien genomfördes som en prospektiv experimentell försöksstudie under perioden december 2012 till juni 2013. Studien var uppdelad i fyra perioder; invänjning på nytt foder, viktuppgångsperiod, invänjning på bete och betesperiod (figur 3). Mätning av hästarnas insulinkänslighet genom EHC gjordes vid starten och slutet av period 2 samt vid slutet av period 4.

Studien är godkänd av *Uppsala djurförsöksetiska nämnd*.

Studien bestod av fyra perioder:

- *Period 1* (2 veckor, v. 48-50): Invänjning på ny grovfoderstat.
- *Period 2* (23 veckor, v. 50-21): Samtliga hästar är i normalhull vid periodens start. En EHC genomförs. Hästarna fodras sedan upp med en foderstat innehållande hög andel fett och låg andel lösliga kolhydrater. Hästarnas vikt mäts två gånger i veckan och deras BCS och CNS bedöms var tredje vecka. Perioden avslutas med en EHC.
- *Period 3* (1 vecka, v 22): Invänjning på bete.
- *Period 4* (3 veckor, v. 23-26): Hästarna släpps på bete. En EHC genomförs efter tre veckors bete.

Period 1 (2 veckor)	Period 2 (23 veckor)	Period 3 (1 vecka)	Period 4 (3 veckor)
Invänjning på grovfoder	Viktuppgångsperiod EHC 1 och EHC 2	Invänjning på bete	Betesperiod EHC 3

Figur 3. Översikt över de fyra perioderna.

EHC-metodik

Hästarna fastades 12 timmar innan EHC:n inleddes. Efter steriltvätt och lokalbedövning av området med lokalbedövningskräm (EMLA¹) lades permanentkatetrar² i jugularvenerna på

¹ EMLA®, AstraZeneca, vit kräm, aktiva substanser lidokain (25 mg/g), prilokain (25 mg/g)

² Intranule, Vygon, Ecouen, Frankrike

båda sidor av halsen. Förlängningsslangar³ sattes på permanentkatetrarna och suturerades fast i huden. Den ena katetern användes till infusionerna och den andra till blodprovstagning.

Hästarna vägdes på morgonen samma dag som EHC:n genomfördes för att korrekt räkna ut infusionshastigheterna. Innan infusionerna påbörjades togs blodprover för fastenivåer av glukos och insulin.

Infusionerna med glukos⁴ och insulin⁵ (3 mU/kg/min) startades samtidigt och clampen pågick under 180 minuter (Firshman *et al.*, 2008). Den första timmen innebar en inställningsfas, där kroppen svarade på det tillförda glukoset och insulinet. Under de två följande timmarna eftersträvades *steady state* då glukosnivån hölls stabilt i normoglykemi (5 mmol/L).

För att ställa in glukosinfusionen under EHC:n så att normoglykemi ($5 \pm 0,2$ mmol/L) hela tiden upprätthölls togs blodprov var femte minut med mätning av glukos genom snabbtest med en "point of care" glukometer (Accu-chek Aviva⁶). Var tionde minut togs blodprover för senare analyser av glukos och insulin. Dessutom togs blodprover i början och slutet av EHC:n för analys av glukos och insulin. Samtliga blodprover togs via en förlängning ur permanentkatetern avsedd för provtagning. Fem ml blod drogs ur katetern innan provet togs och efter provtagning spolades kanyl och förlängning med steril natriumklorid.

Blodanalyser

Blodprover för laboratorieanalyser överfördes till sterila vacutainerrör⁷. Rören ställdes på is direkt efter provtagning och centrifugerades sedan i 4°C, 906 g under 10 minuter innan serum och plasma fördes över i eppendorfrör. Dessa förvarades i -80°C fram till att analyser genomfördes.

Analys av plasmainsulin skedde med en ELISA⁸. Plasmaglukos analyserades med en membranbunden enzym-elektrodmotodik, YSI 2300⁹. Samtliga analyser gjordes på metabolismlaboratoriet på Institutionen för *Kliniska Vetenskaper*, SLU.

Foder

Foderstater för hästarna beräknades utifrån deras energibehov baserat på vikt. Energi-, protein och kolhydratinnehåll i de fodermedel som gavs presenteras i tabell 1. Dessutom kompletterades foderstaten med mineraltillskott. Målet med utfodringsperioden, som pågick under 23 veckor, var att uppnå en energikonsumtion på ca 250 % av det beräknade energibehovet i megajoule (MJ). En successiv ökning av energigivan skedde under viktökningsperioden för att uppnå detta, varför nya foderstater beräknades kontinuerligt.

³ Discifix, B. Braun Medical AG, Schweiz

⁴ Glucose 500mg/ml, Fresenius Kabi AB, Uppsala, Sverige

⁵ Humulin Regular, Eli Lilly Sweden AB, Solna, Sverige

⁶ Roche Diagnostics Scandinavia AB, Bromma, Sverige

⁷ BD Vacutainer, BD Plymouth, Storbritannien

⁸ Mercodia Insulin ELISA, Mercodia AB, Sweden

⁹ YSI 2300 STAT Plustm

Tabell 1. Näringsinnehåll (energi, protein och kolhydrater) i de fodermedel som användes under viktökningsperioden

Fodermedel	Näringsinnehåll per kg foder					
	TS	MJ	smb rp (g)	WSC (g)	Stärkelse (g)	NSC (WSC+stärkelse)
Hösilage	52	4,7	29,3	38	0	38
Olja	100	33	0	0	0	0
Lucern	90	8,4	84	46	74	120
Halm	90	5,7	0	0	0	0
Linfröpellets	90	9,8	255			

Foderstater beräknades individuellt för varje häst baserat på vikt. TS = torrsubstans, MJ = megajoule, smb rp = smältbart råprotein, WSC = watersoluble carbohydrates, NSC = non structural carbohydrates, g = gram.

Foder och betesprover togs sex gånger under stallperioden samt var fjärde dag under betesperioden.

Statistiska analyser och beräkningar

De statistiska analyserna gjordes i programmet JMP Pro 9.0.2. Resultaten från studien analyserades med en *one way* ANOVA för upprepade mätningar och medelvärdena jämfördes med Tukey-Kramer HSD. Resultaten redovisas som medelvärden \pm standardavvikelse (SD). Gränsvärde för statistisk signifikans sattes till $p < 0,05$.

Tre beräkningar gjordes för att bestämma insulinkänsligheten, metaboliserat glukos (M-värde), metaboliserat glukos per insulinenhet (M/I-kvot) och *metabolic clearance rate* (MCR) av insulin (DeFronzo *et al.*, 1979). För att få tillförlitliga resultat måste *steady state* uppnås och därför användes värden från de sista 60 min av respektive EHC för dessa beräkningar.

Då plasma-glukoskoncentrationen under EHC:n hålls stabil, så kallat *steady state*, motsvarar glukosinfusionen den mängd glukos som translokteras ur den extracellulära volymen givet att det inte sker någon endogen produktion av glukos. Glukosinfusionshastigheten motsvarar därmed metaboliserat glukos (M-värdet) (DeFronzo *et al.*, 1979). M-värdet beräknas genom ekvationen:

$$M \text{ (mg/kg/min)} = \text{infusionshastigheten av glukos} - \text{space correction (SC)}$$

Glukosnivån hålls inte helt stabil på en konstant nivå under EHC:n. För att korrigera detta dras *space correction* (SC) från M-värdet. *Space correction* korrigerar för den mängd glukos som har tillförts till eller försvunnit från den extracellulära volymen utan att ingå i glukosmetabolismen (Pratt *et al.*, 2005; DeFronzo *et al.*, 1979). *Space correction* beräknas genom:

$$SC = (G_2 - G_1) \times (0,19 \times kv) / (T \times kv)$$

G_1 = glukoskoncentration vid start av 10 min-perioden, G_2 = glukoskoncentration vid slut av 10 min-perioden, kv = kroppsvikt, T = tidsintervall

Insulinkoncentrationen (I) vid *steady state* under EHC:n används för att beräkna metaboliserad glukos per insulinenhet (M/I-kvoten) (Pratt *et al.*, 2005). Det ger därmed ett värde på vävnadens känslighet för insulin (DeFronzo *et al.*, 1979).

Metabolic clearance rate (MCR) av insulin ger ett värde på hur snabbt insulin bryts ned och utsöndras. MCR beräknas utifrån infusionshastigheten av insulin och förändringen i insulinkoncentrationen i serum (DeFronzo *et al.*, 1979):

MCR = infusionshastigheten av insulin/ökning av plasma insulinkoncentration över basalnivå

RESULTAT

Viktökning och foderintag

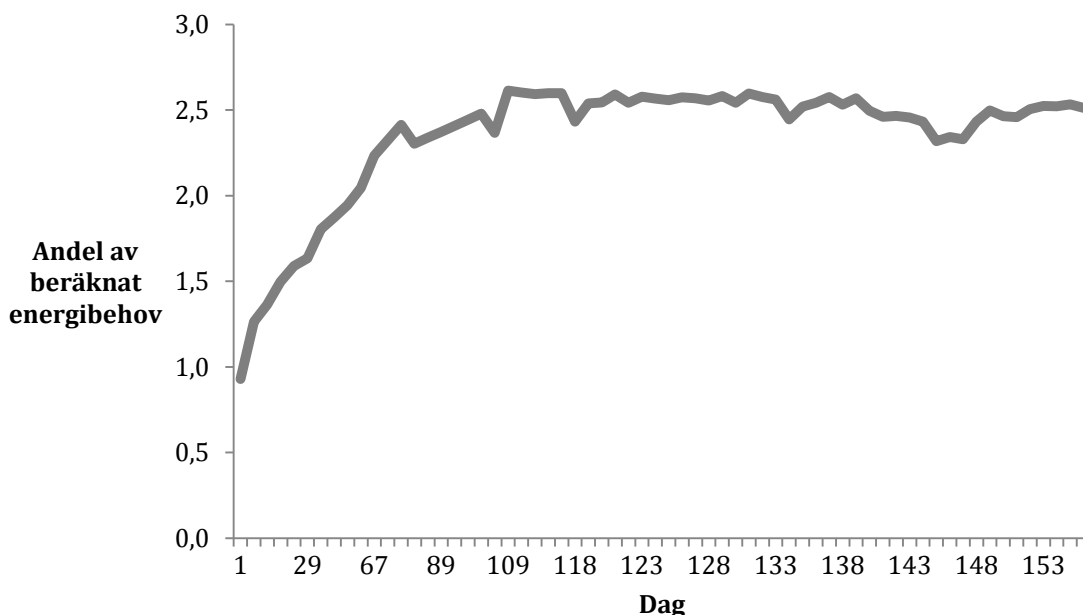
Hästarnas vikt ökade i medeltal med 45 kg (intervall 32-62 kg), från period 1 till period 2 medan ingen viktökning skedde under betesperioden (period 2 till period 4)(tabell 2). Hästarna ökade också i BCS, ökningen var i medeltal $1,7 \pm 0,6$ (tabell 2). Ingen signifikant ökning sågs i CNS, dock ses en tendens mot ökade värden under studietiden (tabell 2).

Tabell 2. Medelvärde (\pm SD) av hästarnas vikt (kg), BCS (1-9) och CNS (0-5)

	Varmblodiga travhästar (n = 9)		
	Vid försökets start (EHC 1)	Efter viktökningsperioden (EHC 2)	Efter betesperioden (EHC 3)
Vikt (kg)	497 \pm 44 ^a	542 \pm 47 ^b	545 \pm 44 ^b
BCS (1-9)	5.5 \pm 0.6 ^a	7.1 \pm 0.4 ^b	7.2 \pm 0.4 ^b
CNS (0-5)	2.4 \pm 0.4 ^a	2.8 \pm 0.3 ^a	2.9 \pm 0.3 ^a

Body Condition Score (BCS) enligt Henneke et al. (1983) där skalan går från 1: extremt utmärglad till 9: extremt fet. Cresty Neck Score (CNS) enligt Carter et al. (2009a) där skalan går från 0: inget palperbart fett på nacken till 5: kraftig fettansättning som gör att nacken faller åt sidan av tyngden. Olika bokstäver ^a samt ^b efter respektive värde motsvarar signifikanta skillnader över tid ($p < 0,05$).

Energigivan ökades successivt under de första 10 veckorna av viktökningsperioden, därefter planade kurvan ut vid ett energiintag (MJ) motsvarande 250 ± 10 % av hästarnas beräknade behov, vilket bibehölls under hela den resterande viktökningsperioden. Andelen konsumerad energi över tid presenteras i figur 4.



Figur 4. Medelvärden av andelen konsumerad energi utifrån hästarnas beräknade energibehov.

Fastepröver av insulin och glukos

Hästarna uppvisade normoglykemi (3,6 – 6,5 mol/L) och normala insulinnivåer (< 20 mU/L) vid fastepröver innan respektive EHC. Medelvärden presenteras i tabell 3.

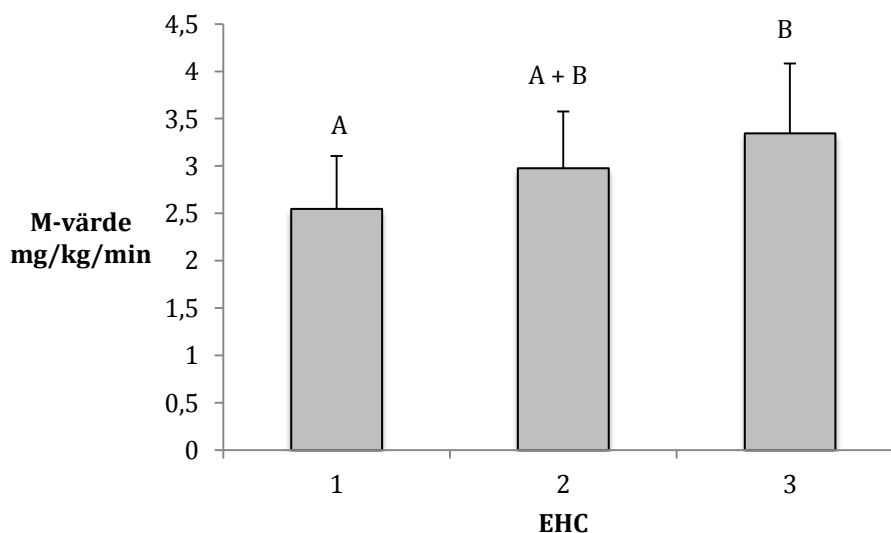
Tabell 3. Medelvärde (\pm SD) av hästarnas fastenivåer av insulin och glukos innan respektive EHC

	Friska varmblodiga travhästar (n = 9)		
	Vid försökets start (EHC 1)	Efter vikt- ökningsperioden (EHC 2)	Efter betesperioden (EHC 3)
Glukos (mmol/L)	5,2 \pm 0,5	5,3 \pm 0,2	5,3 \pm 0,2
Insulin (mU/L)	7,4 \pm 2,1	11,5 \pm 4,9	10,7 \pm 4,9

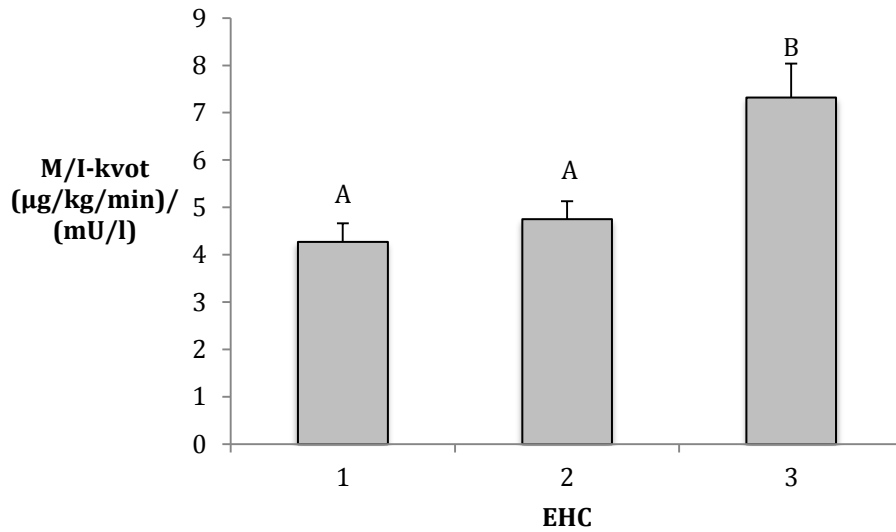
Pröver tagna efter 12 h fasta innan respektive EHC påbörjades.

Mätningar av insulinkänslighet

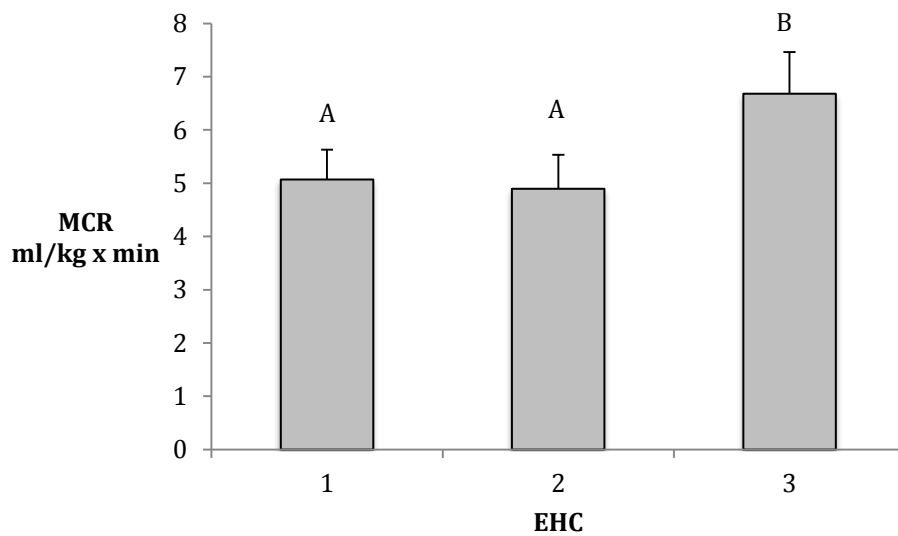
Viktökningen hade ingen påverkan på hästarnas insulinkänslighet, uttryckt som M-värde, och M/I-kvot. Efter betesgång sågs en förbättrad insulinkänslighet genom ett högre M-värde i EHC 3 jämfört med EHC 1 (figur 5) och högre M/I-kvot i EHC 3 jämfört med både EHC 1 och 2 (figur 6). I figur 8 presenteras kurvor för medelvärden av M-värde och insulinkoncentration var för sig i samtliga EHC:er. I EHC 3 är M-värdet högst samtidigt som insulinkoncentrationen ligger lägst. En ökning sågs i MCR då EHC 3 jämfördes med EHC 1 och EHC 2 (figur 7). Detta innebär en ökad nedbrytning och utsöndring av insulin.



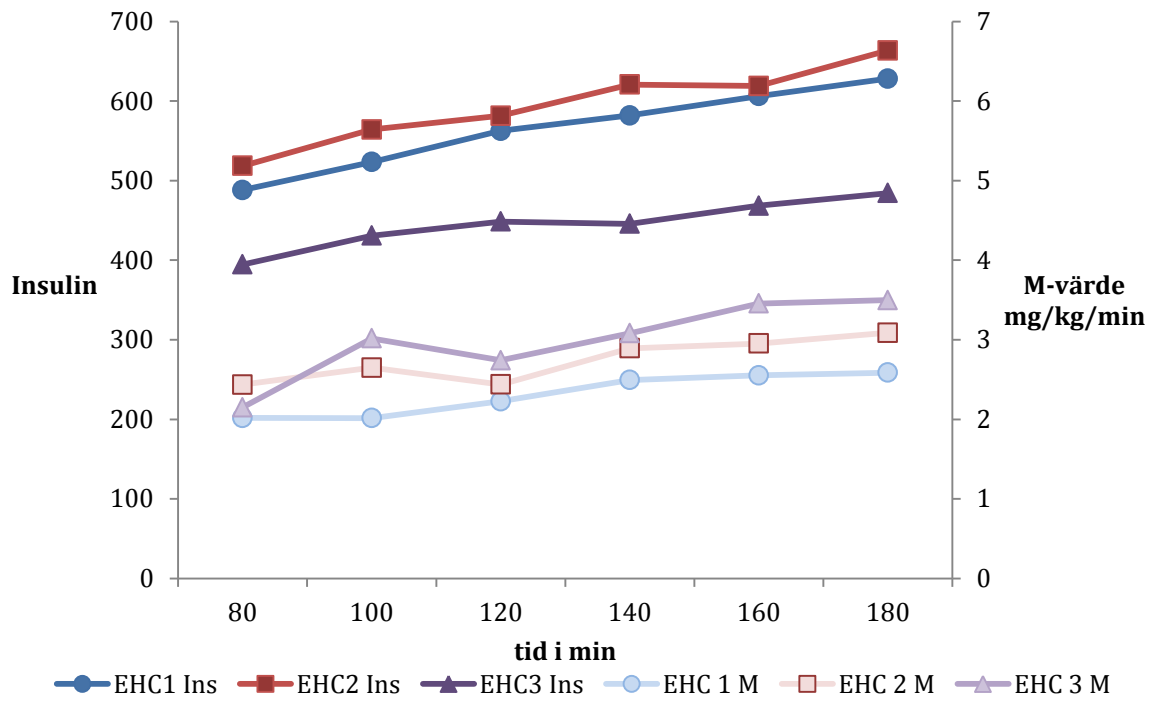
Figur 5. Metaboliserat glukos (M-värde) i EHC 1 (2,6 \pm 0,6 mg/kg/min), 2 (3,0 \pm 0,6 mg/kg/min), och 3 (3,4 \pm 0,7 mg/kg/min) (medelvärde vid steady state under respektive EHC samt SD) för samtliga hästar (n=9). Olika bokstäver (A och B) visar signifikant skillnad mellan medelvärden vid de olika EHC:erna ($p < 0,05$).



Figur 6. Metaboliserat glukos per insulinenhet (M/I-kvot). Figuren visar medelvärden samt SD vid EHC 1 ($4,3 \pm 1,2$), 2 ($4,8 \pm 1,1$), och 3 ($7,3 \pm 2,1$) för samtliga hästar ($n=9$). Olika bokstäver (A och B) visar signifikant skillnad mellan medelvärden vid de olika EHC:erna ($p < 0,05$).



Figur 7. Metabolic clearance rate (MCR) av insulin vid steady state. Figuren visar medelvärden samt SD vid EHC 1 ($5,1 \pm 0,6$), 2 ($4,9 \pm 0,6$) och 3 ($6,7 \pm 0,8$) för samtliga hästar ($n=9$). Olika bokstäver (A och B) visar signifikant skillnad mellan medelvärden vid de olika EHC:erna ($p < 0,05$).



Figur 8. Medelvärden (insulinkoncentration i plasma samt M-värden) för tidsperioden 80 min – 180 min av EHC 1, 2 och 3 för samtliga hästar (n=9). EHC 3 uppvisar högst M-värde samt lägst insulinkoncentration.

DISKUSSION

Resultaten i denna studie visar att kortvarig fetma till följd av en foderstat rik på fett med låg andel lättlösliga kolhydrater inte medförde en sänkt insulinkänslighet hos en grupp intermediärt insulinresistent vuxna varmblodiga travhäststom. Då samma hästar hade vistats på bete i tre veckor resulterade detta i förbättrad insulinkänslighet samt förbättrat *insulin clearance* hos samtliga hästar som deltog i studien.

Hästarna bedömdes vid studiens start som intermediärt insulinresistent utifrån de studier som tidigare har undersökt insulinkänslighet med EHC hos häst. Tiley *et al.* (2008) studerade förändringar i varmblodiga travhästars insulinkänslighet efter dexametasongiva. Kontrollgruppen hade då M-värden på $7,7 \pm 1,0$ mg/kg/min medan de dexametasonbehandlade hästarna hade M-värden på $2,2 \pm 0,4$ mg/kg/min. Firshman *et al.* (2008) såg M-värden på $6,5 \pm 5,8$ mg/kg/min hos de normala kontrollhästarna. Stewart-Hunt *et al.* (2006) hade två kontrollhästar i deras studie, dessa hade M-värden på $6,6 \pm 1,4$ mg/kg/min. Utifrån detta bedömdes vår urvalsgräns $< 3,5$ mg/kg/min som intermediär insulinresistens. Hästarna i studien var friska vid klinisk undersökning och uppvisade inga kliniska tecken på insulinresistens eller metabol rubbning. Det krävs fler studier för att få mer kunskap om hur insulinkänslighet varierar i en normalpopulation av hästar samt hos hästar med olika grader av insulinresistens.

Till författarens vetskap finns ingen tidigare studie som tittar på förändringar i insulinkänslighet vid inducerad fetma till följd av en fettrik diet hos intermediärt insulinresistent hästar. Man har dock i tidigare studier studerat om insulinkänsligheten påverkas av viktuppgång. Carter *et al.* (2009b) studerade en grupp på 13 vuxna arabiska fullblod och arabkorsningar som utfodrades med en foderstat innehållande 200 % av deras beräknade energibehov under 16 veckor för att inducera en viktuppgång. Foderstaten utgjordes av hö samt kraftfoder innehållande lättlösliga kolhydrater. Hästarna i studien ökade i vikt till ett stadie av fetma (medel viktuppgång: 88 ± 11 kg och samtliga hästar hade BCS ≥ 7 efter viktuppgång) vilket medförde en sänkt insulinkänslighet, ökat insulinsvar vid intravenös glukosgiva (AIRg) samt ökade basala insulinkoncentrationer. Efter viktuppgångsperioden hölls hästarna överviktiga men utfodrades med en diet innehållande en låg andel lättlösliga kolhydrater. Under denna period kvarstod den nedsatta insulinkänsligheten, men de basala insulinkoncentrationerna minskade till nivåer inom referensintervall liknande de som sågs under perioden då hästarna utfodrades med lättlösliga kolhydrater innan viktuppgång. Till följd av detta drog studiens författare slutsatserna att dietinducerad fetma orsakade nedsatt insulinkänslighet samt att hyperinsulinemin i fasteproverna var ett resultat av en kombination av insulinresistens och mängden lättlösliga kolhydrater i foderstaten.

I en studie av Quinn *et al.* (2008) studerades vilken effekt viktuppgång och diet hade på insulinkänsligheten hos 15 vuxna fullblodsvalacker. Hästarna delades upp i två grupper och gavs en foderstat innehållande hög andel fett och fiber (HF) eller hög andel socker och stärkelse (HS) för att inducera en viktuppgång. Efter invänjning på det nya fodret sågs en försämrad insulinkänslighet i gruppen som utfodrades med HS jämfört med HF. Denna

förändring kvarstod, men förändrades inte, efter viktuppgången (medel viktuppgång: 91 kg och medel BCS efter viktuppgång: 7). Slutsatsen från denna studie var att foderstatens energikälla verkade spela större roll än viktuppgång på insulinkänslighet hos vuxna fullblodshästar. I studien av ett Quinn *et al.* motionerades hästarna i skritt (2 x 35 min/dag) under viktuppgångsperioden. Den fett- och fiberrika dietens goda effekt på insulinkänsligheten verkade delvis vara beroende av att hästarna motionerades. Två veckor efter att motionen avslutades sågs en 55 % minskning av insulinkänsligheten i HF-gruppen medan den var oförändrad i HS-gruppen. I vår studie motionerades inte hästarna, dock så vistades de i rastagar dagtid, vilket medförde viss motion.

Fetma har, oberoende av viktuppgång, kopplats till sänkt insulinkänslighet. Hoffman *et al.* (2003) visade en sänkt insulinkänslighet hos hästar med BCS över 7 jämfört med hästar med BCS under 6. I ovanstående studie av Quinn *et al.* (2008) menar man att hästarnas viktuppgång kanske inte var tillräcklig för att ge effekt på insulinmetabolismen. Den ökning hästarna genomgick i vikt och BCS kanske inte gav en så pass omfattande fettväv att den påverkade insulinkänsligheten. I studien var viktökningen i medel 91 kg och medel BCS efter viktökning $6,9 \pm 0,1$ (intervall 6,3 - 7,5), vilket kan jämföras med vår studie där medel viktuppgång var 45 kg (intervall 32-62 kg) och medel BCS efter viktuppgång var $7,2 \pm 0,4$ (intervall 6,5-8). Detta ger en indikation om att viktuppgången i vår studie kanske inte heller var tillräcklig för att skapa en tillräckligt stor fettvävsdepå för att förändra insulinkänsligheten hos de studerade hästarna. Det kan också tänkas att kortvarig fetma till följd av en fettrik diet inte medför en sänkt insulinkänslighet även om hästarna skulle öka ännu mer i vikt än vad de gjorde i vår studie. Hos feta insulinresistenta hästar kanske det primära problemet är IR och inte fetma. Att intag av lättlösliga kolhydrater verkar innebära en större risk för utvecklande av IR jämfört med intag av fett kan då framförallt utgöras av det stora insulinsvaret som sockret medför, inte den viktuppgång som följer konsumtionen.

En studie på möss visade att en 16 veckors viktuppgång till följd av en diet rik på fett gjorde mössen hyperinsulinemiska. Fetman följdes av en uppreglering av makrofag- och inflammationsgener, vilket i sin tur följdes av insulinresistens. I studien såg man att den inflammation som uppstod var fettvävsspecifik och att den till en början var lokal i fettväven, men att inflammationen sedan spreds systemiskt när insulinresistensen ökade och fettväven blev mer utbredd (Xu *et al.*, 2003). Fettväv som inflammatoriskt organ kan även hos hästar spela en viktig roll i utvecklingen av insulinresistens. Detta kräver dock ytterligare studier och kommer inte diskuteras vidare i denna studie.

Man har i tidigare studier jämfört förändringar i insulinkänslighet till följd av utfodring med olika typer av foder (Respondek *et al.*, 2011; Pratt *et al.*, 2006; Treiber *et al.*, 2005a; Hoffman *et al.*, 2003; Williams *et al.*, 2001). Gemensamt för dessa studier är att utfodring med lättlösliga kolhydrater medförde en sänkt insulinkänslighet. I en studie av Williams *et al.* (2001), studerades två grupper av lakterande ston som gavs ett foder rikt på socker och stärkelse eller ett foder rikt på fett och fiber. Där såg man lägre insulin- och glukosvar till följd av utfodring med fett och fiber. Treiber *et al.* (2005a) har studerat effekten av intag av lättlösliga kolhydrater i jämförelse med en diet rik på fett och fiber hos nyavvanda fullblodsföl. Studien visade att fölen som gavs en foderstat med ett högt socker- och

stärkelseinnehåll utvecklade en sänkt insulinmedierad glukotransport. Den sänkta insulinkänsligheten komparerades av en ökad pancreassekretion av insulin.

I en *crossover*-studie av Respondek *et al.* (2011) tittade man på förändringar i insulinkänsligheten vid tillskott av ett fiberrikt supplement (*short-chain fructo-oligosaccharides*) till feta hästar. I studien ingick åtta valacker (arabiska fullblod), vilka alla bedömdes som feta enligt BCS (BCS $8 \pm 1/9$). Hästarna utfodrades med ett fibertillskott i sex veckor följt av en tre veckors viloperiod innan de genomgick en sex veckors kontrollperiod. Resultatet av studien visade att insulinkänsligheten ökade samt att det akuta insulinsvaret vid en intravenös glukosgiva (AIRg) minskade då de fick fibertillskott i foderstaten. Denna effekt sågs utan att hästarna motionerades mer eller att andra förändringar gjordes i foderstaten jämfört med under kontrollperioden. Hästarna bibehöll också samma övervikt och BCS genom hela studien.

Att hästarna i vår studie inte uppvisade en ökad insulinresistens till följd av fetma kan tolkas som en följd av att en fetrik diet inte resulterar i samma glukosstegring och påverkan på glukos- och insulinbalansen som en foderstat rik på lättlösliga kolhydrater. Detta skulle i så fall överensstämma med tidigare studier gjorda inom ämnet (Treiber *et al.*, 2005a; Williams *et al.*, 2001). Dock har man i dessa studier inte tittat på förändring i insulinresistens vid viktuppgång utan enbart hos normalviktiga hästar eller hästar med bibehållen fetma.

Hästarna i vår studie ökade inte så mycket i vikt som man hade förväntat sig i och med den stora fodergivningen. Under slutet av viktökningsperioden motsvarade energiinnehållet (MJ) i foderstaten 250 ± 10 % av hästarnas beräknade behov. Det var inte möjligt att öka energigivningen ytterligare med det foder som användes då hästarna inte åt mer även om de fick mer mat. Om hästarna istället hade utfodrats med lättlösliga kolhydrater är det möjligt att de både skulle ha ökat mer i vikt samt att det hade varit möjligt att öka energigivningen ytterligare. Det verkar också finnas en stor individvariation i hur lätt hästar kan öka i vikt respektive tappa i vikt. Hästarna i studien hade tillgång till foder största delen av dygnet, något som anses fysiologiskt för hästen. Detta kan ha bidragit till att hästarna kunde genomföra viktuppgången utan att deras insulinkänslighet försämrades ytterligare. Som diskuterats ovan innebär intag av lättlösliga kolhydrater höga glukosnivåer vilket medför kraftiga insulinsvar. Detta kan vara en viktig orsak till att dessa typer av foder bidrar till en försämrad insulinkänslighet. Det är rimligt att anta att glukosnivåerna inte blir lika höga vid ett kontinuerligt intag av foder med ett lägre glykemiskt index.

Hästar som drabbas av insulinresistens och EMS är ofta feta och beskrivs som lättfödda av deras ägare (Frank *et al.*, 2010). En del raser anses vara mer drabbade av EMS än andra raser, dessa innefattar bland annat ponnyraser och Morganhästar (Johnson, 2002). Ponnyraser är ofta mer benägna att bli feta jämfört med större hästraser, de utvecklar också i högre grad IR och därmed ökad pancreassekretion av insulin och hyperinsulinemi (Johnson, 2002; Jeffcott *et al.*, 1986). En möjlig orsak som diskuteras ligga till grund för detta är naturlig selektion under den evolutionära utvecklingen av dessa raser. Förmågan att utveckla IR kan ha givit en ökad möjlighet till överlevnad under perioder av bristande födötillgång (Jeffcott *et al.*, 1986). Insulinresistenta individer lagrar upp en större del av energin som triglycerider i perifera

vävnader, detta kan sedan användas som energi när tillgången på foder minskar (Jeffcott *et al.*, 1986). Nuförtiden utsätts inte ponnyer för perioder av negativ energibalans. De utfodras istället med energirikt foder i mängder som överskrider deras behov året runt. Detta gör att förmågan att utveckla insulinresistens ger negativa effekter, vilka innefattar metabola sjukdomar som fetma, EMS och endokrinopatisk fång (Frank *et al.*, 2010). I den aktuella studien är de studerade hästarna av rasen varmlodig travhäst. Det är inte en ras som beskrivits vara predisponerad för EMS och IR. Om vi istället hade studerat en ponnyras skulle kanske resultaten sett annorlunda ut. Enligt författarens uppfattning är det indicerat att undersöka en större population av hästar, och då även av ponnyras, med EHC-metodik för att få mer kunskap om normalvariation och förändringar över tid.

Insulinresistens eller sänkt insulinkänslighet hos hästar har i flera studier visats medföra ett mycket kraftigt insulinsvar vid intravenös glukosgiva (så kallat *acute insulin response*) (Treiber *et al.*, 2005a; Hoffman *et al.*, 2003). Hästar med IR har ett ökat behov av insulin på grund av cellernas nedsatta känslighet och verkar därför bibehålla höga cirkulerande nivåer av insulin i blodet. Detta kan uppnås både genom en ökad sekretion av insulin från pancreas och/eller en nedsatt degradering och utsöndring av insulin (*insulin clearance*) från framför allt levern (Carter *et al.*, 2009b; Johnson *et al.*, 2004; Valera Mora *et al.*, 2003). En konstant hyperinsulinemi hos insulinresistenta hästar, till följd av ett kontinuerligt intag av lättlösliga kolhydrater på betet, tros vara en viktig orsak till utvecklandet av betesrelaterad fång. Studier på friska hästar och ponnyer har visat att kontinuerlig hyperinsulinemi i en försöksmodell orsakade fång hos samtliga studerade individer (de Laat *et al.*, 2010; Asplin *et al.*, 2007). I en studie av Carter *et al.* (2009c) studerade man riskfaktorer för betesrelaterad fång hos en flock med ponnyer. Utifrån studien verkade mätning av insulin- och leptinkoncentrationerna i blod samt mätningar av BCS och CNS vara bra metoder för att förutse fånganfall. Ökning av något av ovan nämnda värden verkade medföra ökad risk att drabbas av fång. Risker med betesgång verkar alltså överväga de positiva effekterna av betet hos grupper som löper ökad risk att utveckla IR (så som individer med generell eller regional fetma) eller individer som redan är insulinresistenta. Trots att hästarna i vår studie vid början av studien uppvisade måttlig insulinresistens sågs inte förhöjda fastenivåer av insulin eller glukos. Fastenivåerna av insulin och glukos låg istället inom normalintervallet genom hela studien och förändrades inte till följd av ökning av varken vikt, BCS och CNS eller den förbättrade insulinmetabolismen vid slutet av studien. Detta är ytterligare ett bevis på att det är mycket svårt att diagnosticera insulinresistens enbart genom provtagning av fastenivåer av insulin och glukos. Det finns till författarens vetskap ännu ingen metod för att identifiera vilka individer som eventuellt tolererar betesgång trots fetma, vilket innebär en fenotyp som placerar dem i en riskgrupp för utvecklandet av EMS så som hästarna i vår studie.

Att insulinkänsligheten och *insulin clearance* ökade efter tre veckors betesgång i vår studie var oväntade resultat. Betesgång är förenat med intag av lättlösliga kolhydrater, vilket förmodas innebära en ökad risk att utveckla fetma, EMS, IR och betesrelaterad fång (Treiber *et al.*, 2006b). För hästarna i vår studie medförde tre veckors betesgång istället att deras insulinmetabolism förbättrades. En möjlig orsak till denna förbättring kan vara att betesgång i sig innebär ett kontinuerligt och långsamt födointag, vilket antas vara fysiologiskt för hästar. Detta kan då bidra till en väl fungerande tarmflora som därmed stimulerar en fungerande

insulin- och glukosbalans. Andra tänkbara orsaker kan vara nedsatt foderintag, ökad mängd motion eller säsongsvariation.

Hästarna i vår studie vistades på betet i tre veckor innan den sista EHC:n genomfördes. Under denna period sågs ingen fortsatt viktökning, utan hästarna bibehöll samma vikt som vid slutet av viktökningsperioden. Detta innebär att hästarna måste ha minskat det totala energiintaget trots fri tillgång till gräs på betet. Det är också möjligt att det fysiologiska födointaget på betet innebar att den totala mängden konsumerade lättlösliga kolhydrater minskade, samtidigt som konsumtionen fördelades på ett större antal timmar under betesperioden jämfört med under viktuppgångsperioden. Detta skulle då leda till att insulinkoncentrationen i blodet hölls på lägre nivåer vilket skulle kunna bidra till den förbättrade insulinkänsligheten. Vid betesgång samlar hästarna på sig vätska i magtarmkanalen på grund av det höga vatteninnehållet i färskt gräs. I studien vägdes dock hästarna efter att ha stått på box utan foder i 12 timmar, vilket borde ha minskat effekten av vätskeansamling på vikten. En viktnedgång på grund av nedsatt foderintag hade annars kunnat vara en orsak till hästarnas förbättrade insulinkänslighet. Viktnedgång har i tidigare studier medfört en förbättrad insulinkänslighet. I en studie av Argo *et al.* (2012) utfodrades 12 feta hästar (BCS ≥ 7) enligt ett bantningsprogram med samma mängd foder (1,25 % av kroppsvikt i TS) och där minskade fetma och vikt hos samtliga hästar medan insulinkänsligheten förbättrades hos 75 % av hästarna (9/12). Studien stärkte också hypotesen om att det finns en mycket stor individvariation hos hästar med avseende på hur de svarar på bantningsprogram. Den känsligaste hästen hade en 3 ggr större viktnedgång per vecka jämfört med den minst känsliga. Denna variation kunde inte kopplas till någon av de kontrollerade faktorerna (vilka bland annat innefattade diet, kön, ras, BCS, vikt samt IR vid start av studien).

Ökad mängd motion på betet jämfört med under stallperioden kan också ha påverkat resultatet. Dock fick hästarna i studien vistas i rasthagar dagtid även under stallperioden, vilket gjorde att övergången till betet i avseende på förändring i motionsmängd minskar. Att hästarna vistades ute dygnet runt under betesperioden bör ändå ha givit en viss ökning av mängden rörelse vilket i sin tur då bör ha givit en viss effekt på glukos- och insulinmetabolismen. Freestone *et al.* (1992) studerade effekt av motion på feta ponnyer med hyperinsulinemi. I den studien såg man att motion förbättrade insulinkänsligheten hos samtliga ponnyer i den gruppen redan efter två veckors motion. Ponnyerna gick även ned i vikt under perioden vilket ytterligare kan ha bidragit till den ökade insulinkänsligheten. Stewart-Hunt *et al.* (2006) visade i deras studie att sju dagars träning resulterade i en signifikant ökad insulinkänslighet uttryckt som ökade M-värden och M/I-kvoter jämfört med kontrollhästarna. En kvarstående ökad känslighet sågs även efter fem dagar utan träning.

Att säsongsvariation skulle ligga till grund för den ökade insulinkänsligheten som sågs efter betet hos våra hästar ses som en mindre trolig orsak. En studie av Funk *et al.* (2012) utvärderade förekomsten av säsongförändringar på resultatet av ett glukos-insulintoleranstest (*Combined glucose-insulin tolerance test* CGIT) hos friska hästar. Tester genomfördes i februari, maj, juni, augusti, september och november och man fann inga signifikanta skillnader då majoriteten av resultaten jämfördes, vilket gjorde att slutsatsen blev att säsong inte verkade ha någon betydelse på resultatet av CGIT-testning av friska hästar. Denna studie

använde dock en metodik vilken inte kan kvantifiera insulinkänslighet, detta gör att det anses indicerat med ytterligare studier på eventuell effekt av säsong på insulinkänslighet hos hästar.

Ett värde som tydligt illustrerar den förbättrade insulinmetabolismen som ses hos hästarna i vår studie är metaboliserat glukos per insulinhet (M/I-kvot). Det är ett värde som speglar två effekter, både ökad insulinkänslighet, vilket resulterar i en bättre signalering och därmed ökad translokation av GLUT 4, samt ett sänkt *steady state* av insulin, vilket ges av att *insulin clearance* ökar. Insulin bryts framför allt ned och utsöndras ur kroppen via lever och njurar (Valera Mora *et al.*, 2003). *Insulin clearance* definieras som volymen plasma som kan renas från insulin inom en angiven tidsenhet (Valera Mora *et al.*, 2003). Hos människa har man sett ett minskat *insulin clearance* vid insulinresistens och fetma (Valera Mora *et al.*, 2003). Detta har tolkats som en kompensatorisk mekanism för att behålla mer insulin i blodbanan, som då kan verka på insulinkänsliga celler, för att undvika utveckling av hyperglykemi. Förbättrat *insulin clearance* innebär således att levern ökar nedbrytningen av insulin.

Tidigare har man framför allt diskuterat att orsaken till den hyperinsulinemi som ses hos insulinresistenta hästar framförallt är orsakad av en ökad insulinsekretion från pancreas. Utifrån resultatet i vår studie kan man också anta att den kompensatoriska mekanismen med minskat *insulin clearance* är en orsak till den hyperinsulinemi som ses vid kompenserad insulinresistens hos häst. Carter *et al.* (2009b) tar upp möjligheten att den ökning som sågs i basala insulinkoncentrationer och akut insulinsvar på intravenös glukosgiva hos hästarna i deras studie delvis kan ha orsakats av ett sänkt *insulin clearance*. Eftersom *insulin clearance* inte mättes i deras studie kunde inte detta fastställas, det är även fallet i många andra studier vilka tittar på insulinkänslighet hos häst. Då hästarna i vår studie både uppvisade en förbättrad insulinkänslighet samt förbättrat *insulin clearance* efter betesperioden uppvisar de en tydlig omställning mot en mer fysiologisk insulin- och glukosmetabolism.

Hästarna i vår studie var vid studiens start intermediärt/måttligt insulinresistenta. Nivån av insulinresistens kvarstod under viktökningen och inte heller betessläpp påverkade hästarna negativt. Att släppa insulinresistenta hästar på bete har i flera studier visats ge negativa konsekvenser, framför allt i form av försämrad insulinkänslighet (Treiber *et al.*, 2006b). Utifrån vår studie kan man misstänka att det finns ett tröskelvärde där insulinresistensen blir riskfylld. Den insulinresistens som ses hos de hästar vi har studerat verkar då inte överstiga nivåerna för våra hästars tröskelvärden. Detta hypotetiska tröskelvärde bör i så fall påverkas av flera faktorer och därmed skilja sig mellan olika hästar. Faktorer som kan ha betydelse är till exempel ras, ålder, genetik, användning, utfodring och kroppsbyggnad.

I en stor studie av Treiber *et al.* (2006b) tittade man på predisponerade metabola faktorer och nutritionella riskfaktorer för betesrelaterad fång. 160 ponnyer med känd fånghistorik (54 av ponnyerna hade haft fång tidigare) studerades vid betesgång under våren. Resultatet från studien indikerar att ponnyer som är predisponerade för att utveckla betesrelaterad fång skiljer sig metaboliskt jämfört med normala ponnyer. Dessa skillnader innefattar insulinresistens, kompensatorisk hyperinsulinemi och förändrad fett- och glukosmetabolism. Studien visade också att ponnyer, som har ett kontinuerligt intag av foder med ett gradvis ökande stärkelseinnehåll, löper en ökad risk att utveckla insulinresistens. Studiens författare anser

sammanfattningsvis att undvikande av faktorer som bidrar till fetma och insulinresistens, som till exempel en foderstat med högt stärkelseinnehåll, kan minska risken att drabbas av metabola rubbningar och utvecklandet fång.

Hur hästen hålls, utfodras och motioneras under dess första tio år i livet tros påverka risken för densamma att utveckla EMS. Ekvint metabolt syndrom ses framför allt hos medelålders till äldre hästar men kan även drabba yngre hästar (Frank *et al.*, 2010). Treiber *et al.* (2005a) visade i en studie att då nyavvanda fullblod gavs ett tillskott med socker och stärkelse fick de nedsatt insulinkänslighet och ökad kompensation genom ökad insulinsekretion jämfört med gruppen som gavs ett tillskott med fett och fiber. Samtliga av fölen var kliniskt friska, men gruppen med nedsatt insulinkänslighet bedömdes löpa ökad risk att drabbas av sjukdomar innefattande insulinresistens i framtiden. Ökad kompensation och högre cirkulerande insulinnivåer bedöms kunna vara prekursorer till metabola sjukdomar (Treiber *et al.*, 2005a; Jeffcott *et al.*, 1986). Om hästen lägger grund för en störning i glukos- och insulinmetabolismen i unga år kan deras tröskelvärde för hanterbar insulinresistens sänkas då de blir äldre. Vidare kan en häst som inte lagt grund för detta under de tio första åren vara mindre känslig och tolerera högre nivåer av insulinresistens. Johnson (2002) menade att den allmänna uppfattningen kring uppfödning av unga hästar måste förändras. Växande hästar ges ofta stora mängder kraftfoder och energimängder som kraftigt överstiger deras behov. Dessa hästar löper då stor risk att ansamla metaboliskt aktiv fettväv vilket kan göra att de i framtiden utvecklar metabola sjukdomar, fetma och fång. Förebyggande åtgärder så som återhållsam kraftfodergiva till unga hästar kan göra att hästarna i framtiden inte drabbas av den här typen av sjukdomar i lika hög grad.

Sammantaget kan resultatet från denna studie ses som ytterligare en indikation på att det inte är kortvariga förändringar som ger störst påverkan på hästens metabola status. Istället verkar det som att låggradiga och långvariga förändringar är av större betydelse. Dock har man kunnat visa att en kortvarig period av inducerad fetma till följd av en diet innehållande lättlösliga kolhydrater har orsakat sänkt insulinkänslighet hos hästar (Carter *et al.*, 2009b). Det stärker misstanken om att orsaken till viktuppgången spelar en viktig roll i hur stor risk fetma innebär för utvecklande av insulinresistens. Den tidiga vården, hanteringen och utfodringen av den unga hästen kan också misstänkas lägga grund för hur känslig en häst är för olika riskfaktorer för att drabbas av EMS som förlöper med fetma och insulinresistens. Om hästarna i studien hade varit av annan ras eller haft en annan bakgrund är det möjligt att samma studie både hade givit en kraftigare viktuppgång samt negativa följder av fetman och betesgången. Dock så är det viktigt att poängtera att detta bara är hypotetiska antaganden och inte något som har bevisats i och med vår studie. Vi hade inte fullständig bakgrundsinformation kring träning, fetma, utfodring och liknande om hästarna i vår studie, vilket gör att vi inte vidare kan bevisa de hypoteser som den aktuella studien har genererat. Det kan dock sägas att samtliga hästar var varmblodiga travhästar, vilka ofta tränas relativt hårt redan tidigt i livet. De är dessutom en ras som till stor utsträckning får ses som en ras som tagits fram och anpassats till dagens form av hästhållning samt en ras där avelsutveckling skett mycket fort. Detta gör att arv från hästar i det vilda troligtvis inte ger en betydande inverkan på dagens varmblodiga travhästar.

Att fastställa riskfaktorer och utveckla tillförlitliga mätmetoder för att fånga upp hästar i riskzonen för att utveckla EMS skulle ta oss ännu längre på vägen mot att reda ut dessa metabola mysterier. Det skulle då vara möjligt att i större utsträckning fånga upp hästar i riskzonen, sprida kunskap om hur man kan minska risken för att sjukdomen utvecklas och visa djurägare att deras hästar löper en ökad risk för EMS och fång. Både förebyggande och behandling av EMS innefattar framförallt förändringar i hantering, utfodring och träning i hästens vardagliga liv. Det är därför mycket viktigt att djurägarna är motiverade, har tålamod och inser att rätt utfodring och motion kan vara den viktigaste ”medicinen” för dessa hästar.

De nio intermediärt insulinresistenta hästarna som ingick i denna studie fick inte en försämrad insulinkänslighet i och med en viktuppgång till följd av en fettrik diet. Efter betesgång sågs en förbättrad insulinkänslighet, vilket visas som en ökning av samtliga kontrollerade värden (M-värde, MCR och M/I-kvot), hos samma hästar. Resultaten från denna studie tillsammans med resultat från tidigare studier inom ämnet ger en indikation om att typ av foder har en större betydelse för utvecklande av insulinresistens än fetma i sig. Vidare styrker studiens resultat tidigare fynd om betydande rasrelaterade skillnader i risken att utveckla skadlig insulinresistens. Det krävs mer studier på olika typer av hästar samt hästar i olika åldrar för att få mer kunskap om både normalvariation för insulinkänslighet och hur fetma och insulinresistens påverkar olika individer.

REFERENSER

- Alford, P., Geller, S., Richardson, B., Slater, M., Honnas, C., Foreman, J., Robinson, J., Messer, M., Roberts, M., Goble, D., Hood, D. & Chaffin, M. (2001). A multicenter, matched case-control study of risk factors for equine laminitis. *Prev Vet Med* 49(3-4), 209-22.
- Argo, C.M., Curtis, G.C., Grove-White, D., Dugdale, A.H., Barfoot, C.F. & Harris, P.A. (2012). Weight loss resistance: a further consideration for the nutritional management of obese Equidae. *Vet J* 194(2), 179-88.
- Asplin, K.E., Sillence, M.N., Pollitt, C.C. & McGowan, C.M. (2007). Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies. *Vet J* 174(3), 530-5.
- Bailey, S.R., Habershon-Butcher, J.L., Ransom, K.J., Elliott, J. & Menzies-Gow, N.J. (2008). Hypertension and insulin resistance in a mixed-breed population of ponies predisposed to laminitis. *Am J Vet Res* 69(1), 122-9.
- Borgia, L., Valberg, S., McCue, M., Watts, K. & Pagan, J. (2011). Glycaemic and insulinaemic responses to feeding hay with different non-structural carbohydrate content in control and polysaccharide storage myopathy-affected horses. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 95(6), 798-807.
- Carter, R.A., Geor, R.J., Burton Staniar, W., Cubitt, T.A. & Harris, P.A. (2009a). Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. *Vet J* 179(2), 204-10.
- Carter, R.A., McCutcheon, L.J., George, L.A., Smith, T.L., Frank, N. & Geor, R.J. (2009b). Effects of diet-induced weight gain on insulin sensitivity and plasma hormone and lipid concentrations in horses. *Am J Vet Res* 70(10), 1250-8.
- Carter, R.A., Treiber, K.H., Geor, R.J., Douglass, L. & Harris, P.A. (2009c). Prediction of incipient pasture-associated laminitis from hyperinsulinaemia, hyperleptinaemia and generalised and localised obesity in a cohort of ponies. *Equine Vet J* 41(2), 171-8.
- Coffman, J.R. & Colles, C.M. (1983). Insulin tolerance in laminitic ponies. *Can J Comp Med* 47(3), 347-51.
- 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 Vet J* 42(2), 129-35.
- DeFronzo, R.A., Tobin, J.D. & Andres, R. (1979). Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 237(3), E214-23.
- Donaldson, M.T., Jorgensen, A.J. & Beech, J. (2004). Evaluation of suspected pituitary pars intermedia dysfunction in horses with laminitis. *J Am Vet Med Assoc* 224(7), 1123-7.
- Frishman, A.M. & Valberg, S.J. (2007). Factors affecting clinical assessment of insulin sensitivity in horses. *Equine Vet J* 39(6), 567-75.

- Firshman, A.M., Valberg, S.J., Baird, J.D., Hunt, L. & DiMauro, S. (2008). Insulin sensitivity in Belgian horses with polysaccharide storage myopathy. *Am J Vet Res* 69(6), 818-23.
- Frank, N., Elliott, S.B., Brandt, L.E. & Keisler, D.H. (2006). Physical characteristics, blood hormone concentrations, and plasma lipid concentrations in obese horses with insulin resistance. *J Am Vet Med Assoc* 228(9), 1383-90.
- Frank, N., Geor, R.J., Bailey, S.R., Durham, A.E., Johnson, P.J. & American College of Veterinary Internal, M. (2010). Equine metabolic syndrome. *J Vet Intern Med* 24(3), 467-75.
- Freestone, J.F., Beadle, R., Shoemaker, K., Bessin, R.T., Wolfsheimer, K.J. & Church, C. (1992). Improved insulin sensitivity in hyperinsulinaemic ponies through physical conditioning and controlled feed intake. *Equine Vet J* 24(3), 187-90.
- Funk, R.A., Wooldridge, A.A., Stewart, A.J., Behrend, E.N., Kemppainen, R.J., Zhong, Q. & Johnson, A.K. (2012). Seasonal changes in the combined glucose-insulin tolerance test in normal aged horses. *J Vet Intern Med* 26(4), 1035-41.
- Geor, R.J. & Harris, P. (2009). Dietary management of obesity and insulin resistance: countering risk for laminitis. *Vet Clin North Am Equine Pract* 25(1), 51-65, vi.
- 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 Vet J* 15(4), 371-2.
- 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. *J Anim Sci* 81(9), 2333-42.
- Jeffcott, L.B., Field, J.R., McLean, J.G. & O'Dea, K. (1986). Glucose tolerance and insulin sensitivity in ponies and Standardbred horses. *Equine Vet J* 18(2), 97-101.
- Johnson, P.J. (2002). The equine metabolic syndrome peripheral Cushing's syndrome. *Vet Clin North Am Equine Pract* 18(2), 271-93.
- Johnson, P.J., Messer, N.T. & Ganjam, V.K. (2004). Cushing's syndromes, insulin resistance and endocrinopathic laminitis. *Equine Vet J* 36(3), 194-8.
- Karikoski, N.P., Horn, I., McGowan, T.W. & McGowan, C.M. (2011). The prevalence of endocrinopathic laminitis among horses presented for laminitis at a first-opinion/referral equine hospital. *Domest Anim Endocrinol* 41(3), 111-7.
- Katz, L.M. & Bailey, S.R. (2012). A review of recent advances and current hypotheses on the pathogenesis of acute laminitis. *Equine Vet J* 44(6), 752-61.
- 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. *J Am Vet Med Assoc* 226(5), 712-9.

- McGowan, C. (2008). The Role of Insulin in Endocrinopathic Laminitis. *Journal of Equine Veterinary Science* 28(10), 603-607.
- McGregor-Argo, C. (2009). Appraising the portly pony: body condition and adiposity. *Vet J* 179(2), 158-60.
- Muniyappa, R., Montagnani, M., Koh, K.K. & Quon, M.J. (2007). Cardiovascular actions of insulin. *Endocr Rev* 28(5), 463-91.
- Pessin, J.E. & Saltiel, A.R. (2000). Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *J Clin Invest* 106(2), 165-9.
- Pratt, S.E., Geor, R.J. & McCutcheon, L.J. (2005). Repeatability of 2 methods for assessment of insulin sensitivity and glucose dynamics in horses. *J Vet Intern Med* 19(6), 883-8.
- Pratt, S.E., Geor, R.J. & McCutcheon, L.J. (2006). Effects of dietary energy source and physical conditioning on insulin sensitivity and glucose tolerance in standardbred horses. *Equine Vet J Suppl* (36), 579-84.
- Rasouli, N. & Kern, P.A. (2008). Adipocytokines and the metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 93(11 Suppl 1), S64-73.
- Respondek, F., Myers, K., Smith, T.L., Wagner, A. & Geor, R.J. (2011). Dietary supplementation with short-chain fructo-oligosaccharides improves insulin sensitivity in obese horses. *J Anim Sci* 89(1), 77-83.
- Saltiel, A.R. & Kahn, C.R. (2001). Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 414(6865), 799-806.
- Stewart-Hunt, L., Geor, R.J. & McCutcheon, L.J. (2006). Effects of short-term training on insulin sensitivity and skeletal muscle glucose metabolism in standardbred horses. *Equine Vet J Suppl* (36), 226-32.
- Tiley, H.A., Geor, R.J. & McCutcheon, L.J. (2008). Effects of dexamethasone administration on insulin resistance and components of insulin signaling and glucose metabolism in equine skeletal muscle. *Am J Vet Res* 69(1), 51-8.
- Treiber, K.H., Boston, R.C., Kronfeld, D.S., Staniar, W.B. & Harris, P.A. (2005a). Insulin resistance and compensation in Thoroughbred weanlings adapted to high-glycemic meals. *J Anim Sci* 83(10), 2357-64.
- Treiber, K.H., Kronfeld, D.S. & Geor, R.J. (2006a). Insulin resistance in equids: possible role in laminitis. *J Nutr* 136(7 Suppl), 2094S-2098S.
- Treiber, K.H., Kronfeld, D.S., Hess, T.M., Boston, R.C. & Harris, P.A. (2005b). Use of proxies and reference quintiles obtained from minimal model analysis for determination of insulin sensitivity and pancreatic beta-cell responsiveness in horses. *Am J Vet Res* 66(12), 2114-21.

- Treiber, K.H., Kronfeld, D.S., Hess, T.M., Byrd, B.M., Splan, R.K. & Staniar, W.B. (2006b). Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional risk factors for pasture-associated laminitis in ponies. *J Am Vet Med Assoc* 228(10), 1538-45.
- Valera Mora, M.E., Scarfone, A., Calvani, M., Greco, A.V. & Mingrone, G. (2003). Insulin clearance in obesity. *J Am Coll Nutr* 22(6), 487-93.
- 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. *J Anim Sci* 85(5), 1144-55.
- Walsh, D.M., McGowan C. M., McGowan T., LAMB S. V., Schanbacher B. J., Place N. J (2009). Correlation of Plasma Insulin Concentration with Laminitis Score in a Field Study of Equine Cushing's Disease and Equine Metabolic Syndrome. . *Journal of Equine Veterinary Science* 29(2).
- Williams, C.A., Kronfeld, D.S., Staniar, W.B. & Harris, P.A. (2001). Plasma glucose and insulin responses of Thoroughbred mares fed a meal high in starch and sugar or fat and fiber. *J Anim Sci* 79(8), 2196-201.
- Xu, H., Barnes, G.T., Yang, Q., Tan, G., Yang, D., Chou, C.J., Sole, J., Nichols, A., Ross, J.S., Tartaglia, L.A. & Chen, H. (2003). Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 112(12), 1821-30.