



1 Einleitung

Das Equine Metabolische Syndrom (EMS) ist ein durch Obesitas, Hyperinsulinämie (HI) und eine Prädisposition für Hufrehe gekennzeichnete Symptomkomplex bei Pferden (FRANK et al. 2010, MORGAN et al. 2015, BERTIN und DE LAAT 2017). Besonders die Hufrehe ist eine sehr schmerzhaft und schwerwiegende Erkrankung, deren Folgen für das Pferd zum Teil letal sind und für den Besitzer mit schweren wirtschaftlichen Einbußen einher gehen (KARIKOSKI et al. 2011). Die beste momentan verfügbare Therapie besteht in einer Anpassung der Fütterung (MORGAN et al. 2016). Eine abgesicherte Diagnose erhöht hierbei die Kooperationsbereitschaft der Besitzer. Zur Diagnostik stehen eine Vielzahl an intravenösen und oralen Tests zur Verfügung (DE LAAT und SILLENCE 2016, DUNBAR et al. 2016, SMITH et al. 2016, BERTIN und DE LAAT 2017). Die intravenösen Tests, die lange als Goldstandard galten, verlieren aufgrund ihrer hohen Anforderungen an das vorhandene Equipment und der fehlenden Berücksichtigung der enteroinsularen Achse in der Diagnostik von EMS an Bedeutung (SMITH et al. 2016, BERTIN und DE LAAT 2017). Orale Tests können mittels Fütterung (in-feed OGT) (DE LAAT und SILLENCE 2016) oder per oraler Spritze (OST) durchgeführt werden (KNOWLES et al. 2016). Häufig wird jedoch für die oralen Glukosetoleranztests das Legen einer Magensonde (MS) nötig, da Pferde die verwendete Menge von 1g Glukose/ kg Körpergewicht (KGW) nicht zuverlässig aufnehmen (DE LAAT und SILLENCE 2016). Durch die Glukoseeinnahme und die dadurch provozierte kurzfristige HI kann es zu einer Verschlechterung des gesundheitlichen Zustandes kommen, da Hufrehe in experimentellen Studien durch eine HI induziert werden konnte (ASPLIN et al. 2007, DE LAAT et al. 2010a).

Das Ziel dieser Arbeit war es, zu ermitteln, ob zwei im Vergleich zum üblichen oralen Glukosetoleranz-Test (OGT: 1g/kg KGW) niedrigere Dosierungen der Glukose (low-dosed OGT (LOGT): 0,25g/ kg KGW und medium-dosed OGT (MOGT): 0,5g/ kg KGW) eine vergleichbare Aussagekraft in Hinblick auf die Diagnostik haben.



In diesem Fall könnte das Risiko einer Hufrehe durch eine kleinere Glukosemenge reduziert und diese dann auch ohne MS, zum Beispiel durch eine Spritze ins Maul verabreicht werden.



2 Literaturübersicht

2.1 Ernährungsphysiologie der Equiden

Die Gattung der Equiden hat während der Evolution eine spezielle Ernährungsphysiologie entwickelt. Als ausschließliche Herbivoren sind sie in freier Wildbahn den größten Teil des Tages mit kontinuierlicher Futteraufnahme beschäftigt, um große Mengen Futter mit hohem Rohfaseranteil aufzunehmen, welcher mit Hilfe von Mikroorganismen aufgeschlossen wird (CUMMINGS und MACFARLANE 1997, SOJKA-KRITCHEVSKY und JOHNSON 2014). Auf die Verdauung von Nicht-Struktur-Kohlenhydraten (NSK) wie Glukose sind Pferde aufgrund des sehr begrenzten Vorkommens dieser in ihrer natürlichen Nahrungsgrundlage hingegen wenig eingestellt. Bei Robustrassen handelt es sich um Pferde und insbesondere Ponys, die Gene tragen, welche es ihnen ermöglichen, auch bei knappen Nahrungsressourcen und widrigen Witterungsverhältnissen durch eine besonders effektive Nutzung der vorhandenen Energie zu überleben (TREIBER et al. 2006b). Diese beinhalten u.a. eine Insulinresistenz (IR), die das Anlegen von Körperfettdepots für Hungerperioden ermöglicht (JOHNSON et al. 2013). Durch eine Versorgung durch den Menschen kommt es aber beim domestizierten Pferd auch im Winter zu keinen energetischen Engpässen, wodurch die IR ihren physiologischen Nutzen verloren hat und zum gesundheitlichen Problem werden kann. Andere Pferdetypen wie z.B. Warmblüter, die sich schon viel länger unter der züchterischen Beeinflussung und Fürsorge des Menschen befinden und für die der Erhalt dieser Gene weder gewünscht noch länger lebensnotwendig war, neigen weniger zu Problemen mit IR (BAMFORD et al. 2014).



2.2 Glukosehomöostase

Bei allen Säugetieren wird Glukose als obligater Energielieferant für lebenswichtige Organe in engen Grenzen reguliert (RALSTON 2002).

2.2.1 Resorption von Glukose aus dem Gastrointestinaltrakt

Beim Pferd findet die Glukoseabsorption vor allem im Dünndarm statt (ROBERTS 1975). Die Aufnahme geschieht über zwei insulinunabhängige Transporter: auf der luminalen Seite der Zellen des Darmepithels durch den „sodium dependent glucose cotransporter 1“ (SGLT1) und auf der basalen Seite durch den „glucose transporter 2“ (GLUT2) (SHIRAZI-BEECHEY 1995). Da Pferde bei natürlicher Ernährung nur einen geringen Anteil an Nicht-Struktur-Kohlenhydraten (NSK) aufnehmen, sind intraluminale Enzyme zur Stärke-Verdauung und die Glukosetransporter nur in kleiner Anzahl vorhanden (RICHARDS et al. 2004). Werden über längere Zeit kohlenhydratreiche Futterkonzentrate gefüttert, nimmt die Anzahl an Glukose-Transportern insbesondere im Jejunum und Ileum von Pferden zu (SHIRAZI-BEECHEY 1996, DYER et al. 2009).

Aus der Humanmedizin ist bekannt, dass eine hohe Viskosität des Chymus sowie eine gleichmäßige Verteilung der Mahlzeiten über den Tag die Glukoseresorption verringern (JENKINS 1997). Obesitas hingegen führt zu einer gesteigerten Glukoseresorption durch eine höhere Expression von SGLT1 im Darm (NGUYEN et al. 2015). Zusätzlich können laut mehrerer Autoren bei hohem Glukosegehalt im Darmlumen die normalerweise nur basolateral vorliegenden GLUT2s auch in die apikale Seite eingebaut werden, um die Glukoseaufnahme zu unterstützen (KELLETT und HELLIWELL 2000, MACE et al. 2007). Da die Richtung des Glukosetransports von GLUT2 jedoch konzentrationsabhängig ist, hängt die Nettoaufnahme letztlich von den basolateralen GLUT2s ab (WRIGHT et al. 2003). Die Konzentrationsabhängigkeit wird jedoch von anderen Autoren bezweifelt (DYER et al. 2009, NGUYEN et al. 2015). Inwieweit diese Theorien auch auf das Pferd zutreffen, ist bisher unbekannt.



2.2.2. Beeinflussung der Verteilung von Glukose

Für die Verteilung der absorbierten Glukose sind hauptsächlich zwei Hormone aus dem Pankreas verantwortlich, Insulin und Glukagon. Das Pankreas besteht aus einem exokrinen Teil, der Enzyme zur Spaltung der Nahrung synthetisiert, und den Langerhans-Inseln. Die Langerhans-Inseln stellen den endokrinen Teil des Pankreas dar. In ihnen befinden sich verschiedene Zelltypen, u.a. die β -Zellen, die für die Synthese des Insulins verantwortlich sind (EBERHARD und LAMMERT 2009). In den α -Zellen wird Glukagon, in den PP-Zellen das pankreatische Peptid und in den ϵ -Zellen Ghrelin produziert (FORSSMANN 1976). Außerdem sind δ -Zellen vorhanden, die Somatostatin produzieren, welches die Insulinsekretion vermindert und die Nahrungsaufnahme reduziert (FURUOKA et al. 1989).

Insbesondere ein erhöhter Glukosespiegel im Blut verursacht eine Insulinsekretion. Wenn Aminosäuren in bestimmten Kombinationen auftreten, z.B. Alanin, Glycin und Leucin zusammen, können sie ebenfalls zu einer Insulinsekretion führen (FOWDEN 1997). Freie Fettsäuren an sich verursachen keine Insulinausschüttung, sie können aber in Kombination mit Glukose die Glukose-induzierte Insulinsekretion (GSIS) steigern (NOLAN und PRENTKI 2008). Auch durch Inkretine, die durch oral aufgenommene Glukose vom Darm ausgeschüttet werden, wird die Insulin-Sekretion stimuliert (IRWIN und PRENTICE 2011, DE LAAT et al. 2016a). In den β -Zellen entsteht zuerst Präproinsulin, ein Dipeptid, welches aus einer A-, einer B-, einer C-Kette sowie einem Signalmolekül besteht. Nach der Translokation in das endoplasmatische Retikulum entsteht durch Abspaltung des Signalmoleküls Proinsulin. Im Golgi-Apparat wird schließlich die C-Kette abgespalten und das Carboxylende der B-Kette nimmt die Gestalt an, mit der es später mit den Insulin-Rezeptoren interagieren kann (WILCOX 2005). Da dies erst in den später sezernierten Granula geschieht, werden Insulin und C-Peptid in äquivalenten Mengen ausgeschüttet und eine Messung von C-Peptid wurde auch beim Pferd bereits zur indirekten Messung von Insulin benutzt (TOTH et al. 2010). Die Insulinsekretion kann iatrogen durch Medikamente wie Xylazin oder Heparin



beeinflusst werden (OROSZ 1976, MOUSSY et al. 1988). Xylazin hat jedoch eine kurze Halbwertszeit von nur 50 min (GARCIA-VILLAR 1981).

Generell erhöht Insulin die Durchblutung peripherer Gewebe durch eine Steigerung der Stickstoffmonoxid-Produktion des Endothels (STEINBERG und BARON 2002) und ermöglicht dadurch die Glukoseaufnahme in diese Gewebe. Außerdem stoppt Insulin die Glykogenolyse und Glukoneogenese und fördert die Synthese von Glykogen in der Leber und den Muskeln, so dass die vorhandenen Speicher wieder aufgefüllt werden (DUBE et al. 2013). Nach einer Futteraufnahme steigt der Insulinspiegel bei vielen Spezies zuerst sprunghaft an, um dann nach einem Absinken eine zweite längere Sekretionsphase zu zeigen (PORTE und PUPO 1969). Dies wird auf das Vorhandensein von zwei Sekretionssystemen zurückgeführt, von denen das schnellere aus bereits fertig an der Membran vorliegendem Insulin besteht, das sofort sezerniert werden kann, während die Sekretion des langsameren Systems von der weiteren Insulinsynthese abhängig ist. Die zwei Phasen werden jedoch nur ersichtlich, wenn die Änderung des Glukosespiegels stark genug und schnell genug eintritt (GRODSKY 1972).

Es gibt verschiedene Rezeptoren, auf die Insulin wirken kann und diese sind in den Geweben des Körpers unterschiedlich verteilt. Es gibt zwei Isoformen des normalen Insulinrezeptors (I-Rez.), A (I-Rez.-A) und B (I-Rez.-B) (MOSTHAF et al. 1990), dann den Insulin-like-growth-factor-1-Rezeptor (IGF-1R) und schließlich eine Hybridform zwischen I-Rez. und IGF-1R. Das lamellare Gewebe der Pferdezehe hat am meisten Rezeptoren und ist das einzige, in dem zum größten Teil Zellen mit IGF-1R gefolgt von I-Rez.-A vorzufinden sind, während alle anderen untersuchten Gewebe Rezeptoren in geringerer Anzahl und gleichmäßigerer Verteilung der verschiedenen Typen aufweisen (BURNS et al. 2013, KULLMANN et al. 2016).

Glukagon wirkt als Gegenspieler zu Insulin im Hunger- oder Belastungszustand. Es fördert die Glykogenolyse und stoppt die Glukoseaufnahme im Gewebe, wenn sich der Blutglukosespiegel bereits im unteren tolerierbaren Bereich befindet (CAMPBELL und DRUCKER 2015).



Auch Hormone aus der Nebenniere beeinflussen den Glukosehaushalt. Die Katecholamine Epinephrin und Norepinephrin aus dem Nebennierenmark fördern besonders unter Belastung die Glykogenolyse und vermindern die Aufnahme von Glukose in die Zellen (MORRIS et al. 2010). Das u. a. bei Stress ausgeschüttete Glukokortikoid Kortisol aus der Zona fasciculata der Nebennierenrinde wirkt ebenfalls anti-hypoglykämisch, indem es Substrate für die Glukoneogenese mobilisiert (Proteinolyse, Lipolyse) und die Aufnahme von Glukose in die Zellen vermindert (MACHARG et al. 1985). Allerdings wurde dies in Studien vor allem für exogene Glukokortikoide nachgewiesen (FREESTONE et al. 1991).

Ein weiterer Antagonist des Insulins findet sich in der somatotropischen Achse, die aus dem Growth Hormone (GH) und den Insulin-like growth factors (IGF-1 und 2) besteht. Neben der primären Aufgabe des GH, die körperliche Entwicklung in heranwachsenden Individuen zu fördern, wirkt es vor allem bei Energiemangelzuständen lipolytisch (RENAVILLE et al. 2002) und trägt so zum Erhalt der Protein- und Glykogenspeicher bei. GH wird pulsatil ausgeschüttet und es konnte gezeigt werden, dass die Pulshäufigkeit, die Pulsamplitude und die durchschnittliche Konzentration bei normalerweise ad-libitum gefütterten Pferden im Hungerzustand zunehmen. Tägliche Injektionen von Growth Hormon resultieren in einer Hyperinsulinämie (RALSTON 2002).

Inwiefern die enteroinsulare Achse für die Glukoseaufnahme beim Pferd eine Bedeutung hat, wird in der Literatur zum Teil kontrovers beurteilt. Hierbei wird über sogenannte Inkretine die Insulinsekretion angeregt, was für den Menschen (YABE et al. 2010) und verschiedene andere Spezies nachgewiesen werden konnte. Inkretine wie GIP (glucose-dependent insulinotropic polypeptide) und GLP-1 (glucagon-like peptide 1) sind Hormone des Gastrointestinaltraktes und werden laut mehreren Studien (DUHLMEIER et al. 2001, DE GRAAF-ROELFSEMA 2014, DE LAAT et al. 2016a) von L- und K-Zellen des proximalen Dünndarms bzw. distalen Ileums und Colons auch beim Pferd sezerniert, wenn größere Mengen Zucker oral aufgenommen werden. Eine Studie konnte einen signifikanten Zusammenhang von erhöhtem GLP-1-Konzentrationen im Blut und erhöhten Insulinwerten feststellen



(BAMFORD et al. 2015). Ein anderer Autor hingegen kam zu dem Ergebnis, dass GLP-1 nach oraler Zuckeraufnahme eher sinkt und auch GIP beim Pferd nur einen deutlich geringeren Effekt auf die Insulinsekretion hat als beim Menschen (DE LAAT et al. 2016a).

2.2.3 Speicherung und Ausscheidung von Glukose

Glukose wird intrazellulär in Muskeln und der Leber in Form von Glykogen gespeichert (ROACH et al. 2012). Zur Aufnahme der Glukose in die Zellen ist es notwendig, dass sie über GLUTs transportiert wird. Diese liegen in einem intrazellulären Pool vor und werden bei Bedarf, der durch das Binden von Insulin an Rezeptoren oder durch die Kontraktion von Muskeln signalisiert wird, an die Zellmembran transportiert (THORENS und MUECKLER 2010).

Nach einer Phosphorylierung von Glukose katalysiert die Glykogen-Synthase 3 (GS3) in mehreren Schritten die Herstellung von Glykogen. Sie wird durch einen hohen intrazellulären Gehalt an Glukose-6-Phosphat und insulin- oder arbeitsbedingte Dephosphorylierung stimuliert. Insulin aktiviert dabei die Protein Kinase B (PKB), welche wiederum die Glykogen-Synthase-Kinase-3 inaktiviert, wodurch die GS3 weiterhin Glykogen synthetisieren kann (PATEL et al. 2008). Hohe Glykogenspeicher hingegen hemmen die GS3.

Glukose wird vollständig in den *Glomerula* der Nieren filtriert und dann im proximalen *Tubulus* über SGLT1 und SGLT2 reabsorbiert. SGLT2 hat eine geringere Affinität aber eine hohe Kapazität und leistet hierbei den größten Teil, während SGLT1 durch seine höhere Affinität weiter distal die verbliebenen Glukose-Reste absorbiert (SANTER und CALADO 2010). Sind diese beiden Transporter gesättigt, was bei einer Blutglukosekonzentration von mehr als 1,8 g/l geschieht, so wird der Rest über den Urin ausgeschieden (BRODEHL et al. 1987).



2.3 Das Equine Metabolische Syndrom

Das Equine Metabolische Syndrom (EMS) ist ein Symptomkomplex, der aus einer Adipositas, einer Hyperinsulinämie (HI) und einer Prädisposition für Hufrehe besteht (FRANK et al. 2010, FRANK und TADROS 2014, MORGAN et al. 2015). Die betroffenen Pferde können außerdem mit einer Hypertriglyzerid-, einer Hyperleptinämie, arterieller Hypertension, Myokardhypertrophie und veränderten Reproduktionszyklen auffallen (CARTMILL et al. 2003, VICK et al. 2006, BAILEY et al. 2008, PLEASANT et al. 2013, HELICZER et al. 2017).

2.3.1 Adipositas

Die Adipositas kann generalisiert oder lokal begrenzt am Mähnenkamm, der Kruppe, am Schweifansatz und an anderen Körperregionen auftreten. Zur genaueren Klassifizierung der Körperkonstitution werden hierbei das Body Condition Score (BCS)-System (HENNEKE et al. 1983) und der Cresty Neck Index (CNI) verwendet (CARTER et al. 2009a). Der BCS nach HENNEKE et al. (1993) umfasst eine 9-Punkte-Skala, auf der 1 für „kachektisch“ und 9 für „hochgradig adipös“ steht. Pferde mit einer Körperkonstitution von 4 bis 6 Punkten gelten als normalgewichtig. Bewertet werden hierbei sechs verschiedene Körperregionen, u.a. die Rippen, die Schulter und die Rückenlinie durch Adspektion und Palpation. Der CNI beurteilt die Ausprägung der regionalen Fettdepots am Hals mit einer Skala von 0 bis 5. Die fokale Fettakkumulation korreliert stärker mit einem Erkrankungsrisiko an EMS als eine generalisierte Fettleibigkeit (CARTER et al. 2009a, BRUYNSTEEN et al. 2013). So ist bei Pferden der Rasse Pura Raza Español (PRE) eine Neigung zu einem Cresty Neck bekannt und gleichzeitig die Insulinsensitivität niedriger als bei Trabern (SANCHEZ et al. 2017). Bei einem BCS von mehr als 7 oder einem CNI von vier oder mehr besteht für das Pferd ein hohes Risiko an Hufrehe zu erkranken (CARTER et al. 2009a), die durch eine Hyperinsulinämie ausgelöst werden kann (ASPLIN et al. 2007, DE LAAT et al. 2010b).

Aus der Humanmedizin ist bekannt, dass auch eine „metabolisch gesunde Obesitas“ (MHO) sowie ein „normal-weight and metabolically obese“-Phänotyp vorkommt



(WILDMAN et al. 2008, ROMERO-CORRAL et al. 2010). Auch beim Pferd gibt es Studien, die keine Abnahme der IS durch Obesitas feststellen konnten (BAMFORD et al. 2016).

2.3.2 Hyperinsulinämie

Die HI kann als Kompensation einer reduzierten Insulinsensitivität (IS) (MORGAN et al. 2015) oder aufgrund einer Insulindysregulation (ID) auftreten, deren Ursache in der enteroinsularen Achse liegt und keine Insulinresistenz der peripheren Gewebe beinhalten muss (DE LAAT et al. 2016a, BERTIN und DE LAAT 2017).

Durch hochenergetisches Futter in Kombination mit zu wenig körperlicher Arbeit und ständigem Witterungsschutz entsteht eine andauernde und zu stark positive Energiebilanz. Die daraus resultierende Zunahme von Fettdepots führt zu einer Abnahme der Insulinsensitivität, so dass das Gewebe nicht mehr angemessen auf den Insulinstimulus reagiert (VICK et al. 2007). Die Prävalenz adipöser Pferde ist zunehmend und kann in einzelnen Subpopulationen zwischen 19% und 45% betragen (THATCHER et al. 2008, WYSE et al. 2008). Die genauen Pathomechanismen, die von der Adipositas zur IR führen, sind beim Pferd relativ unbekannt (FRANK et al. 2010, BERTIN und DE LAAT 2017). Bei Menschen und Mäusen konnte eine Adipositas durch eine systemische Entzündungsreaktion mit einer IR der peripheren Gewebe in Verbindung gebracht werden (ESSER et al. 2014). Beim Pferd konnte ebenfalls ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Gehalt von aus dem Fettgewebe freigesetzten Entzündungsmediatoren im Blut und einer herabgesetzten Insulinsensitivität gezeigt werden (VICK et al. 2007, BASINSKA et al. 2015). Während eines OGTs durchlaufen Pferde ebenfalls einen proinflammatorischen metabolischen Zustand (KENEZ et al. 2018). Auch Zytokine aus dem Fettgewebe spielen hierbei eine Rolle. Adiponectin, ein physiologischerweise die Insulinsensitivität steigerndes Adipozytokin, wird bei zunehmendem Übergewicht weniger sezerniert (BAMFORD et al. 2016). Das ebenfalls aus Adipozyten stammende Leptin steigt proportional zum Körperfettanteil und stimuliert die Lipolyse (BUFF et al. 2002, KEARNS et al. 2006). Die dadurch freigesetzten Metaboliten führen über die Aktivierung verschiedener Kinasen und