

1 Einleitung

Die Insulindysregulation (ID) der Equiden hat innerhalb der letzten Jahre stark an Bedeutung gewonnen. Als potentielle Ursache einer endokrinopathischen Hufrehe im Rahmen von Stoffwechselerkrankungen wie der Pituitary Pars Intermedia Dysfunction (PPID) und dem Equinen Metabolischen Syndrom (EMS) spielt die ID eine wesentliche Rolle in der präventiven Diagnostik (MORGAN et al., 2014). Inzwischen sind prognostische Zusammenhänge zwischen einer vorliegenden ID und einem damit einhergehenden Risiko einer weiteren Stoffwechselerkrankung nachgewiesen (MEIER et al., 2017; WALSH et al., 2009).

Bei der Auswahl eines diagnostischen Testverfahrens muss die Erfassung einer ID von der einer Insulinresistenz unterschieden werden (FIRSHMAN und VALBERG, 2007). Während die ID die entero-insuläre Achse einschließt, beschreibt die Insulinresistenz ausschließlich eine herabgesetzte Insulinsensitivität der peripheren Organe (LAAT et al., 2016). Da intravenöse Testverfahren durch die direkte Einflussnahme auf die Insulin- und Glukosekonzentrationen im Blut die entero-insuläre Achse umgehen, beschränken sie sich auf die Diagnose einer IR. Orale Testverfahren erlauben im Vergleich dazu eine umfassendere Abklärung. Inzwischen ist eine Vielzahl alternativer oraler Testverfahren in der Literatur beschrieben (DURHAM et al., 2019). Dennoch existiert in Deutschland derzeit keine orale Testvariante, welche sich durch Zuverlässigkeit, einfache Anwendbarkeit und gute Akzeptanz seitens der Pferde auszeichnet (WARNKEN et al., 2018). Die Applikation einer Glukoselösung mittels Magensonde im Rahmen des oralen Glukosetests (OGT) liefert die vergleichsweise zuverlässigsten Ergebnisse (DURHAM et al., 2019). Er kann als aktueller Standard für die Diagnose einer ID in Deutschland angesehen werden und dient in der vorliegenden Studie als Referenzverfahren zu oralen Tests auf Basis zweier neu entwickelter Oligosaccharid-Formulierungen, einem Mehrfachzucker-Sirup (OGT-MS) und

Mehrfachzucker-Pellets (OGT-MP). Durch die ergänzende Durchführung eines Placebo-Verfahrens des OGT (OGT-P) sollen äußere Einflüsse ausgeschlossen werden. Sowohl die Anwendbarkeit und Akzeptanz durch die Pferde als auch die Verläufe der Insulin- und Glukosekonzentrationen nach oraler Stimulation werden analysiert. Da die Anwendung einer Pelletformulierung mit dem geringsten Zwang für das Pferd einhergeht, wird hier die einfachste Anwendbarkeit bei größter Akzeptanz erwartet. Allerdings können individuelle Aufnahmezeiten die Laborergebnisse beeinflussen. Beim Testverfahren mittels Sirupkomposition ist dieses Risiko gering und es wird sowohl eine gute Akzeptanz als auch eine leichtere Handhabung als beim OGT mittels Magensonde erwartet.

Gegenstand dieser Studie ist der Vergleich oraler Glukosetests auf Basis der Fütterung einer Pelletformulierung, der oralen Applikation einer Sirupkomposition und der Eingabe einer Glukoselösung mittels Magensonde zur Diagnosestellung einer ID.

2 Literaturübersicht

2.1 Glukosehomöostase der Equiden

Nicht strukturelle, leichtverdauliche Kohlenhydrate in Form von Di-, Oligo- und Polysacchariden, wie z.B. Stärke, werden bei den Equiden mittels Sucrasen, Laktasen und Maltasen in Monosaccharide gespalten und fast ausschließlich im Dünndarm resorbiert (DYER et al., 2009; AL-RAMMAHI, 2020; ROBERTS, 1975). Über membranständige Natrium/Glukose-Cotransporter (SGLT1) gelangen die Monosaccharide in die Enterozyten und über natriumunabhängige Glukosetransporter des Typs 2 (GLUT-2) von dort in den Blutkreislauf. Die Kapazität der Zuckerresorption hängt von der gewohnten Menge an leichtverdaulichen Kohlenhydraten in der Futtermittellation und einer entsprechenden Dichte an GLUT-2 ab (DYER et al., 2009). Die Aufnahme dieser Nährstoffe aktiviert die Ausschüttung von Inkretinen, insbesondere dem Glucagon-like Peptid 1 (GLP-1) und dem Gastric Inhibitory Polypeptid (GIP) (LAAT et al., 2016). Diese hemmen die Glukagonsekretion und wirken so indirekt auf die periphere Insulinsensitivität. Zudem induzieren sie direkt die Ausschüttung von Insulin aus den β -Zellen des Pankreas. Insulin ist ein Peptidhormon, welches als Gegenspieler des Glukagons die Blutglukose reguliert (FRANK, 2006; SALTIEL und KAHN, 2001; WILCOX, 2005). Dementsprechend bewirkt die postprandiale Insulinausschüttung sowohl die Glukoseaufnahme aus dem Blutkreislauf in die Gewebe als auch die Unterdrückung der Glukoneogenese in der Leber (SALTIEL und KAHN, 2001).

Neben einer solchen postprandialen Hyperinsulinämie gibt es noch wenige weitere physiologische Ursachen für eine kurzzeitige geringe Erhöhung der Insulinkonzentration, z.B. eine Trächtigkeit oder eine Hungerphase (FIRSHMAN und VALBERG, 2007; FRANK et al., 2018; RALSTON, 2002).

Im Rahmen von Stoffwechselerkrankungen wie dem EMS und einer PPID können dagegen pathologische Hyperinsulinämien auftreten (FRANK et al., 2010; FRANK et al., 2018; FRANK und TADROS, 2013). Das gemeinsame Auftreten eines EMS, einer Adipositas und einer PPID kann sich zudem noch gegenseitig potenzieren und den Verlauf der Erkrankungen deutlich beschleunigen. So zeigten an einer PPID erkrankte Pferde mit zusätzlicher ID häufiger Hufrehe als solche mit einer PPID ohne ID (MCFARLANE et al., 2017; TADROS und FRANK, 2013). Aufgrund der steigenden Prävalenz im Alter sollten insbesondere geriatrische Patienten auf beide Erkrankungen untersucht werden (DURHAM et al., 2019; HORN et al., 2019; TADROS und FRANK, 2013). Entsprechend führt die Zunahme an adipösen sowie auch geriatrischen Pferden in der Bevölkerung inzwischen zu einer sehr regelmäßigen Diagnose der Stoffwechselerkrankungen (CARTER et al., 2009b; RENDLE et al., 2018; SILLENCE, 2012).

2.2 Insulindysregulation der Equiden

Unterschiedliche Pathogeneseformen einer ID konnten zwei Punkten des Insulin- bzw. Glukosestoffwechsels zugeordnet werden und differenzieren an diesen eine Insulinresistenz von einer ID anderer Genese (FIRSHMAN und VALBERG, 2007). Im Falle einer Insulinresistenz reagiert das periphere Gewebe mit einer erniedrigten Insulinsensitivität auf eine physiologische oder erhöhte Insulinsekretion (WILCOX, 2005). Im Vordergrund steht neben der Leber und dem Fettgewebe die Skelettmuskulatur als Organ mit insulinabhängiger Glukoseaufnahme (FRANK und TADROS, 2013; KRONFELD et al., 2005; SALTIEL und KAHN, 2001; VICK et al., 2007). Als Ursachen werden eine Herunterregulierung der Insulinrezeptoren sowie eine fehlerhafte Signalkaskade nach Bindung des Insulins diskutiert (FIRSHMAN und VALBERG, 2007; KRONFELD et al., 2005). Aufgrund der fehlenden Hemmung der Glukoneogenese in der Leber und der gleichzeitig verminderten Glukoseaufnahme in das periphere Gewebe

verbleibt die Glukosekonzentration hoch und stimuliert fortlaufend die Insulinausschüttung aus dem Pankreas. Dieser Zustand wird als kompensierte Insulinresistenz beschrieben (TREIBER et al., 2006). Die Folge einer partiellen Pankreaserschöpfung wird beim Pferd nur selten erreicht (FRANK und TADROS, 2013; KRONFELD et al., 2005). In diesem Fall sistiert die Insulinausschüttung und im Rahmen einer sogenannten dekompensierten ID stellt sich eine konstante Hyperglykämie ein (FRANK und TADROS, 2013).

Alternativ kann nach aktuellen Erkenntnissen eine Dysfunktion in der entero-insulären Achse an der Entstehung einer ID beteiligt sein. Das Pankreas reagiert auf die Hyperglykämie und die folgende Inkretinaktivität mit einer übermäßigen Produktion an Insulin. In welchem Ausmaß die Inkretine für die überschießende Insulinausschüttung verantwortlich sind, ist bislang nicht geklärt (BAMFORD et al., 2015; DURHAM et al., 2019; FRANK und TADROS, 2013; LAAT et al., 2016). Aufgrund der vorhandenen Insulinsensitivität des peripheren Gewebes liegt hier in der Regel eine Hyperinsulinämie bei gleichzeitiger Normoglykämie oder Glukosekonzentrationen im maximalen Referenzbereich vor (FRANK und TADROS, 2013; JOHNSON, 2002).

Bei einer Insulinresistenz handelt es sich folglich immer um eine ID, wogegen eine ID auch ohne eine Insulinresistenz vorliegen kann (FRANK und TADROS, 2013; LAAT et al., 2016). Das gehäufte Auftreten einer ID bei Ponys im Vergleich zu Pferden ist gesichert und ein möglicher Hinweis auf Rasseprädispositionen (BAMFORD et al., 2014; HORN et al., 2019). Die Rolle der ID bzw. einer Hyperinsulinämie als Auslöser einer Hufrehe bei stoffwechselerkrankten Tieren ist wiederholt in der Literatur beschrieben und unterstreicht die Bedeutung der Stoffwechselstörung bzw. der frühzeitigen Diagnostik dieser (ASPLIN et al., 2007; CARTER et al., 2009c; JOHNSON et al., 2004; LAAT et al., 2010; MEIER et al., 2017; TADROS und FRANK, 2013; WALSH et al., 2009).

2.3 Erkrankungen im Zusammenhang mit einer Insulindysregulation

2.3.1 Hufrehe

Bei der Hufrehe handelt es sich um eine Entzündung im Bereich der Hufkapsel, bei welcher sich die Verbindung zwischen Knochen und bindegewebiger Aufhängung des Hufbeins bzw. zwischen basaler *Dermis* und den Lamellen löst (JOHNSON et al., 2004). Zu Beginn der Erkrankung zeigen die Pferde oftmals keine deutliche Lahmheit. Subklinische oder chronische Krankheitsverläufe können sich daher erst durch makroskopisch sichtbare Umformungsprozesse in der Hornbildung sowie einer röntgenologisch sichtbaren Senkung und / oder Rotation des Hufbeins äußern (FRANK und TADROS, 2013). Karikoski et al. (2011) zeigten, dass die häufigste Ursache für die Entstehung der Hufrehe unentdeckte Stoffwechselerkrankungen sind. Die Prävalenz dieser endokrinopathischen Hufrehe überwiegt mit 89 % bei weitem die anderer Hufreheursachen wie Intoxikationen, Sepsis und Überbelastung (KARIKOSKI et al., 2011).

Die Pathogenese der Hufrehe aufgrund von Stoffwechselerkrankungen ist trotz intensiver Forschung weiterhin unklar, hängt jedoch nach aktuellen Erkenntnissen mit einer zugrundeliegenden ID zusammen (FRANK et al., 2018). Derzeit lassen sich mögliche Ursachen in zwei verschiedene Mechanismen differenzieren (JOHNSON et al., 2004): ersterer beruht auf hormonellen und metabolischen Einflüssen an den peripheren Gefäßen, der zweite Mechanismus bezieht sich auf die Separation der Basalmembran vom Hufbeinträger durch die Aktivität von Matrixmetalloproteinasen. Vergleichbare Einflüsse von Stoffwechselstörungen auf die periphere Vasoaktivität sind auch in humanmedizinischen Studien zum Zusammenhang von IR, Glukotoxizität und Lipotoxizität aufgedeckt worden, z.B. in Form einer zentralen Funktion des Endothelin 1 als Mediator einer Vasokonstriktion im Rahmen der glukotoxischen Wirkung einer Hyperglykämie (ZHANG et al., 2012). Durch die Vasokonstriktion entsteht oxidativer Stress,

der Radikale sowie verschiedene Mediatoren und Enzyme wie z.B. Matrixmetalloproteinasen als potenzierende Faktoren aktiviert (TAYLOR, 2001; ZHANG et al., 2012). Die konträren Wechselwirkungen von Endothelin 1 und Stickoxid auf die Vasoaktivität wurden bereits 1996 im Endothel des laminären Gewebes von Hufrehepatienten nachgewiesen und kausal in Zusammenhang gebracht (HINCKLEY et al., 1996). Erste Hinweise auf einen direkten Zusammenhang zwischen der Insulinkonzentration und einer Hufrehe zeigten sich zuvor in den 1980ern (COFFMAN und COLLES, 1983; JEFFCOTT et al., 1986). Nachfolgend wurde in einer *in vitro*-Studie an equinen Hufen eine direkte Abhängigkeit von einem gestörten Glukosestoffwechsel und einer Hufreheentstehung nachgewiesen (PASS et al., 1998). Johnson et al. (2002) benannten schließlich konkret die ID mit ihren metabolischen Folgen als eigentlichen Trigger für die Entstehung der Hufrehe. Inzwischen ist die längerfristige Hyperinsulinämie als Ursache für die Hufreheentstehung sogar bei insulin sensitiven Pferden bestätigt worden, wobei Asplin et al. (2007) lediglich Ergebnisse aus einer experimentellen Studie lieferten (ASPLIN et al., 2007; LAAT et al., 2010). Darüber hinaus konnte eine direkte Korrelation zwischen der Ausprägung der ID und dem Grad der Hufrehe nachgewiesen werden (WALSH et al., 2009). Dagegen zeigte sich in dieser Studie keine Korrelation zwischen einer Hyperinsulinämie und einer Hyperglykämie, wodurch wiederum die Bedeutung des glukotoxischen Effekts in Frage gestellt wird. Meier et al. (2017) konnten eine prognostische Aussagekraft der labor diagnostischen Parameter bezüglich der Hufreheentstehung nachweisen. Hier zeigte die Glukosehöchstkonzentration die größte Korrelation mit der Entstehung einer Hufrehe, sodass dem Glukosestoffwechsels erneut eine größere Bedeutung bei der Entstehung einer Hufrehe zugesprochen wird. Die zweitgrößte Korrelation wies wiederum die endogene Insulinsekretion 120 Minuten nach oraler Stimulation auf. Der genaue kausale Zusammenhang zwischen Insulin- bzw. Glukosestoffwechsel und einer Hufreheentstehung bleibt folglich unklar, eine ausschlaggebende Rolle der ID wird im Consensus

Statement nahegelegt (DURHAM et al., 2019).

2.3.2 Equines Metabolisches Syndrom

Das EMS wird als gleichzeitiges Vorliegen einer generellen oder regionalen Adipositas, einer zugrundeliegenden ID und / oder einer basalen Hyperinsulinämie mit einem erhöhten Risiko für die Entstehung einer Hufrehe definiert (DURHAM et al., 2019; FRANK et al., 2010; FRANK et al., 2018). Erst 2002 wurden diese Risikofaktoren als ein Symptomkomplex zusammengefasst und erstmals als EMS bezeichnet (JOHNSON, 2002). Der Begriff wurde analog zu der Humanmedizin (Humanes Metabolisches Syndrom, HMS) gewählt (FRANK et al., 2010; JOHNSON, 2002). Dort fasst er verschiedene Prädispositionen für die Entstehung des Diabetes mellitus Typ 2 sowie der Erkrankungen der Koronararterien zusammen (FULOP et al., 2006). Wie auch beim HMS ist davon auszugehen, dass das Risiko für die Erkrankung am EMS mit dem Alter steigt (DURHAM et al., 2019; FULOP et al., 2006; KARIKOSKI et al., 2011). So sind vor allem Pferde mittleren bis fortgeschrittenen Alters vom EMS betroffen (DURHAM et al., 2019; FRANK et al., 2010; JOHNSON, 2002). Aufgrund der Zunahme von geriatrischen sowie obesen Equiden wird der Erkrankung eine wachsende Bedeutung zugeschrieben (RENDLE et al., 2018; SILLENCE, 2012).

Für die Entstehung des EMS sind in der Regel mehrere gleichzeitig bestehende, prädisponierende Faktoren entscheidend (DURHAM et al., 2019). Hinweise auf mögliche Einflüsse bereits im fetalen Alter sowie auf einen genetischen Hintergrund sind vorhanden (CARTER et al., 2009c; DURHAM et al., 2019; FRANK et al., 2010; MCCUE et al., 2015; ROBLES et al., 2018; TREIBER et al., 2006). Diese Hypothese wird durch die Erkenntnis gestützt, dass identische Änderungen in Bewegung, Fütterung und Haltung zu individuell unterschiedlichen Auswirkungen führen können (MCCUE et al., 2015). Zudem fielen im Rahmen verschiedener Studien rasseabhängige Häufungen von EMS auf, die ebenfalls eine genetische Komponente nahelegen (BAMFORD et al., 2015; BANSE und

McFARLANE, 2014; JEFFCOTT et al., 1986; KARIKOSKI et al., 2011; NORTON und MCCUE, 2020). Diese äußert sich möglicherweise in einer sogenannten Leichtfuttrigkeit, durch welche die betroffenen Pferde deutlich schneller an Körpermasse zunehmen und langsamer Körpergewicht verlieren (DURHAM et al., 2019; FRANK, 2006; JEFFCOTT et al., 1986; JOHNSON, 2002; MCCUE et al., 2015; RADIN et al., 2009). Eine aktuelle Studie legt nach ersten Genanalysen zwei mögliche Mechanismen hierfür nahe (NORTON und MCCUE, 2020): zum einen können ursprüngliche Gene noch aus Wildpferdepopulationen insbesondere bei Robustrassen existieren, die eine intensivere Ausnutzung der vorhandenen Energie ermöglichen. Unter den heutigen Bedingungen ohne Hungerzeiten entsteht daher schneller ein Energieüberschuss. Zum anderen kann eine kontinuierliche, evolutionäre Veränderung der Gene eine Veranlagung zur Obesitas mit sich bringen (NORTON und MCCUE, 2020).

Der potenzierende Effekt eines schlechten Fütterungs- und Bewegungsmanagements auf den Stoffwechsel der Pferde ist gesichert (CARTER et al., 2009b; HOFFMAN et al., 2003; MCCUE et al., 2015). Dasselbe gilt für die prädisponierende Rolle der in der Regel daraus folgenden Adipositas (CARTER et al., 2009b; HOFFMAN et al., 2003; JEFFCOTT et al., 1986; POWELL et al., 2002; VICK et al., 2007).

Üblicherweise sind neben klinischen Fällen mit phänotypischer Ausprägung einer Obesitas insbesondere regionale Fettdepots als ein typisches Bild des EMS beschrieben (CARTER et al., 2009a; DURHAM et al., 2019; FRANK et al., 2010; FRANK und TADROS, 2013). Neuere Erkenntnisse legen andererseits nahe, dass es auch an EMS erkrankte Tiere ohne jegliche Anzeichen einer Obesitas gibt (RENDLE et al., 2018). Norton et al. (2020) wiesen diesbezüglich erstmals nach, dass die zugrunde liegende Genetik einen Einfluss auf die Ausprägung der Symptome hat. Demzufolge ist weder das klinische Bild noch die Pathogenese eindeutig definierbar. Alle diskutierten Faktoren können kausal mit der Entstehung des EMS in Verbindung stehen und insbesondere bei gleichzeiti-

gem Auftreten die Krankheit potenzieren. Häufig wird erst beim Auftreten einer akuten Hufrehe oder bei Anzeichen eines vorangegangenen Hufrehegeschehens der Verdacht auf ein zugrundeliegendes EMS geäußert (KARIKOSKI et al., 2011). Des Weiteren fällt oft eine systemische Prädisposition für die Entwicklung weiterer Entzündungsgeschehen und Krankheiten auf, wie z.B. einer Infertilität (DURHAM et al., 2019; JOHNSON, 2002; VICK et al., 2006). Lediglich die labordiagnostischen Veränderungen lassen sich relativ zuverlässig bestimmen. Im Vordergrund steht eine basale oder reaktive Hyperinsulinämie, welche als zentrale Komponente des EMS beschrieben wird (CARTER et al., 2009c; FRANK et al., 2010; FRANK und TADROS, 2013; JOHNSON, 2002). Daneben können eine Hyper- oder Normoglykämie, eine Dyslipämie bzw. Hypertriglyceridämie, eine Hyperleptinämie sowie vermehrt inflammatorische Zytokine auftreten (CARTER et al., 2009c; JOHNSON, 2002; MCCUE et al., 2015; TREIBER et al., 2006; VICK et al., 2007). Aufgrund der diversen systemischen Einflüsse des Insulin- und Glukosestoffwechsels auf den allgemeinen Metabolismus, auf die Endothel- und Adipozytenfunktionen und nicht zuletzt auf die Entstehung weiterer Stoffwechselerkrankungen sind die tatsächlichen Befunde individuell unterschiedlich ausgeprägt (DURHAM et al., 2019; MCCUE et al., 2015; TADROS und FRANK, 2013). Das Ausmaß der Begleiterscheinungen erschwert zusätzlich die Zuordnung von kausalen und sekundären Parametern des EMS. Ansätze zur Isolierung von tatsächlich prädisponierenden bzw. kausalen Faktoren bedürfen weiterer Forschung (CARTER et al., 2009b). Endokrine Reaktionen in der Insulinkonzentration zeigen sich in der Diagnostik als bedeutendster Parameter (CARTER et al., 2009c; TREIBER et al., 2006).

2.3.3 Pituitary Pars Intermedia Dysfunction

Die PPID stellt eine weitere Stoffwechselstörung dar, die regelmäßig zusätzlich zu einer ID diagnostiziert wird (SOJKA-KRITCHEVSKY und JOHNSON, 2014). Die *Pars intermedia* ist der sogenannte Zwischenlappen und einer von