

Slutrapport Stiftelsen Svensk Hästforskning, projektnr. H-14-47-020

Introduktion

Högt blodtryck (hypertension) är starkt förknippat med insulinresistens (IR) hos människa, och är en av de mest framträdande komponenterna i metabolt syndrom. Insulinresistens och hyperinsulinemi är vanligt förekommande hos häst och sannolikt den viktigaste orsaken till uppkomsten av endokrin fång. Insulinresistens och/eller hyperinsulinemi kallas generellt insulindysregulation (ID) och det är den term som kommer användas avseende hästarna härnäst i texten. Det verkar dock inte finnas ett lika tydligt samband mellan ID och hypertension hos häst som hos människa då man i en nyligen publicerad studie inte sett någon skillnad i viloblodtryck mellan hästar med ekvint metabolt syndrom (EMS) och friska kontroller. Det finns dock en annan studie där man sett att ponnyer med en tidigare historia av fång får högre blodtryck under våren och att detta är associerat med ökad IR. Det verkar därför som att hästar med ID har kardiovaskulära förändringar, även om de inte är lika tydliga som hos människa.

Insulin har flera viktiga kardiovaskulära effekter, utöver att vara ett metabolt hormon. Bland annat bidrar det till reglera blodtrycket under normala förhållanden. Studier på människa har visat att administrering av insulin sänker det systemiska blodtrycket samt orsakar vasodilatation (genom frisättning av NO) hos både insulinresistenta samt insulinkänsliga individer. Däremot verkar individer med IR svara annorlunda på insulin då de har en hämmad kärldilatation perifert vilket ger en mindre uttalad blodtryckssänkning jämfört med personer med normal insulinkänslighet.

Det faktum att hypertension i vila inte är ett utmärkande drag hos hästar med EMS utesluter inte de har kardiovaskulära förändringar som kan ha klinisk betydelse, t.ex. vid uppkomsten av fång. Det är därför viktigt att studera hur blodtrycket och den perifera cirkulationen påverkas av förhöjda koncentrationer av insulin och på så sätt studera eventuella skillnader i blodtrycksreglering mellan ID hästar och kontroller. Studiens syfte var därför att undersöka det perifera blodflödet och kärlfunktionen hos insulinresistenta hästar med tidigare historia av fång och friska kontroller under fasta samt under inducerad hyperinsulinemi.

Material och metoder

Projektet startade under hösten 2015 genom rekrytering av hästar med ID. För att bli inkluderad i studien skulle ID hästarna ha haft minst en episod av fång men inte pågående fång. De skulle också ha genomgått ett oralt sockertolerans (OST) test i fält och ha ett plasma insulin svar $>80 \mu\text{IU/mL}$, baserat på ett singelblodprov som tagit ute i fält 60 – 90 min efter sockergivan. OST testet har tidigare validerats av vår grupp. Kontrollhästarna rekryterades från Wången och bestod av friska Gotlandsponnyer samt Islandshästar utan någon historia av fång och som genomgått ett OST där plasma insulinsvaret var $<45 \mu\text{IU/mL}$. Blodprovet togs vid samma tidpunkt som för ID hästarna. Kontrollhästarna skulle också ha ett body condition score, $\text{BCS} \leq 6$ och cresty neck score, $\text{CNS} \leq 2.5$. Samtliga hästar skulle ha normala värden avseende plasma ACTH.

ID hästarna undersöktes på UDS i Uppsala medan kontrollerna på Wången. Hästarna försågs med intravenösa katetrar och dagen efter detta genomgick de ytterligare en OST i syfte att kontrollera β -cell responsen mer utförligt genom upprepad blodprovstagning. Samtliga hästar undersöktes sedan avseende på markörer för hjärtkärlfunktion (EKG, blodtryck, kärlmarkörer samt hovtemperatur) före och efter en standardiserad insulininfusion, en Euglykemisk hyperinsulinemisk clamp (EHC). Denna EHC utfördes dagen efter OST:n.

Analys av blodprover med avseende på markörer för metabolism (insulin samt glukos) skedde kontinuerligt under studien medan analys av blod med avseende på kardiovaskulära markörer (kväveoxid samt endotelin) skedde vid senare tillfälle.

Resultat

Hästar (Tabell 1)

Totalt uppfyllde 16 hästar (9 Islandshästar, 1 Fjordhäst, 6 ponnyer) och 12 hästar (6 Islandshästar och 6 Gotlandsruss) inklusionskriterierna för ID respektive kontroller (Tabell 1). ID hästarna var äldre och hade högre BCS och CNS jämfört med kontrollerna.

Insulinkänslighet och β -cell svar (Tabell 1)

Samtliga ID hästar hade plasma peak insulin koncentrationer som överskred $80 \mu\text{IU/mL}$ och alla kontroller låg under gränsvärdet $45 \mu\text{IU/mL}$. ID hästarna hade 4 gånger lägre

medianvärden för SI_{CLAMP} (ett mått för insulinkänsligheten under steady state, där ett lågt värde innebär lägre insulinkänslighet) jämfört med kontrollerna. Detta visar att ID hästarna hade uttalad IR. De hade också en markant högre β -cell respons på OST:n jämfört med kontrollerna.

Hjärtfrekvens och blodtryck (Tabell 2 och Fig. 1)

Hästar med ID hade signifikant högre vilohjärtfrekvens jämfört med kontrollerna vilket är i linje med vad man sett i tidigare studier. Det var ingen skillnad i viloblodtryck mellan grupperna (Tabell 2). Blodtrycket sjönk gradvis hos kontrollgruppen under EHC:n men denna sänkning sågs inte hos IR gruppen (Fig. 1)

Blodflödesmätning

Den mätmetod vi använde för att mäta blodflödet visade vara tekniskt svår att hantera och gav väldigt varierande resultat med stora individuella variationer. Därav vågar vi inte dra några slutsatser av de mätningar som utfördes.

Hovtemperatur (Fig.2)

Det förelåg ingen skillnad i hovtemperatur mellan grupperna innan insulininfusionen. Under insulininfusionen steg hovtemperaturen hos ID hästarna medan den sjönk hos kontrollerna.

Kärlmarkörer (Fig. 3 NO)

Det förelåg ingen skillnad i plasma endotelin eller NO mellan grupperna initialt. Plasma endotelin var oförändrat under insulininfusionen i bägge grupperna medan NO sjönk under insulininfusionen hos hästar med ID.

Kommentarer till resultaten

Denna studie visar att hästar med ID har högre hjärtfrekvens i vila samt ett förändrat blodtryckssvar svar (ingen sänkning) vid hyperinsulinemi. Detta överensstämmer med resultat från en tidigare studie från vår grupp där vi såg ett samband mellan insulinkänslighet och graden av blodtryckssänkning under insulininfusion.

Vilken mekanism som ligger bakom det förändrade blodtryckssvaret kan inte besvaras med denna studie, men det finns sannolikt flera faktorer som bidrar. ID hästarna i denna studie var feta och det är välkänt att fetma kan bidra till hypertension hos människa. Detta sammanhang är inte lika tydligt hos häst men det verkar som att vissa raser är mer predisponerade att utveckla insulinresistens när de blir feta. I en opublicerad studie från vår grupp där vi gjorde travhästar, en ras som inte är predisponerad att utveckla ID, feta med en kolhydratfattig kost såg vi att blodtrycket steg i takt med viktuppgången trots normal insulinkänslighet. Detta tyder på att det inte enbart är ID som har effekt på blodtrycket utan fetman i sig.

De främsta faktorerna för uppkomsten av fetmainducerad hypertension hos människa är insulinresistens till följd av inflammation i fettväven, aktivering av renin-angiotensin-aldosteron systemet samt ett ökat sympatiskuspåslag. In vivo studier på människa och djur har visat att IR och hyperinsulinemi kan öka sympatikustonus genom att stimulera frisättningen av noradrenalin vilket skulle kunna förklara den förhöjda vilohjärtfrekvensen hos ID hästarna i denna studie. Studier har visat att under IR och hyperinsulinemiska förhållanden så är svaret på acetylkolin och kväveoxid (NO) nedsatt i kärlbädden medan den stimulerande effekten på endothelin och noradrenalin kvarstår vilket ger upphov till vasokonstriktion och hypertension. Med detta som bakgrund så är det sannolikt att den förändrade respons vi ser i blodtrycket under insulininfusionen hos ID hästarna i denna studie är relaterad till ett ökat sympatiskuspåslag med vasokonstriktion och därmed en ökning av det perifera motståndet i kärlbädden som följd. Det går dock inte att utesluta att dessa hästar även har en nedsatt endotelfunktion baserat på resultatet att ID hästarna uppvisade lägre NO koncentrationer under insulininfusionen. Vad gäller endotelinkoncentrationerna tenderade de att stiga men de individuella variationerna i endotelin var så pass stora att det är svårt att dra några slutsatser av detta.

Trots indikationerna på en ökad systemisk vasokonstriktion sågs en ökning av det perifera blodflödet till hoven under insulininfusion hos ID hästarna medan kontrollgruppen sjönk i hovtemperatur. Detta är i enighet med resultat från andra studier där man sett en ökad hovtemperatur hos friska hästar som utsätts för hyperinsulinemi och sedan utvecklar fång.

Det verkar som att trots att den systemiska responsen är påverkad hos hästar med ID så påverkar det inte blodflödet till hoven. Det är möjligt att cirkulationen till hoven är så fundamental att den till varje pris vidmakthålls och att trots systemisk vasokonstriktion. Vi kan däremot inte förklara varför kontrollhästarna gick ned i hovtemperatur i detta läge.

Sammanfattningsvis bidrar resultaten från denna studie till att stärka bevisen för att hästar med ID har en systemiskt påverkad cirkulation som tyder på vasokonstriktion men att cirkulationen till hoven inte verkar att påverkas. Genom att vi är medvetna om att hästar med ID har kardiovaskulära förändringar som påverkar blodtrycket är det inte uteslutet att detta kan vara en faktor som bidrar till uppkomsten av fång. Det är för tidigt att säga om insulinresistenta hästar i och med sitt ökade stresspåslag och förändrade blodtryck kan vara en riskgrupp vid olika typer av behandlingar, ex. vid medicinering och narkos.

Table 1: Comparison of control horses and insulin dysregulated horses for physical data, measurements from the oral sugar test (OST) and derived indices from the euglycemic hyperinsulinemic clamp (EHC). Data are reported as mean \pm s.d. or median (IQR).

Characteristic	Control (n = 12)	ID (n = 16)	P value
Age (years)	7.9 ± 3.0	13.4 ± 4.9	P=0.001
Body weight (kg)	344 (296 – 385)	392 (332 – 413)	P=0.086
Body condition score (1–9)	5.5 (5 – 5.5)	7.25 (5.5 – 8.0)	P=0.0003
Cresty neck score (0–5)	2.25 (2 – 2.5)	4.0 (3.5 – 4.0)	P=0.0003
OST			
P-glucose before (μIU/mL)	4.8 ± 0.3	5.6 ± 0.5	P<0.0001
P-insulin before (mmol/L)	3.7 (2.5 – 6.2)	38.6 (23.4 – 57.3)	P<0.0001
Peak _{GLU} (mmol/L)	7.4 ± 1.1	7.6 ± 1.1	P=0.69
Peak _{INS} (μIU/mL)	26.0 (17.6 – 31.7)	185.0 (125.8 – 326.1)	P<0.0001
AUC _{GLU} (mmol/L • min)	198 ± 87	212 ± 93	P=0.69
AUC _{INS} (μIU/mL • min)	1896 (1235 – 2244)	16,019 (10,837 – 30,528)	P<0.0001
EHC			
Insulin ₁₂₀₋₁₈₀ (μIU/mL)	546.9 (465.9 – 626.9)	755.6 (641 – 886)	P=0.002
SI _{CLAMP} ([mg/kg/min • 10 ⁴]/ [μIU/mL • mmol/L])	1.39 (1.17 – 1.64)	0.32 (0.25 – 0.37)	P<0.0001

Peak_{GLU}: peak glucose concentration; Peak_{INS}: peak insulin concentration; AUC_{GLU}: area under the curve for glucose; AUC_{INS}: area under the curve for insulin; Insulin₁₂₀₋₁₈₀: Mean insulin concentration during steady-state; SI_{CLAMP}: Insulin sensitivity derived from the EHC.

Table 2: Measures of blood pressure (BP) and heart rate (HR) in control horses and in horses with insulin dysregulation (ID). Data are reported as mean ± s.d. or median (IQR).

Variable	Control (n = 12)	ID (n = 16)	P value
-----------------	-----------------------------	------------------------	----------------

Systolic BP (mm Hg)	113.9 ± 9.5	110.5 ± 13.8	P=0.45
Diastolic BP (mm Hg)	68.3 (64.3 – 70.6)	63.8 (58.3 – 70.0)	P=0.13
Mean BP (mm Hg)	85.8 ± 7.7	79.3 ± 10.6	P=0.08
HR (beats/min)	30.3 ± 3.5	35.6 ± 5.1	P=0.003

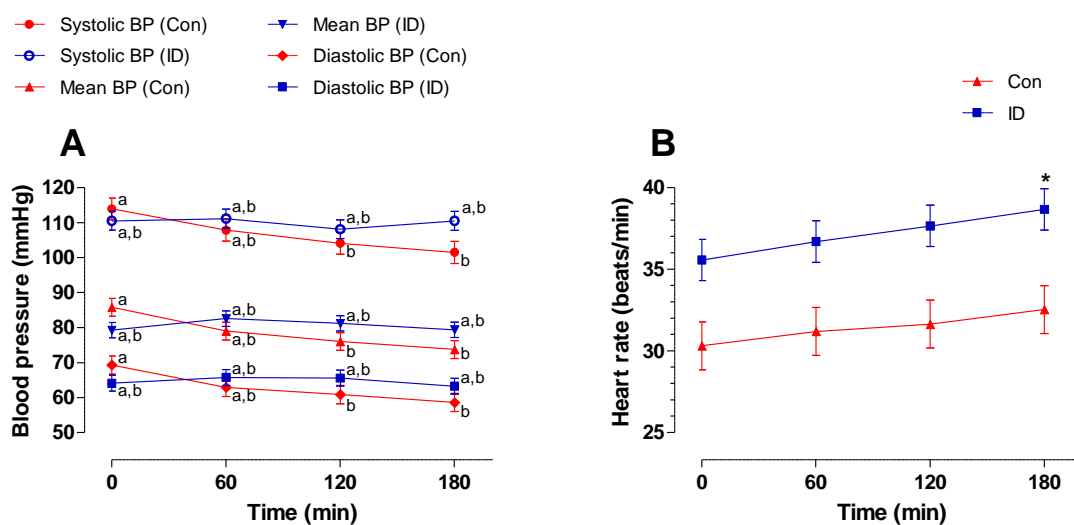


Figure 1:

Blood pressure (A) and heart rate (B) during a eulycemic hyperinsulinemic clamp in horses with insulin dysregulation (ID) and in control horses (Con). Values are reported as least square means ± SEM. ^{a,b,c} Values with different superscript letters differ between time points (0, 60, 120 and 180 minutes) and between group of horses (ID vs Con) for systolic, mean or diastolic blood pressure (BP) respectively. *Within group of horses value differs significantly from baseline. (P < 0.05)

Fig 2.

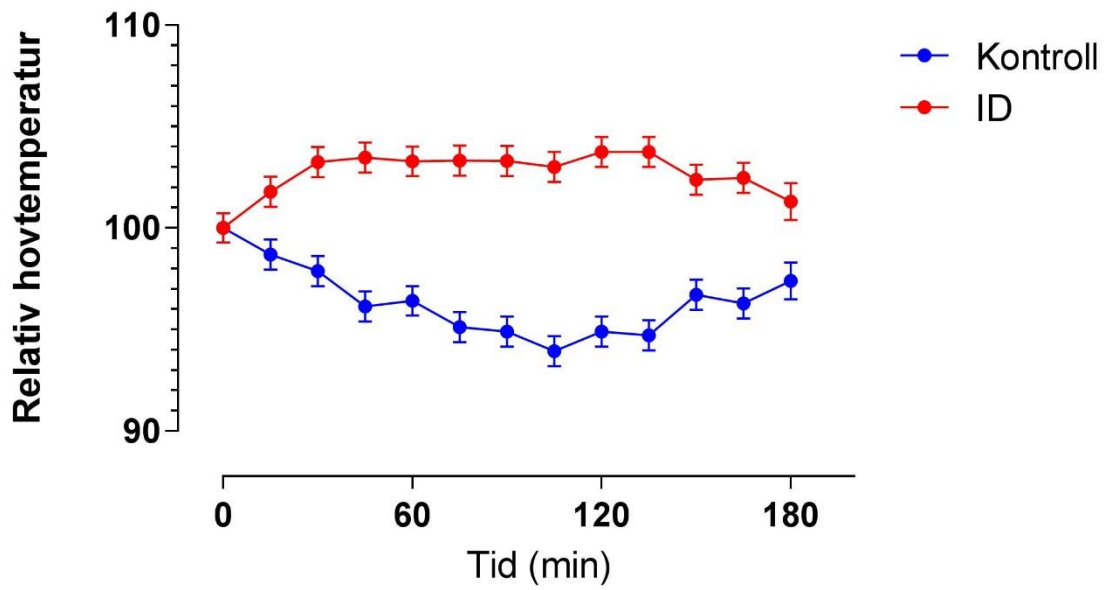
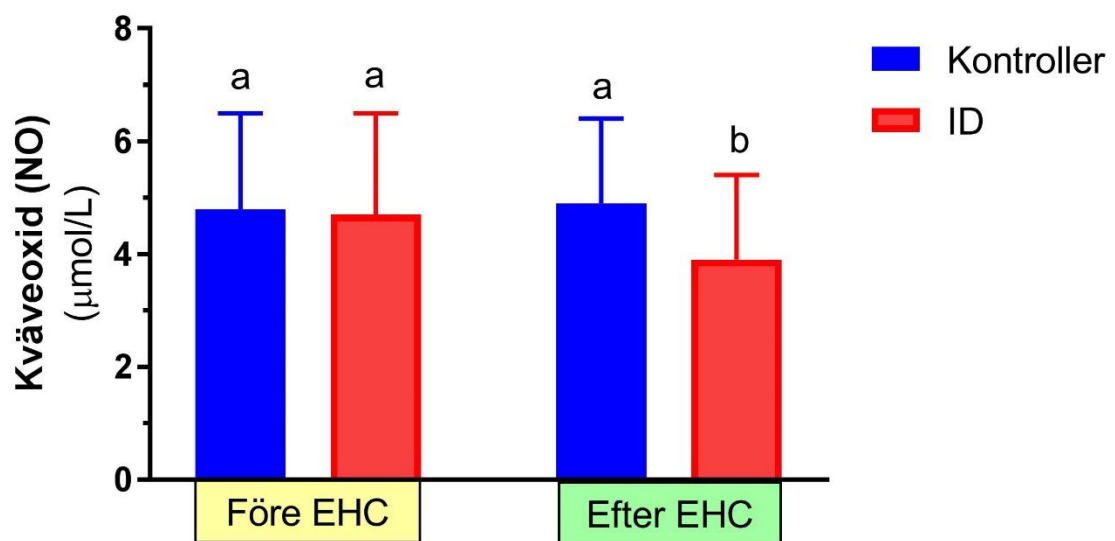


Fig. 2 Relativ hovtemperatur i % samt SEM för hästar med ID och kontrollhästar.

Fig. 3



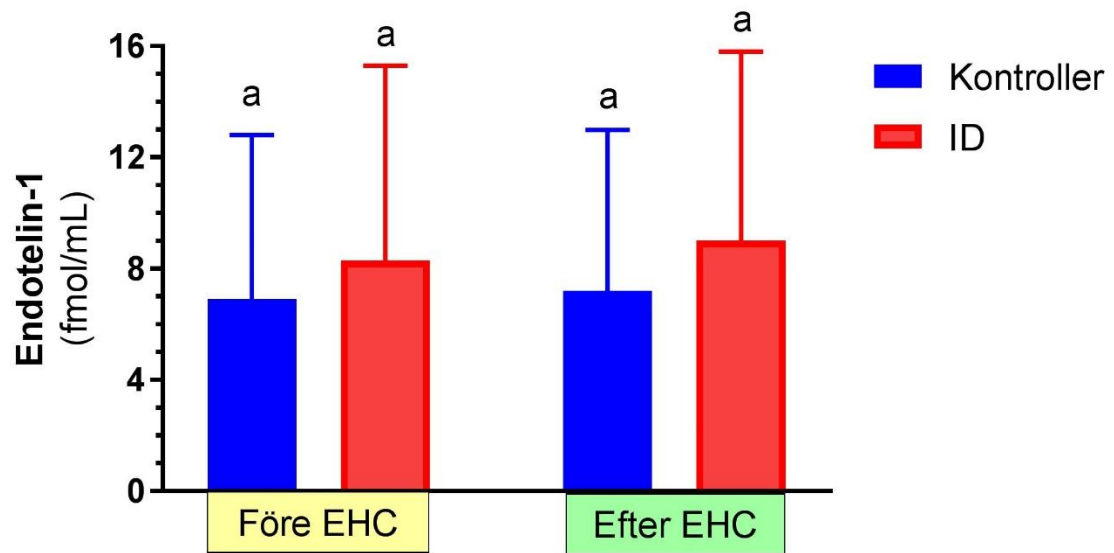


Fig 3. Medelvärden +/- SD för plasma kväveoxid (NO) i $\mu\text{mol/L}$ samt endotelin i fmol/mL hos friska kontroller samt hästar med insulin dysregulation (ID) före och efter en euglykemisk hyperinsulinemisk clamp (EHC)

