

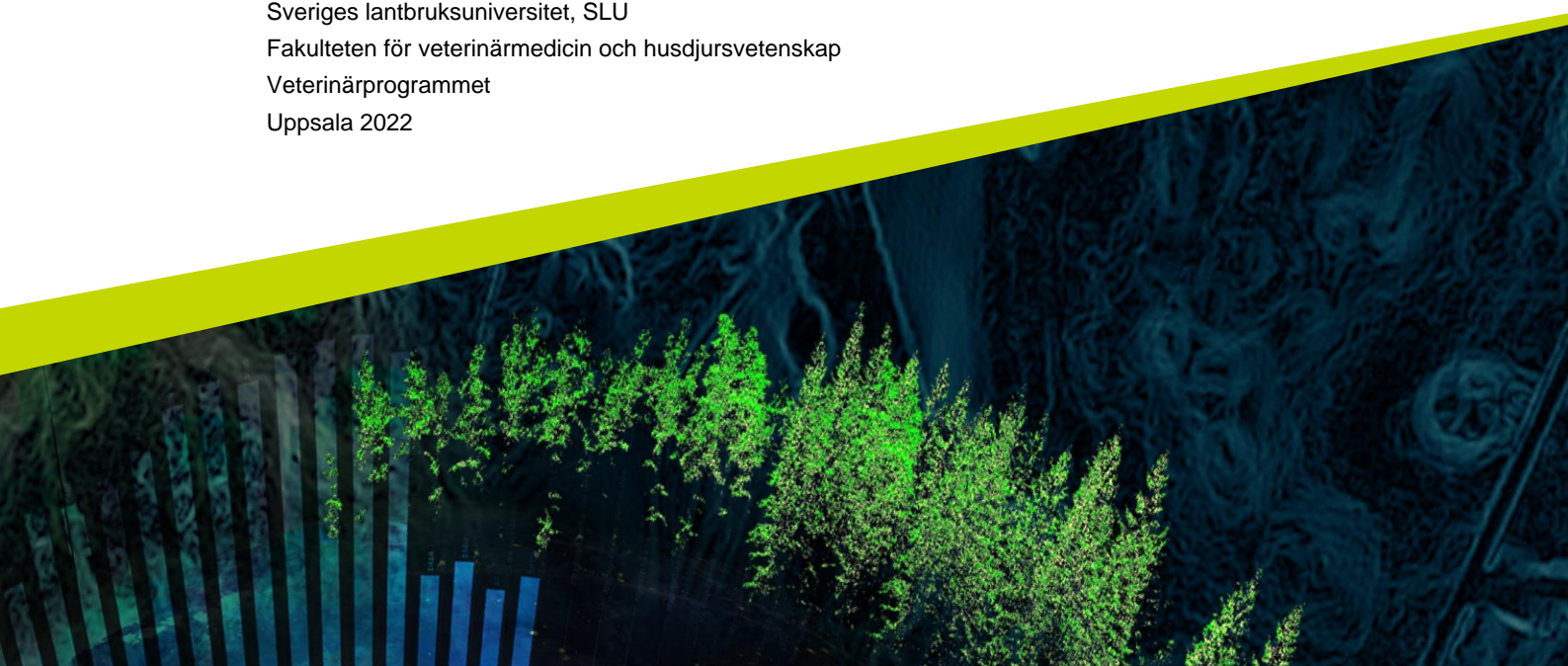


Evaluering av *graded glucose infusion* som metod för utvärdering av β -cellsfunktion hos häst

Evaluation of graded glucose infusion as a method of evaluating β -cell response in horses

Linda Nyqvist

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet
Uppsala 2022



Evaluering av *graded glucose infusion* som metod för utvärdering av β -cellsfunktion hos häst

Evaluation of graded glucose infusion as a method of evaluating β -cell response in horses

Linda Nyqvist

Handledare: Johan Bröjer, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper
Bitr. handledare: Sanna Truelsen Lindåse, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för Kliniska vetenskaper
Examinator: Miia Riihimäki, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för Kliniska vetenskaper

Omfattning: 30 hp
Nivå och fördjupning: A2E
Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin
Kurskod: EX0869
Program/utbildning: Veterinärprogrammet
Kursansvarig inst.: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala
Utgivningsår: 2022

Nyckelord: Ekvint metabolt syndrom, GGI, reproducerbarhet, β -cellsfunktion, häst

Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Fulltexten kommer dock i samband med att dokumentet laddas upp arkiveras digitalt.

Om ni är fler än en person som skrivit arbetet så gäller krysset för alla författare, ni behöver alltså vara överens. Läs om SLU:s publiceringsavtal här:

<https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

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

Sammanfattning

Ekvint metabolt syndrom (EMS) kännetecknas av en samling fysiologiska förändringar som bland annat predisponerar hästar för endokrin fång. Centralt i begreppet är insulindysreglering, som beskriver störningar i insulinutsöndringen, så som hyperinsulinemi och insulinresistens. Hyperinsulinemi har i flera studier kopplats till ökad risk för fång. Insulin utsöndras av β -cellerna i de langerhanska öarna i pankreas och har som huvudsaklig uppgift att reglera blodglukosnivåer i kroppen genom att stimulera glukosupptag i vävnader. Insulinutsöndringen är framför allt reglerad av blodglukoskoncentration och hos friska hästar anpassas insulinkoncentrationen i blodet för att hålla blodglukosnivåerna på en stabil nivå. Hos vissa hästar sker dock patologiska förändringar som gör att β -cellerna uppregleras och utsöndrar mer insulin. Det beror ofta på att känsligheten för insulin i vävnader har minskat, vilket innebär att högre koncentrationer av insulin krävs för att få en tillräcklig effekt på glukoskoncentrationen. Hyperinsulinemi inträffar framför allt efter intag av foder, och i synnerhet foder med höga halter icke-strukturella kolhydrater.

För att diagnostisera hästar med insulindysreglering och EMS och bedöma behandlingseffekten av läkemedel behöver man kunna mäta β -cellsfunktionen och avgöra om det föreligger en uppreglering av insulinutsöndringen. β -cellsfunktionen kan mätas med olika metoder, många har utformats för att användas på patienter med diabetes inom humanmedicin. En metod är *graded glucose infusion* (GGI), där patienten får en kontinuerlig infusion med glukos under en viss tid, med en infusionshastighet som ökar med jämna intervaller. Blodprov tas regelbundet under infusionstiden och analyseras för glukos och insulin. På så sätt får man ett dosresponsförhållande mellan blodglukoskoncentrationen och insulinkoncentrationen och därmed kan man bedöma hur insulinutsöndringen påverkas av olika glukosnivåer.

I denna studie testades reproducerbarheten för GGI som metod för att mäta β -cellsfunktionen hos hästar. Metoden har tidigare anpassats för häst men innan den används inom kliniskt arbete eller forskning behöver det finnas information om dess reproducerbarhet, det vill säga hur stor variation det är i resultaten när metoden upprepas under samma förutsättningar. Är variationen liten har metoden en hög reliabilitet, vilket är viktigt för att kunna dra slutsatser kring skillnader i mätningar mellan individer och efter exempelvis en läkemedelsbehandling. GGI utfördes på åtta hästar vid två olika testtillfällen och mätvärden för varje individ jämfördes mellan de två testtillfällena för att avgöra variationen. Tre olika index för att bedöma β -cellsfunktion beräknades och utvärderades med hänsyn till reproducerbarheten. Resultatet visar att två index, area under kurvan för insulinutsöndring och insulinmedelvärdet, har hög reproducerbarhet. Det tredje indexet, lutningen på regressionslinjen för dosresponskurvan för insulinutsöndring vid olika glukoskoncentrationer, har lägre reproducerbarhet. Fler studier behövs för att avgöra om detta index fortfarande kan vara relevant.

Nyckelord: Ekvint metabolt syndrom, GGI, reproducerbarhet, β -cellsfunktion, häst

Abstract

Equine metabolic syndrome (EMS) describes a range of physiological changes that predisposes horses to endocrinopathic laminitis. Insulin dysregulation (ID) is a central part of the syndrome, and relates to disruptions in insulin secretion, including hyperinsulinemia and insulin resistance. Hyperinsulinemia has been associated with increased risk of laminitis in several studies. Insulin is produced by the β -cells in the islets of Langerhans in the pancreas and their main function is to regulate blood glucose levels by stimulating uptake of glucose into different tissues in the body. Insulin secretion is mainly regulated by the glucose concentration in the blood, and in healthy horses the insulin concentration is kept at a level which ensures a steady blood glucose level. In some horses however, this regulation is disrupted, often because of decreased sensitivity to insulin in body tissues. This leads to an upregulation of the β -cells to produce and secrete more insulin. Post prandial hyperinsulinemia occurs in ID horses after intake of feed, especially feed with high content of non-structural carbohydrates.

Methods for measuring β -cells function and to determine upregulated responses are important in order to diagnose horses with ID and EMS as well as to evaluate the effect of treatments. Several methods are available, most of them are developed for human medicine for patients with diabetes. One of these methods is graded glucose infusion (GGI), where the patient is given a continuous infusion of glucose during a set time, where the infusion rate is increased with regular intervals. Blood samples are collected at close intervals and analysed for insulin and glucose. With the data, a glucose-insulin dose-response curve can be produced for the insulin secretion at different glucose concentrations.

In this study, the repeatability of GGI as a method of measuring β -cell function in horses was evaluated. The method has been adapted for use in horses, but an evaluation of the repeatability of the test is needed before it can be used in clinical practice. The repeatability of a test is a measure on how much variance there is in the result when the method is repeated under the same circumstances. If the variation is small, the repeatability is considered good, which is important to be able to draw conclusions from measurements using the method such as comparing individuals or the effects of medication. GGI was conducted on eight horses on two occasions and the measurements from the trials were compared on an inpatient basis. Three different indices for evaluation of β cell response were calculated and the repeatability determined. Two indices, area under the curve for insulin secretion and the mean of insulin secretion showed high repeatability. The third index, the slope of the regression line for the glucose-insulin dose response curve had lower repeatability. More studies are needed to conclude if this index is clinically relevant for determining β -cell function in horses.

Keywords: equine metabolic syndrome, GGI, repeatability, β -cell function, equine, horse

Innehållsförteckning

Inledning	9
Litteraturoversikt.....	10
Ekvint metabolt syndrom	10
Fång.....	10
Insulindyrreglering.....	11
Mäta betacellsfunktion	12
Hyperglykemisk clamp	13
<i>Graded glucose infusion</i>	13
Bedöma reproducerbarhet.....	14
Material och metoder	16
Hästar	16
Studiedesign	17
Beräkningar och statistiska analyser	18
Resultat	19
Glukos och insulin.....	19
Dosresponskurvor för insulinutsöndring vid olika glukoskoncentrationer.....	19
Index för β -cellssvar.....	21
Diskussion	22
Referenser.....	25
Populärvetenskaplig sammanfattning	28

Förkortningar

AUC	Area under kurvan
CV	Variationskoefficient
EMS	Ekvint metabolt syndrom
GGI	Graded glucose infusion
GLP1	Glucagon-like peptide-1
ID	Insulindysreglering

Inledning

Ekvint metabolt syndrom (EMS) består av en samling fysiologiska förändringar som är kopplade till en ökad risk för fång hos hästar (Frank 2009). I detta kluster ingår fetma, regionala fettdepåer, hyperinsulinemi och insulindysreglering. I synnerhet hyperinsulinemi är tydligt kopplat till fångrisk (Asplin *et al.* 2007).

Insulindysreglering är ett begrepp som beskriver patologier i insulinmetabolismen och inbegriper hyperinsulinemi och insulinresistens (Frank & Tadros 2014). Hyperinsulinemi kan orsakas av antingen en ökad utsöndring av insulin eller en minskad clearance. Ökad utsöndring är framför allt kopplat till en minskad känslighet för insulin i vävnader. Insulin produceras, lagras och utsöndras av β -celler i pankreas. För att få en uppfattning om huruvida en häst lider av insulindysreglering är det viktigt att kunna bedöma β -cellernas funktion. Inom humanmedicinen finns flera olika metoder för att mäta β -cellsfunktionen då det är ett viktigt diagnostiskt redskap vid olika diabetessjukdomar (Hannon *et al.* 2018). En av dessa metoder är *graded glucose infusion* (GGI).

Syftet med GGI är att kunna göra en dosresponskurva för insulinutsöndring vid olika koncentrationer av glukos, och därigenom utvärdera β -cellsfunktionen (Shankar *et al.* 2016). En gradvis ökande glukoskoncentration ger ett mer dynamiskt insulinsvar än andra metoder där glukos ges som en engångsdos. I en tidigare studie togs ett protokoll fram för GGI som var anpassat för häst (Jacobson 2020).

Innan ett diagnostiskt test används inom kliniskt arbete eller inom forskning måste kunskap om testets reproducerbarhet finnas tillgänglig. Syftet med studien var att utvärdera reproducerbarheten hos GGI som en metod för att mäta β -cellssvaret hos friska hästar.

Litteraturöversikt

Ekvint metabolt syndrom

Ekvint metabolt syndrom (EMS) är ett relativt nytt begrepp för att beskriva en samling fysiologiska förändringar som framför allt predisponerar hästar för fång (Frank 2009). Inkluderat i syndromet är fetma, regionala fettinlagringar, hyperinsulinemi och insulindysreglering. Hyperinsulinemi har i kliniska studier inducerat fång hos kliniskt friska hästar och anses därför vara den viktigaste komponenten i EMS kopplad till fång (Asplin *et al.* 2007; de Laat *et al.* 2010).

Anekdotiskt ses tillståndet oftare hos hästar av raser som anses vara mer lättfödda, så som islandshästar, new forest, shetlands- och welshponnyer, morganhästar och andalusier. Dessa raser är mer anpassade än andra till levnadsförhållanden med mer begränsad fodertillgång, vilket kan förklara varför de har lättare att gå upp i vikt av samma fodergiva än hästar i samma storlek av andra raser (Truelsen Lindåse 2017).

Fång

Fång är ett smärtsamt tillstånd där lamellerna som fäster hovbenet till hovväggen försvagas, vilket leder till en sänkning eller rotation av hovbenen (Belknap & Geor 2017). Både själva destruktionsen av lamellvävnaden och den ökade belastningen av benet orsakar smärta. Hästar med fång blir halta och i allvarliga fall resulterar fång i avlivning av välfärdsskäl. Fång kan hanteras i lindrigare fall med vila, specifik verkning och skor anpassade för fånghovar, men det viktigaste är att förebygga fång (Grenager 2021). För hästar som redan haft fång är risken större för framtida episoder. Fång har en komplicerad etiologi, där sepsis eller endotoxinemi, endokrina patologier och överbelastning av hoven är de huvudsakliga orsakerna (Grenager 2021). Fång orsakad av hyperinsulinemi ingår i kategorin ”endokrina patologier”, vilket också är den vanligaste formen av fång (Karikoski *et al.* 2011). Fritt bete är tydligt kopplat till ökad fångrisk, då gräs kan innehålla en stor andel icke-strukturella kolhydrater, beroende på säsong (Geor 2009). Intag av stora

mängder icke-strukturella kolhydrater kan på kort sikt orsaka en snabb jäsning i grovtarmen vilket kan leda till acidosis, och på längre sikt bygga upp insulinresistens (Longland & Byrd 2006). Fetma är tydligt associerat med EMS och anses också vara en riskfaktor för fång. Strategier för att förebygga fång handlar därför till stor del om att begränsa intag av icke-strukturella kolhydrater och förlänga ättider för att hålla nere blodglukosnivåer, ofta i kombination med viktnedgång och ökad motion (Grenager 2021).

Insulindysreglering

Insulindysreglering (ID) är en term som används för att beskriva patologi i insulinregleringen hos hästar som inbegriper mer än insulinresistens (Frank & Tadros 2014). Centralt i begreppet insulindysreglering är hyperinsulinemi, då det är detta som kliniskt har en tydlig koppling till ökad fångrisk. Tidigare har insulinprover på hästar med misstänkt insulindysreglering eller insulinresistens tagits i fastande tillstånd (Frank 2009), men då hästars födointag pågår under stor del av dygnet, särskilt när de går på bete, och deras metabolism som grovtarmsjäsnare pågår under lång tid är det inte lika relevant att titta på insulin vid fasta som exempelvis för människor. Därför är det mer relevant att utgå från insulinnivåer efter intag av föda. Postprandiell hyperinsulinemi är förhöjda nivåer av insulin efter födointag. Nivån av hyperinsulinemi beror bland annat på hur lättillgängliga kolhydraterna i fodret är (Frank & Tadros 2014). Icke-strukturella kolhydrater som återfinns i gräs orsakar en snabb ökning av blodglukoskoncentrationen. Hos hästar som redan har insulindysreglering kan betesgång därför leda till en kraftig postprandiell insulinrespons, som också blir ihållande då betestillgången är fri (Treiber *et al.* 2006). Det finns olika test som kan göras för att mäta postprandiella insulinnivåer, framför allt orala sockertest (OST) och orala glukostoleranstest (OGTT).

Hyperinsulinemi orsakas antingen av en överdriven sekretion av insulin eller en försämrad insulin-clearance (Frank & Tadros 2014). En överdriven sekretion av insulin är generellt kopplad till en minskad känslighet för insulin i vävnader (Truelsen Lindåse 2017). Om den ökade utsöndringen av insulin kompenserar för den minskade känsligheten och håller blodglukosnivåer på en fysiologisk nivå anses insulinresistensen kompenserad. Vid kompenserad IR har hästen postprandiell hyperinsulinemi men normala blodglukosnivåer. Hästar, till skillnad från människor, stannar vanligtvis i ett tillstånd av kompenserad insulinresistens. Hos människor leder en längre tid av hyperinsulinemi ofta till en nedreglering av insulinproduktionen i β -cellerna, vilket utvecklas till diabetes mellitus typ två (Truelsen Lindåse 2017). Det kan dock finnas andra orsaker till postprandiell hyperinsulinemi än insulinresistens, då insulinutsöndringen även regleras av andra faktorer. En studie (de Laat *et al.* 2016) syftade till att utreda om överdriven insulin-

utsöndring hos hästar med insulindysreglering har en delvis gastrointestinal etiologi som inte är kopplad till insulinresistens, genom att jämföra insulin och glukoskoncentrationer i blod efter oral kontra intravenös glukosgiva. De noterade att hästar som bedömdes ha insulindysreglering baserat på orala sockertest inte nödvändigtvis visar tecken på insulinresistens vid intravenösa test. Detta indikerar att hästar kan lida av postprandiell hyperinsulinemi, och därmed ökad fångrisk, utan att vara insulinresistenta.

Mäta betacellsfunktion

Insulin produceras, lagras och utsöndras i β -cellerna i de langerhanska öarna i pankreas. Insulin påverkar blodglukosnivåer genom att främja upptag av glukos i vävnader i kroppen (Szablewski 2011). Under normala fysiologiska förhållanden är cirkulerande insulin direkt relaterat till insulinkänslighet. När känsligheten minskar ökar utsöndringen av insulin kompensatoriskt (Frank & Tadros 2014). Insulinutsöndring regleras i första hand av glukos, men även bland annat av hormoner som utsöndras i tarmen vid intag av föda. Dessa hormoner kallas inkretinhormoner. De verkar genom att stimulera utsöndringen av insulin från β -cellerna i pankreas. De har också som effekt att de fördröjer tömning av föda från magsäcken till tarmen, samt har en hungerdämpande effekt (Nauck & Meier 2018). Det finns många olika inkretinhormoner och relevansen av respektive inkretin för insulinproduktion varierar mellan olika djurslag. Vilka inkretiner som är viktigast i insulinregleringen på häst är inte helt klarlagt, men en studie (de Laat *et al.* 2016) visade en positiv korrelation mellan insulinutsöndring efter intag av föda och inkretinhormonet glucagon-like peptide-1 (GLP1).

Hur väl β -cellerna fungerar kan mätas på flera olika sätt. Metoderna skiljer sig åt, framför allt i administrationen av glukos, antingen oralt eller intravenöst (Hannon *et al.* 2018). Fördelen med intravenösa test är att insulinresponsen är direkt relaterad till blodglukosnivån. Vid orala glukostest kan gastrointestinala faktorer så som absorptionen av glukos, inkretinutsöndring och förstapassagemetabolismen av glukos i levern påverka både glukosnivån i blodet och utsöndring av insulin. Å andra sidan ger orala sockertest en mer fysiologisk respons på glukos (Hannon *et al.* 2018). Intravenösa test kan också göras på olika sätt, antingen genom en engångsdos av glukos, eller olika metoder för kontinuerlig infusion. I och med att intravenösa metoder generellt är mer invasiva, mer tidskrävande och kräver mer avancerad teknisk utrustning är de mer lämpade för att använda på klinik eller i forskning. Nedan följer en beskrivning av två av dessa metoder, *hyperglykemisk clamp* och *graded glucose infusion (GGI)*.

Hyperglykemisk clamp

Hyperglykemisk clamp (HC) är en metod där patienten får en kontinuerlig glukosinfusion som höjer blodglukosen till en specifik hyperglykemisk nivå (Hannon *et al.* 2018). Blodprover tas ofta för att mäta glukosvärdet och anpassa infusionshastigheten för att hålla en konstant blodglukoskoncentration. På detta sätt får man en kurva över insulinrespons för en specifik koncentration av glukos. Med HC fås även ett indirekt mått för insulinkänslighet. I och med att glukoskoncentrationen hålls i *steady-state* får man ett mått på mängden metaboliserad glukos per tidsenhet, som kan jämföras med insulinkoncentrationen. I en studie (Lindåse *et al.* 2020) har HC visat god tillförlitlighet och reproducerbarhet för att mäta β -cellsfunktion hos häst. Nackdelar med hyperglykemisk clamp är att det krävs två olika venportar, att det är tidskrävande och att teknisk expertis krävs för att kunna anpassa glukosvärdet.

Graded glucose infusion

Graded glucose infusion (GGI) är en metod där patienten får en kontinuerlig glukosinfusion under fyra timmar, där infusionshastigheten ökar var fyrtionde minut. Prover tas var tionde minut under infusionstiden för att mäta blodglukoskoncentration och plasmainsulinkoncentration. Med denna metod får man en dosresponskurva för insulinutsöndring vid olika koncentrationer av glukos.

Lutningen på dosresponskurvan representerar β -cellssvaret. Detta index användes av Shankar *et al.* (2016) för att bedöma β -cellssvar hos tre grupper: personer med typ 2 diabetes, personer med övervikt och friska personer med normalvikt. Resultatet visade en högerförskjutning av lutningen för gruppen med typ 2-diabetes jämfört med den friska gruppen. Lutningen för gruppen med övervikt visade i stället en vänsterförskjutning jämfört med den friska gruppen. Resultaten reflekterar att personer med typ 2-diabetes har en nedreglering av insulinproduktionen, medan överviktiga personer som inte har utvecklat typ 2-diabetes i stället har ett uppreglerat β -cellssvar som kompenserar för en insulinresistens. I och med att hästar med insulinresistens vanligtvis stannar i en kompenserad insulinresistens är det en vänsterförskjutning av lutningen på regressionslinjen jämfört med en frisk population som blir en indikation på ett överdrivet β -cellssvar, som kan orsaka hyperinsulinemi hos hästar med EMS. Även andra index på β -cellssvar kan beräknas på den data som samlas vid en GGI. Arean under kurvan (AUC) för plasmainsulinkoncentration över tiden för infusionen kan beräknas för att få ett värde för den totala insulinutsöndringen under infusionstiden. Detta index används bland annat för hyperglykemisk clamp i studien av Lindåse *et al.* (2020). AUC för insulinutsöndring blir ett mått på β -cellssvar då ett högre AUC jämfört med en frisk population indikerar ett uppreglerat β -cellssvar då den totala mängden insulin som

utsöndrats av samma glukosstimuli är större. I samma studie beräknades även medelvärdet för insulinutsöndringen under perioden för glukos-steady state. Detta kan också göras vid en GGI för insulin koncentrationer uppmätta efter infusionsstart, vilket blir en indikator för β -cellssvar då insulinutsöndringen borde öka vid ett uppregerat svar (Byrne *et al.* 1995).

GGI används på humansidan framför allt i forskningssammanhang, bland annat för att mäta behandlingseffekt av läkemedel (Yang *et al.* 2007; Kim *et al.* 2017; Salehi *et al.* 2018). I en studie (Shankar *et al.*, 2016) jämfördes resultaten från GGI och hyperglykemisk clamp för att utvärdera om GGI var en jämförbar metod för att mäta β -cells funktion. Resultaten visade att GGI gav jämbördiga resultat som hyperglykemisk clamp. I studien användes även GGI för att mäta behandlingseffekten av GLP-1-analoger med gott resultat.

Fördelen med GGI jämfört med hyperglykemisk clamp är att det är tekniskt lättare att utföra då testintervallerna är längre och inte kräver samma expertis för att bibehålla en steady state-hyperglykemi. GGI ger också ett mått för insulinrespons vid olika blodglukosnivåer, till skillnad från hyperglykemisk clamp. För patienten är de två metoderna jämbördiga i att båda kräver två separata venportar men GGI tar längre tid, vilket kan vara en nackdel för användning på häst då de måste vara fastande innan och under tiden för infusionen. En annan nackdel med GGI är att det inte ger ett mått på insulinresistens, för att man inte kan mäta glukosmetabolismen. Det finns ett protokoll för infusionshastigheter vid GGI, som är anpassat till häst (Jacobson 2020).

Bedöma reproducerbarhet

Ett test med god reproducerbarhet är ett test som ger i stort sett samma resultat när det genomförs av olika personer eller av samma person två eller flera gånger (Bartlett & Frost 2008). God reproducerbarhet är viktigt för att det ska vara värdefullt att jämföra resultatet av ett test när det upprepas. Om GGI ska användas för att bedöma β -cells funktion behöver testet ge jämbördiga resultat när det upprepas på samma patient under samma förutsättningar. På så sätt kan man utgå från att skillnader mellan individer och skillnad hos en individ efter en behandling inte är slumpmässiga.

Beräkning av variationskoefficienten (CV) är en metod för att bedöma ett tests reproducerbarhet som används inom veterinärmedicinen (Pratt *et al.* 2005; Lindåse *et al.* 2020; Ström *et al.* 2020). CV beräknas genom att ta standardavvikelsen genom medelvärdet, vilket blir ett mått på hur stor variationen är i en population (Reed *et al.* 2002). Standardavvikelse är i sig ett mått på variation i en population, men CV

gör att graden av variation kan jämföras mellan populationer även om medelvärdet varierar i skala. För att bedöma reproducerbarhet av ett test kan man göra en mätning på samma individ vid två olika tillfällen och sedan beräkna CV på medelvärdet och standardavvikelsen för det mätvärdet. CV uttrycks ofta i procent, och låga värden indikerar god reproducerbarhet.

Material och metoder

Studien är godkänd i etisk prövning med diarienummer 5.8.18-15533/2018.

Hästar

I studien användes 8 hästar (Tabell 1) som ägs av Institutionen för kliniska vetenskaper på Sveriges lantbruksuniversitet. Hästarna bedömdes inför försöket vara kliniskt friska.

Tabell 1. Information om hästarna.

Häst	Ras	Född	Kön	Vikt (kg)
A	Varmblodig travare	2000	Valack	485,5
B	Varmblodig travare	2005	Valack	522
C	Varmblodig travare	2008	Valack	561,2
D	Varmblodig travare	2011	Sto	505
E	Varmblodig travare	2003	Sto	536,5
F	Varmblodig travare	2006	Sto	550
G	Varmblodig travare	1997	Sto	544
H	Varmblodig travare	2013	Sto	587,5

Studiedesign

I studien används det protokoll för GGI som utvecklades i en tidigare studie (Jacobson 2020). Testet gjordes två gånger på varje häst med två veckors mellanrum under våren 2021. Kvällen innan försökstillfället förbereddes hästarna för anläggning av en perifer venkateter (intranule, 2,0 * 105 mm, Vygon) i jugularvenen på båda sidor, den ena för glukosinfusion och den andra för blodprovstagning. Området för katetern rakades och lokalbedövades med lokalanestetikum i gelform (EMLA, Astra Zenica AB), därefter steriltvättades området och lokalanestetikum (Xylocain 20 mg/ml, Astra Zenica AB) injicerades subkutant på platsen för sticket. Efter att katetern var på plats spolades den med steril fysiologisk NaCl-lösning. Katetrarna spolades igen senare samma kväll för att förhindra koagulering.

Hästarna fick en sista utfodring på kvällen innan testet och var sedan fastande i 8 timmar innan testet startade och under testets gång. Normal fodergiva gavs till alla hästar efter testets avslut. Alla hästar hade tillgång till vatten under hela infusions-tiden. Hästarna vägdes morgonen för försöket och vikten användes för att beräkna glukosdosen i kalkylprogrammet Microsoft Excel enligt schema (Jacobson 2020). Hästarna stod uppbundna i egen box. Morgonen för teststillfället kopplades volymet-risk infusionspump (Braun Infusomat® Space) med 20 % glukoslösning (Glucose Fresenius Kabi 200 mg/mL) in till den ena katetern. Innan testet startades gjordes en infusion på 200 ml/h i 31 sekunder för att fylla förlängning och kateter med glukoslösning. Blodprov togs från den andra katetern tio minuter och en minut innan testet startade, därefter var tionde minut upp till och med 240 minuter. Vid provtagning aspirerades först 5 ml blod som kastades. Direkt därefter aspirerades blodprovet och sedan spolades katetern med 10 ml steril fysiologisk NaCl-lösning. Direkt efter provtagning analyserades blodet med glukometer (Accu-Check Aviva, Roche AB) för glukosvärde, varpå blod överfördes till vacutainerrör med litium-heparin. Rören med litium-heparin centrifugerades omgående (3000 rpm). Efter centrifugering överfördes supernatant till eppendorfrör, som frystes i -80 °C för senare analys av insulin. Glukosinfusionen startade vid kl. 7 med hastigheten 0,4 mg/kg/min. Därefter ökade hastigheten var 40:e minut till 0,8, 1,2, 1,6, 2,4 och 3,2 mg/kg/min.

Plasmainsulin analyserades med ELISA teknik (Equine Insulin Elisa, Mercodia) för proverna vid -10 min, sedan i samtliga prover var 40:e minut från infusionsstart.

Beräkningar och statistiska analyser

GraphPad Prism 9 och Microsoft Excel användes för att göra grafer och statistiska analyser av data. Area under kurva (AUC) (responskoncentrationer över tid) beräknades för både glukos och insulindata med hjälp av trapetzoidmetoden över hela infusionstiden för varje häst i bägge försöksomgångar. En förenklad metod användes utan justering för baseline för glukos och insulinkoncentrationen oberoende av glukosinfusionen. Medelvärde beräknades för plasmainsulinkoncentrationerna från 40 min efter start till 240 min för alla hästar i bägge omgångar. Dosresponskurvor gjordes för plasmainsulinkoncentrationen i förhållande till blodglukoskoncentrationen. Den korresponderande blodglukoskoncentrationen för varje mätvärde av insulin beräknades genom att ta medelvärdet för de två senaste glukosmätningarna vid varje insulinprovtagning. För varje häst gjordes en linjär regressionsanalys för dosresponskurvorna vid respektive körning. R^2 -värdet för regressionsanalysen användes för att bedöma hur väl data korrelerade till en linjär funktion. Lutningskoefficienten för den linjära regressionslinjen användes sedan som ett index för β -cellsresponsen relativt förändringar i blodglukoskoncentrationen likt i studien av Shankar *et al.* (2016).

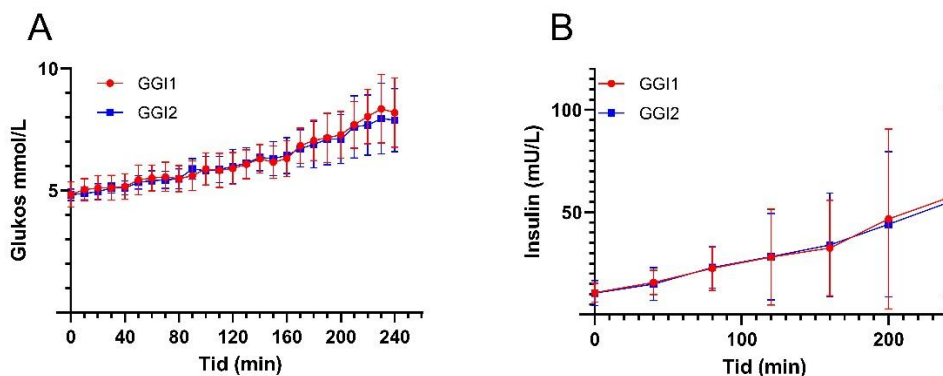
För att undersöka om det fanns en signifikant skillnad mellan körningarna utfördes parade t-test (2-sidigt test) för följande data: AUC för glukos och insulin, insulinmedelvärde samt lutningen för regressionslinjen för dosresponskurvor. Signifikansen sattes till $P < 0,05$ för alla statistiska analyser. För att bedöma reproducerbarheten beräknades variationskoefficienten (CV) för tre index för β -cellssvar: AUC för insulin, medelvärde för insulinutsöndring och lutningen på regressionslinjen för dosresponskurvor mellan insulin och glukoskoncentration. För vardera index beräknades individuella CV för varje häst, därefter ett medelvärde för samtliga hästars CV. Data presenteras som medelvärde \pm standardavvikelse.

Resultat

Alla hästar bedömdes friska och utan tecken på metabol sjukdom vid tiden för studien.

Glukos och insulin

Figur 1A visar den genomsnittliga glukoskoncentrationen (mmol/L) i blodet för alla hästar över tid (min) vid respektive försökstillfälle. Figur 1B visar den genomsnittliga plasmainsulinkoncentrationen (mU/L) på samma sätt. Ett visuellt positivt samband kan ses mellan både glukos och insulinkoncentrationen i blodet över den stegvisa ökande infusionshastigheten.



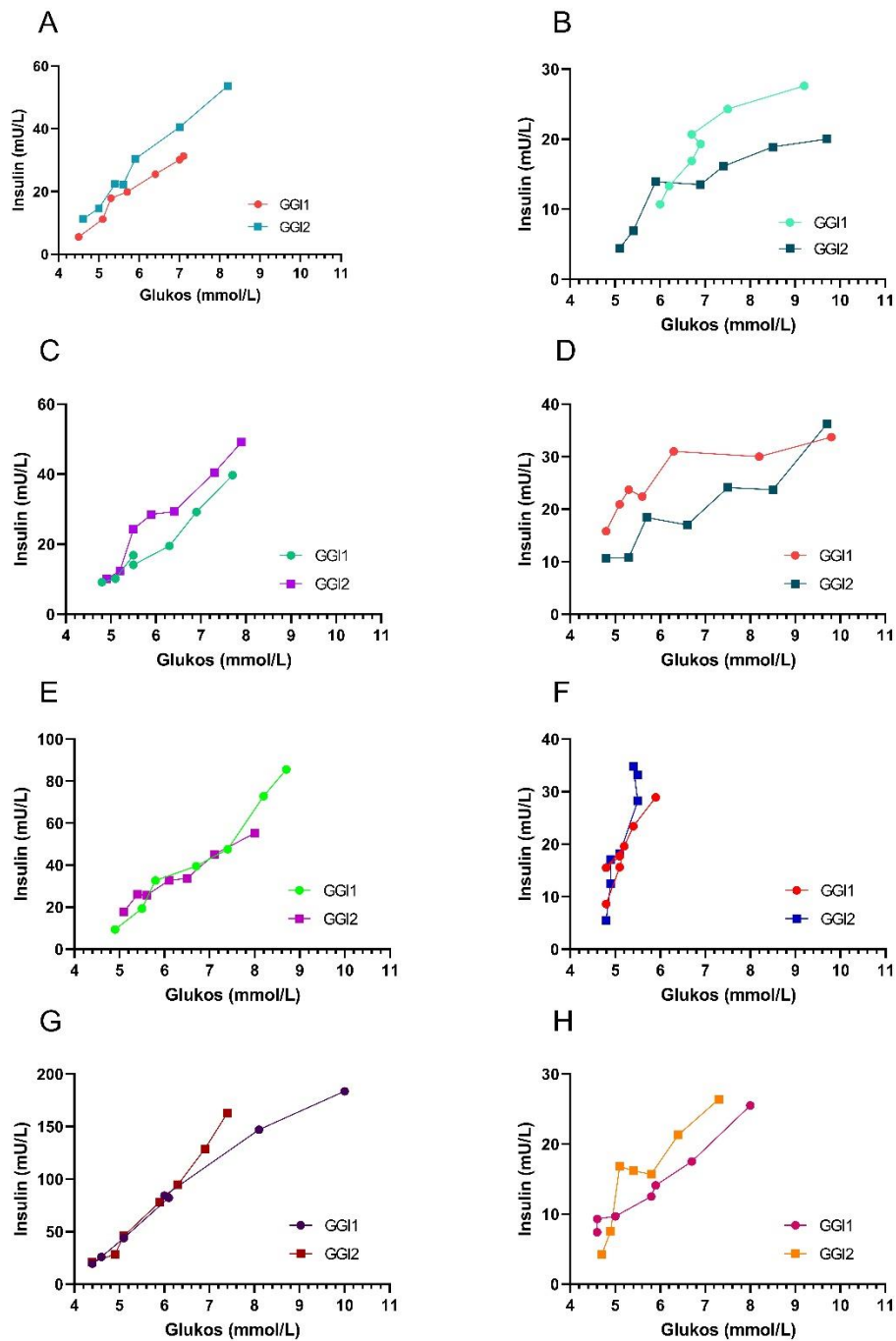
Figur 1. Medelvärde för glukoskoncentration i helblod (mmol/L) och insulinkoncentration (mU/L) under 240 minuter (min) vid två försökstillfällen (GGI1 och GGI2), med standardavvikelse.

Parat t-test för AUC för glukos hade ett P-värde på 0,6. P-värdet för samma test för insulin var 0,9. Detta indikerar att det inte är någon signifikant skillnad mellan GGI1 och GGI2 för glukos och insulinkoncentration över tid.

Dosresponskurvor för insulinutsöndring vid olika glukoskoncentrationer

I figur 2 är alla hästars enskilda rådata för dosresponskurvor över insulinutsöndring vid olika glukoskoncentrationer presenterade. Samtliga kurvor indikerar ett positivt

linjärt samband. Häst G utmärker sig med betydligt högre värden för plasma-insulinkoncentration vid liknande blodglukoskoncentrationer jämfört med övriga hästar.



Figur 2. Rådata för dosresponsskurvor över insulinkoncentration (mU/L) vid olika glukoskoncentrationer (mmol/L) för häst A-H, vid GGI1 och GGI2. Notera att skalan på y-axeln varierar mellan graferna.

Värdet på R^2 för samtliga linjära regressionsanalyser av dosresponskurvorna varierade mellan 0,74 och 0,98, vilket indikerar en god korrelation med en linjär funktion ($P < 0,01$).

Index för β -cellssvar

I tabell 2 presenteras medelvärdet för varje index för β -cellssvar som beräknades i försöket. P-värdet för parat t-test för varje index var $>0,05$, vilket indikerar att det inte var någon signifikant skillnad mellan GGI1 och GGI2. CV för Insulin AUC_{0-240} och insulinmedelvärde är väldigt lika, medan CV för lutningen på regressionslinjen för insulin genom glukos är högre. Standardavvikelsen för varje index är stor då det är individuella skillnader mellan hästarnas β -cellssvar.

Tabell 2. Medelvärde \pm standardavvikelse för tre index för β -cellssvar på intravenöst glukos under två GGI-försök, P-värde för parat t-test av varje index samt medelvärde \pm standardavvikelse för CV-värde för varje index uttryckt i procent. Insulin AUC_{0-240} , arean under responskurvan för insulin-koncentrationen för tiden 0 – 240 minuter.

Variabel	GGI1 \pm std	GGI2 \pm std	P-värde	CV % \pm std
Insulin AUC_{0-240} (mU/L x min)	7191 \pm 5385	7085 \pm 4956	0.9	16,2 \pm 7,5
Lutning Δ Insulin/ Δ Glukos (mU/mmol)	12 \pm 9	16 \pm 16	0.2	29,3 \pm 11,8
Medelvärde Insulin ₄₀₋₂₄₀ (mU/L)	34 \pm 27	24 \pm 24	0.8	16,5 \pm 7,1

Diskussion

I denna studie har reproducerbarheten hos *graded glucose infusion* (GGI) som metod för att mäta β -cellssvar på häst testats genom att utföra GGI med ett infusionschema anpassat för häst (Jacobson 2020) på åtta hästar vid två olika tillfällen. Vid en GGI är man ute efter en stegvis ökning av blodglukoskoncentrationen, som fås av att infusionshastigheten av glukos ökar med jämna intervaller under testtiden. Detta ger en β -cellsrespons med en insulinutsöndring som ökar i takt med att blodglukoskoncentrationen ökar. Både glukos och insulindata från denna studie visar på detta positiva linjära samband, vilket ger stöd åt att det schema som använts är väl anpassat för djurslaget. Statistiska analyser av blodglukoskoncentrationen och plasmainsulinkoncentrationen över tid visar på att det inte var någon signifikant skillnad på individnivå för dessa värden mellan de två tillfällena. Detta innebär att den data som insamlas vid testet ger liknande värden vid upprepade test under samma förutsättningar, vilket är en grundförutsättning för att testet ska vara värdefullt. Det innebär dock inte automatiskt att den data som samlas kan användas för att bedöma β -cellssvar. För det krävs att även de beräkningar som används för att bedöma β -cellsresponsen ger resultat med liten variation på individnivå.

I studien användes tre olika index för β -cellssvar. För insulin AUC_{0-240} användes en förenklad metod där ingen hänsyn togs till hästarnas insulinnivåer i blodet innan glukosinfusionen startade. Värdet för insulin AUC_{0-240} inkluderar därför även insulinkoncentrationen som är oberoende av den glukos som tillförts under infusionen. Trots detta visar insulin AUC_{0-240} som mått på β -cellssvar god reproducerbarhet mellan omgångar, med ett CV-värde på $16,2 \% \pm 7,5 \%$. Detta index ger dock ingen indikation på hur insulinkoncentrationen förändrades med en ökande blodglukoskoncentration.

Det andra indexet (medelvärde insulin₄₀₋₂₄₀) som användes är medelvärdet för plasmainsulinkoncentrationen under tiden 40–240 minuter under glukosinfusionen. Fördelen med detta index är att beräkningen är enkel att genomföra och CV-värdet var jämförbart med insulin AUC_{0-240} på $16,5 \% \pm 7,1 \%$. Nackdelen är att i likhet med insulin AUC_{0-240} ger medelvärdet för plasmainsulinkoncentrationen ingen anvisning på hur insulinkoncentrationen förändras över tid.

Det sista indexet för β -cellssvar som användes i studien är lutningen på regressionslinjen för dosreponskurvan av plasmainsulin och blodglukos. CV-värdet för lutningen på regressionslinjen var i denna studie $29,3 \% \pm 11,8 \%$. Detta indikerar större skillnader mellan testen för detta index jämfört med de två andra. Detta innebär att när man jämför olika individer är mindre skillnader svåra att tolka, då de kan bero på en inneboende variation i testet. Lutningen på regressionslinjen kan dock fortfarande vara en relevant markör för β -cellssvaret, om lutningen skiljer sig på ett väldigt tydligt sätt mellan sjuka och friska populationer. Fördelen med detta index jämfört med de två andra är att det direkt uttrycker relationen mellan insulinutsöndring och den ökande blodglukoskoncentrationen. Indexet anger således hur mycket plasmainsulin-koncentrationen (mU/L) förväntas öka för varje ökning i blodglukos uttryckt i mmol/L. Då GGI har som fördel jämfört med exempelvis hyperglykemisk clamp att just visa β -cellssvaret vid olika blodglukoskoncentrationer blir lutningen på regressionslinjen det index som blir mest intressant vid GGI.

I denna studie var det en häst, häst G, som utmärkte sig med en brantare lutning på regressionslinjen. Jacobson (2020) utförde GGI på tre hästar diagnostiserade med EMS med samma protokoll för GGI som använts i denna studie. En visuell jämförelse av dosreponskurvorna för två av de sjuka hästarna och häst G i denna studie väcker misstankar om att häst G kan ha ett uppreglerat β -cellssvar. Möjligheten finns att Häst G vid tiden för studien hade insulindysreglering, utan att den visade symptom på metabol sjukdom. Då det i syftet är specificerat att studien gjorts på friska hästar blir den huvudsakliga inverkan på studien som detta har är att de medelvärden som beräknas inte längre blir representativa för friska individer. I och med att de metoder som använts för att testa reproducerbarhet är baserade på variationer inom individen bedöms detta dock inte ha en avgörande inverkan på resultaten.

Generellt tolererade hästarna i studien metoden väl. Kombinationen av lokal-anestetikum som användes bidrog till att kanylläggningen gick bra. Alla hästar stod relativt still under de 4 timmar som infusionen pågick. Det är dock värt att notera att de hästar som användes i försöket är vana vid den här typen av hantering och att andra individer kan reagera annorlunda, både på stick och på att stå uppbundna och vara fastande under så lång tid.

Begränsningarna för studien ligger framför allt i ett litet urval och en homogen grupp i och med att bara en hästras är representerad. Det var inte möjligt att utöka urvalet i denna studie på grund av ekonomiska och logistiska skäl. Detta innebär att möjligheten att jämföra resultaten i denna studie med andra metoder för att mäta β -cellssvar är begränsade. Det finns dock en studie med liknande urvalsstorlek och grupp sammansättning som undersökt reproducerbarheten för hyperglykemisk clamp som metod för att mäta β -cellsfunction på häst (Lindåse *et al.* 2020). I den

studien fick AUC för insulin under steady state-glukos ett CV på 10,5 %, och medelvärdet för insulin under steady state-glukos ett CV på 9,3 %. Jämför man med CV-värdena i denna studie har hyperglykemisk clamp bättre reproducerbarhet som metod för att mäta β -cellsfunktionen hos hästar. Orsaken till detta är sannolikt att vid hyperglykemisk clamp så undersöks frisättningen av insulin under en förvald steady-state blodglukoskoncentration under lång tid medan vid GGI så ökar blodglukoskoncentrationen efter i förväg bestämda infusionssteg av glukos, vilket inte leder till identiska blodglukoskoncentrationer mellan alla individer. GGI har dock som tidigare nämnts andra fördelar mot hyperglykemisk clamp, och skillnaderna i CV-värden är inte så stora att det inte kan finnas tillfällen då man skulle välja GGI framför hyperglykemisk clamp.

En annan begränsning ligger i metoderna som användes för att bedöma reproducerbarheten, som i denna studie var variationskoefficienten. Om CV kombinerades med andra metoder, till exempel repeterbarhetskoefficient, skulle det finnas fler värden tillgängliga för att mer ingående jämföra reproducerbarheten hos GGI med andra metoder.

I studien av de Laat *et al.* (2016) där de undersökte en gastrointestinal etiologi till insulindysreglering som inte är direkt kopplad till insulinresistens noterades att hästar som bedöms lida av insulindysreglering enligt orala sockertest inte nödvändigtvis är insulinresistenta enligt intravenösa test. I och med att GGI är ett intravenöst test innebär detta att metoden inte fungerar väl på hästar som lider av postprandiell hyperinsulinemi av annan orsak än insulinresistens. Det är därför en god idé att kombinera orala och intravenösa glukostest vid både diagnostisering och utvärdering av behandling av hästar med EMS.

Sammanfattningsvis visar denna studie att GGI kan användas för att utvärdera β -cellsfunktion hos hästar, med en reproducerbarhet som är hög, men inte lika hög som hyperglykemisk clamp. Lutningen på regressionslinjen för dosresponskurvan, ett mått på β -cellsfunktion som inte går att få med en hyperglykemisk clamp, har lägre reproducerbarhet. Studier där GGI görs på hästar med ID kan ge mer information kring om det är kliniskt relevant att använda lutningen på regressionslinjen för att utvärdera β -cellsfunktionen mellan individer med olika uppregerat β -cellssvar.

Referenser

- Asplin, K.E., Sillence, M.N., Pollitt, C.C. & McGowan, C.M. (2007). Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 174 (3), 530–535. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.003>
- Bartlett, J.W. & Frost, C. (2008). Reliability, repeatability and reproducibility: analysis of measurement errors in continuous variables. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, 31 (4), 466–475. <https://doi.org/10.1002/uog.5256>
- Belknap, J.K. & Geor, R.J. (2017). *Equine Laminitis*. Somerset, United States: John Wiley & Sons, Incorporated. <http://ebookcentral.proquest.com/lib/slub-ebooks/detail.action?docID=4748403> [2021-10-06]
- Byrne, M.M., Sturis, J. & Polonsky, K.S. (1995). Insulin secretion and clearance during low-dose graded glucose infusion. *The American Journal of Physiology*, 268 (1 Pt 1), E21-27. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1995.268.1.E21>
- de Laat, M.A., McGowan, C.M., Sillence, M.N. & Pollitt, C.C. (2010). Equine laminitis: Induced by 48 h hyperinsulinaemia in Standardbred horses. *Equine Veterinary Journal*, 42 (2), 129–135. <https://doi.org/10.2746/042516409X475779>
- de Laat, M.A., McGree, J.M. & Sillence, M.N. (2016). Equine hyperinsulinemia: investigation of the enteroinsular axis during insulin dysregulation. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 310 (1), E61-72. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00362.2015>
- Frank, N. (2009). Equine metabolic syndrome. *Journal of Equine Veterinary Science*, 29 (5), 259–267. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2009.04.183>
- Frank, N. & Tadros, E.M. (2014). Insulin dysregulation. *Equine Veterinary Journal*, 46 (1), 103–112. <https://doi.org/10.1111/evj.12169>
- Geor, R.J. (2009). Pasture-associated laminitis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 25 (1), 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2009.01.004>
- Grenager, N.S. (2021). Endocrinopathic laminitis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*,. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2021.08.001>
- Hannon, T., Kahn, S., Utzschneider, K., Buchanan, T., Nadeau, K., Zeitler, P., Ehrmann, D., Arslanian, S., Caprio, S., Edelstein, S., Savage, P. & Mather, K. (2018). A review of methods for measuring β -cell function: Design considerations from the Restoring Insulin Secretion (RISE) Consortium. *Diabetes, Obesity & Metabolism*, 20 (1), 14–24. <https://doi.org/10.1111/dom.13005>

- Jacobson, H. (2020). *Utformning av ett nytt diagnostiskt test för att utvärdera behandlingseffekten av SGLT2-hämmare hos hästar med ekvint metabolt syndrom*. (Självständigt arbete). Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet. <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-s-15880>
- Karikoski, N.P., Horn, I., McGowan, T.W. & McGowan, C.M. (2011). The prevalence of endocrinopathic laminitis among horses presented for laminitis at a first-opinion/referral equine hospital. *Domestic Animal Endocrinology*, 41 (3), 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2011.05.004>
- Kim, M.K., Reaven, G.M. & Kim, S.H. (2017). Dissecting the relationship between obesity and hyperinsulinemia: Role of insulin secretion and insulin clearance. *Obesity*, 25 (2), 378–383. <https://doi.org/10.1002/oby.21699>
- Lindåse, S., Johansson, H., Månsby, M. & Bröjer, J. (2020). Repeatability of the hyperglycaemic clamp for assessment of β -cell response and insulin sensitivity in horses. *Equine Veterinary Journal*, 52 (1), 126–130. <https://doi.org/10.1111/evj.13119>
- Longland, A.C. & Byrd, B.M. (2006). Pasture nonstructural carbohydrates and equine laminitis. *The Journal of Nutrition*, 136 (7), 2099S-2102S. <https://doi.org/10.1093/jn/136.7.2099S>
- Nauck, M.A. & Meier, J.J. (2018). Incretin hormones: Their role in health and disease. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 20 (S1), 5–21. <https://doi.org/10.1111/dom.13129>
- Pratt, S.E., Geor, R.J. & McCutcheon, L.J. (2005). Repeatability of 2 methods for assessment of insulin sensitivity and glucose dynamics in horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19 (6), 883–888. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2005\)19\[883:romfao\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2005)19[883:romfao]2.0.co;2)
- Reed, G.F., Lynn, F. & Meade, B.D. (2002). Use of coefficient of variation in assessing variability of quantitative assays. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 9 (6), 1235–1239. <https://doi.org/10.1128/CDLI.9.6.1235-1239.2002>
- Salehi, M., Gastaldelli, A. & D'Alessio, D.A. (2018). Beta-cell sensitivity to glucose is impaired after gastric bypass surgery. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 20 (4), 872–878. <https://doi.org/10.1111/dom.13165>
- Shankar, S.S., Shankar, R.R., Mixson, L.A., Miller, D.L., Chung, C., Cilissen, C., Beals, C.R., Stoch, S.A., Steinberg, H.O. & Kelley, D.E. (2016). Linearity of β -cell response across the metabolic spectrum and to pharmacology: insights from a graded glucose infusion-based investigation series. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 310 (11), E865–E873. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00527.2015>
- Ström, L., Bröjer, J. & Ekestén, B. (2020). Variability, repeatability and test-retest reliability of equine flash visual evoked potentials (FVEPs). *BMC Veterinary Research*, 16 (1), 261. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02463-8>
- Szablewski, L. (2011). *Glucose Homeostasis and Insulin Resistance*. SAIF Zone, United Arab Emirates: Bentham Science Publishers. <http://ebookcentral.proquest.com/lib/slub-ebooks/detail.action?docID=864323> [2021-11-11]

- Treiber, K.H., Kronfeld, D.S., Hess, T.M., Byrd, B.M., Splan, R.K. & Staniar, W.B. (2006). Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional risk factors for pasture-associated laminitis in ponies. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228 (10), 1538–1545. <https://doi.org/10.2460/javma.228.10.1538>
- Truelsen Lindåse, S. (2017). *Insulin sensitivity and postprandial insulin response in equines*. Diss. Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet. <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-e-4457> [2021-09-29]
- Yang, C.-C., Lin, J.-D., Kuo, K.-L., Wu, C.-Z., Li, J.-C., Hung, Y.-J., Wang, T.-F., Lee, C.-H., Kuo, S.-W. & Pei, D. (2007). The comparison of second phase insulin secretion in patients treated with repaglinide or gliclazide. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 1 (1), 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2006.11.006>

Populärvetenskaplig sammanfattning

Ekvint metabolt syndrom (EMS) är en sjukdom som kan drabba hästar och som kan öka risken för att utveckla fång. Sjukdomen innebär bland annat att hästen har svårt att styra nivån av insulin i blodet. Insulin är ett hormon som produceras i speciella celler, så kallade β -celler, i bukspottskörteln. Insulin har som främsta uppgift i kroppen att hålla blodsockret på en stabil nivå. Detta sker genom att insulin påverkar cellerna i kroppen så att de tar socker från blodet in i cellerna. Insulinnivåerna i kroppen styrs i huvudsak av hur mycket socker som cirkulerar i blodet. Ibland sker dock förändringar i kroppen som gör att insulinnivåerna blir rubbade. En vanlig orsak är att kroppens vävnader inte reagerar lika bra på insulin som de ska, och därför inte plockar upp lika mycket socker. Kroppen kompenserar då genom att skicka ut mer insulin, för att blodsockernivån ska hållas på en frisk nivå.

När denna förändring händer hos människor är det vanligt att β -cellerna inte klarar av att producera stora mängder insulin under en längre tid, vilket gör att blodsockret inte längre kan hållas stabilt. En sådan patient utvecklar då diabetes typ 2. Hästar å andra sidan är bra på att producera stora mängder insulin. Problemet är dock att för mycket insulin i blodet kan vara giftigt. I studier har man sett att just höga halter av insulin i blodet är kopplat till en ökad risk för fång. Fång är en sjukdom som innebär att benet i hoven lossnar från hovens yttre hårda skydd, vilket gör att benet kan flytta på sig, och ge upphov till smärta. Fång är en allvarlig sjukdom, som det kan ta lång tid att bli frisk från, och har en häst haft fång tidigare är det större sannolikhet att den får fång igen. Det är därför viktigt att hästar som har EMS får hjälp med att hålla nere mängden insulin i kroppen.

För att kunna avgöra om en häst lider av EMS är det viktigt att ha bra metoder för att mäta hur β -cellerna fungerar. En sjuk häst har β -celler som tillverkar mer insulin än en frisk häst, trots att de har lika höga blodsockernivåer. I denna studie undersöktes hur bra en särskild mätmetod fungerar på hästar. Metoden heter *graded glucose infusion*, eller GGI, och går ut på att hästen får ett dropp med sockerlösning med glukos in i blodet under en viss tid, i detta fall fyra timmar. Hastigheten på droppet ökar med regelbundna intervaller, så att glukosmängden i kroppen ökar. För att se hur mycket insulin som tillverkas och utsöndras tas blodprover ofta. Proverna analyseras för både insulin och glukos, så att man kan se hur mycket

insulin som kroppen släpper ut, i förhållande till hur mycket socker som finns i blodet. På så sätt har man ett mått för hur β -cellerna fungerar. Syftet med denna studie var att se om denna metod var tillförlitlig, det vill säga om man får samma resultat på testet om man upprepar det under samma förutsättningar. I detta fall gjordes testet på åtta hästar vid två tillfällen, och då kunde man jämföra om de värden som man fick för en häst skilde sig åt mellan de två tillfällena. Resultatet visar att denna metod är tillförlitlig för att bedöma β -cellernas funktion. Den kräver dock mycket material och tid, och kan vara bättre lämpad att använda i forsknings-sammanhang.