

# Effekte einer Körpergewichtsreduktion auf die Insulinsensitivität bei adipösen Ponys

Julia Ungru<sup>1</sup>, Uta Schmengler<sup>1</sup>, Ray Boston<sup>2</sup>, Manfred Coenen<sup>1</sup> und Ingrid Vervuert<sup>1</sup>

Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig, Deutschland<sup>1</sup> und Abteilung für klinische Studien, Universität Pennsylvania, West Chester, USA<sup>2</sup>

## Zusammenfassung

Das equine metabolische Syndrom ist ein Symptomkomplex, charakterisiert durch Insulinresistenz (IR), Adipositas und Hufrehe, der vor allem bei Ponyrassen eine zentrale Bedeutung einnimmt. Insbesondere Ponys sind durch ihren „leichtfuttrigen“ Genotyp prädisponiert eine Adipositas zu entwickeln, welche in engem Zusammenhang mit einer IR steht. Im Fokus steht somit die Gewichtsreduktion beim Management adipöser Ponys und Pferde. Wenige Informationen liegen aber bislang vor, ob durch Körpergewichtsverluste eine Verbesserung der Insulinsensitivität erzielt werden kann. Ziel der Studie war es daher, die Überprüfung der Insulinsensitivität im Verlaufe eines Körpergewichtsreduktionsprogramms (KGRP) bei Ponys zu überprüfen. Für diese Studie wurden 15 adipöse Ponys (Body Condition Score  $8 \pm 2$  auf einer Skala von 1-9; Cresty Neck Score  $4 \pm 1$  auf einer Skala von 0-5) einem 14-wöchigen KGRP unterzogen. Die Ponys erhielten 1-1,2 kg Heu/100 kg KM sowie Grünmehl (50 g/100 kg KM) und ein vitaminisiertes Mineralfutter. Die kalkulierte Energieaufnahme betrug 7,0–8,4 MJ/100 kg KM. Zu Beginn und am Ende des Versuches wurde die Insulinsensitivität (SI= Insulinsensitivitätsindex) mittels des „Frequently sampled intravenous glucose tolerance test“ bestimmt. Serum Insulin und Plasma Glucose wurden des Weiteren vor (0) und nach dem KGRP (14) sowie in Woche 1, 3, 5, 6, 7, 9, 11, 12 über den 14-wöchigen Versuchszeitraum nach einer 12 h Nüchternperiode analysiert. Zu Versuchsbeginn wurden sieben adipöse Ponys als insulinresistent (SI:  $0,29 \pm 0,25$  l/min/ $\mu$ U $\times 10^{-4}$ ), und acht adipöse Ponys wurden als insulinsensitiv ( $7,0 \pm 7,9$  l/min/ $\mu$ U $\times 10^{-4}$ ) klassifiziert. Die Gewichtsreduktion (1,4-2,8 % KM Verluste pro Woche) war mit einer deutlichen Steigerung der Insulinsensitivität bei den zu Anfang insulinresistenten Ponys verbunden (SI:  $8,7 \pm 13,8$  l/min/ $\mu$ U $\times 10^{-4}$ , ( $p < 0,05$ ), wohingegen bei den insulinsensitiven Ponys keine weitere signifikante Verbesserung der Insulinsensitivität (SI:  $7,4 \pm 13,1$  l/min/ $\mu$ U $\times 10^{-4}$ ) durch die Gewichtsreduktion festgestellt werden konnte. Die Nüchterninsulinwerte fielen signifikant im Verlauf des KGRP ab. Die Plasma Glukosekonzentrationen variierten für beide Gruppen zwischen 3,8–4,6 mmol/l. Schlussfolgernd muss unterstrichen werden, dass die Gewichtsreduktion als eine wesentliche Maßnahme zur Verbesserung der Insulinsensitivität bei insulinresistenten Ponys angesehen werden kann. Die Serum Insulinaktivitäten nach einer 12-stündigen Nüchternzeit können als diagnostischer Hinweis auf die Insulinwirkung genutzt werden, darüber hinaus liefern die Nüchtern-Insulinaktivitäten einen wichtigen Beitrag zur Entwicklung der Insulinsensitivität während des Abnehmens.

**Schlüsselwörter:** Equines metabolisches Syndrom / Fettleibigkeit / Insulinsensitivität / Gewichtsreduktion / Fütterung

## Effects of body weight reduction on insulin-sensitivity in obese ponies

The „Equine metabolic syndrome“ (EMS) is a cluster of metabolic abnormalities – characterized by insulin-resistance, obesity and laminitis-, which is especially recognized in ponies. These ponies are called easy keepers; a genotype that is predisposed to develop obesity. As obesity has a strong relation to insulin-resistance, body weight reduction is in the focus of an adequate management in obese animals. In this context, it is of interest in which way insulin-sensitivity changes after a body weight reduction. Therefore, the aim of the study was to monitor insulin sensitivity during a body weight reduction program in ponies. 15 obese ponies (body condition score  $8 \pm 2$  (scale 1-9); cresty neck score  $4 \pm 1$  (scale 0-5)) were included in a 14 weeks lasting body weight reduction program (BWRP). Ponies were fed with hay (1-12.2 kg hay/100 kg BW), grass meal (0.05 kg/100 kg BW) and a commercial mineral mixture. Calculated energy intake varied around 7–8.4 MJ DE/100 kg BW. At the beginning and at the end of the study insulin sensitivity index (SI) was determined by the frequently sampled intravenous glucose tolerance test (FSIGTT). Serum insulin and plasma glucose were additionally analysed in week 0, 1, 3, 5, 6, 7, 9, 11, 12 and 14 during BWRP. At the beginning of the study seven ponies were categorized as insulin-resistant (SI:  $0.29 \pm 0.25$  l/min/ $\mu$ U $\times 10^{-4}$ ) and eight obese ponies were classified as insulin sensitive (SI:  $7.0 \pm 7.9$  l/min/ $\mu$ U $\times 10^{-4}$ ). Body weight reduction (1.4–2.8% of BW weekly) improved significantly insulin sensitivity in the initially insulin resistant ponies (SI:  $8.7 \pm 13.8$  l/min/ $\mu$ U $\times 10^{-4}$ ), whereas insulin sensitivity did not further improved in the initially insulin sensitive ponies (SI:  $7.4 \pm 13.1$  l/min/ $\mu$ U $\times 10^{-4}$ ). Serum insulin decreased significantly during BWRP. Plasma glucose varied between 3.8–4.6 mmol/L during BWRP. In conclusion, body weight reduction is an important nutritional measure to improve insulin-resistance. Concerning the diagnosis of insulin-resistance, a single serum insulin value is a conclusive method and helps to monitor the progress in insulin sensitivity in insulin resistant ponies during BWRP.

**Keywords:** equine metabolic syndrome / adiposity / insulin sensitivity / body weight reduction / nutrition

## Einleitung

Das equine metabolische Syndrom (EMS) ist ein Symptomkomplex, der sich nach Frank et al. (2009) aus einer Insulinresistenz (IR), einer klinischen oder subklinischen Hufrehe sowie einer generalisierten oder regionalen Adipositas zusammensetzt. Dabei ist die regionale Adipositas charakterisiert durch eine atypische Verteilung des subkutanen Fettge-

webes in bestimmten Lokalisationen, welche die Lendenwirbelfortsätze, die Rippen, den Bereich hinter den Schultern, den Schweifansatz, Nacken und Widerrist sowie Präputium oder Euter beinhalten (Carter et al. 2009). Insbesondere Ponyrassen werden als prädisponiert angesehen eine Adipositas, in Kombination mit einer Insulinresistenz zu entwickeln und sie werden als „leichtfuttrig“ bezeichnet, d.h. selbst bei einer bedarfsabgeleiteten Energieaufnahme können deutliche

Körpergewichtszunahmen beobachtet werden (zitiert nach *Buff et al. 2006*, zitiert nach *Geor 2008*). Auf diese Weise haben Wildpferde bzw. -ponys eine Strategie entwickelt, in energiearmer Umgebung überleben zu können. Domestizierte Pferde oder Ponys sind häufig einem kontinuierlichem Überangebot an Futter ausgesetzt, so dass die unter natürlichen Bedingungen erfolgende Gewichtsreduktion während der Wintermonate, die bei Wildpferden und -ponys beobachtet wird, nicht mehr stattfindet (*Dugdale et al. 2010*).

In vielen Studien beim Pferd konnte bisher ein enger Zusammenhang zwischen Fettleibigkeit – eingeschätzt z.B. nach dem Body Condition Score (BCS, *Henneke et al. 1983*) oder dem Cresty Neck Score (CNS, *Carter et al. 2009*) – und einer Insulinresistenz bestätigt werden (*Hoffman et al. 2003*, *Frank et al. 2006*, *Vick et al. 2007*). Dabei wird die IR nach *Kahn (1978)* folgendermaßen definiert: Insulinresistenz tritt auf, wann immer normale Insulinkonzentrationen eine geringere als die normale biologische Antwort – beispielsweise hinsichtlich der Regulation der Blutglucose – induzieren. Die reduzierte Insulinsensitivität und damit einhergehende Hyperglycämie führt zu einer kompensatorischen Reaktion, die zu einer erhöhten Insulinsekretion der Zellen des Pankreas oder einer gesteigerten Glucose vermittelten Glucoseaufnahme führt (zitiert nach *Kronfeld et al. 2005*). Wenn die  $\beta$ -Zellen des Pankreas nicht mehr in der Lage sind der Hyperglykämie entgegenzuwirken, wird von einer nichtkompensierten Insulinresistenz gesprochen, die beim Pferd in der Regel nur sehr selten beschrieben wird (zitiert nach *Johnson 2002*).

Aus der Humanmedizin ist bekannt, dass die vom Fettgewebe produzierten und sezernierten Adipo(zyto)kinen eine Schlüsselrolle bei der Dysregulation der Insulinwirkung zukommt. In die Gruppe der Adipo(zyto)kinen sind beispielsweise Hormone wie Leptin und Adiponectin, Zytokine wie Tumor-Nekrose-Faktor  $\beta$  und IL6, sowie Wachstumsfaktoren, Komplementfaktoren, Enzyme und Prostazykline eingeschlossen (*Stumvoll 2010*). Diese Mediatoren werden von den Adipozyten und den unter adipösen Bedingungen in erhöhtem Maße das Fettgewebe infiltrierenden Makrophagen produziert, so dass ein chronischer Entzündungsstatus des Fettgewebes angenommen wird (*Suganami und Ogawa 2010*). Es wird postuliert, dass dieser proinflammatorische Status einer Insulinresistenz vorangeht. Eine herausragende Bedeutung im Management von adipösen insulinresistenten Pferden und Ponys besitzt die restriktive Fütterung, die einhergehend mit einem sinkenden Körperfettanteil zu einer erhöhten Insulinsensitivität führt (*Freestone et al. 1992*, *van Weyenberg et al. 2008*).

Um die Diagnose Insulinresistenz stellen zu können, werden verschiedene Methoden durchgeführt. Unter ihnen sind die

sog. Toleranztests – bei denen durch eine induzierte Hyperglycämie die Regelungsfähigkeit des Organismus getestet wird – sowie Clamp-Techniken (*Firshman und Valberg 2007*) und die Minimal Model-Kalkulation (*Bergman et al. 1979*) zu nennen. Weniger aufwändigere Methoden umfassen die Bestimmung des Serum Insulins nach einer 8-12 h Nüchternung (*Firshman und Valberg 2007*).

Ziel dieser Arbeit war es, die Auswirkungen einer Gewichtsreduktion auf die Insulinsensitivität zu überprüfen. Zudem war es von Interesse, ob die Nüchtern-glucose- oder -insulinwerte zur Diagnose einer Insulinresistenz aussagekräftig sind. Als Arbeitshypothese wurde postuliert, dass mit sinkender Körpermasse die Insulinsensitivität steigt, was auch durch deutliche Veränderungen der Nüchterninsulinaktivitäten begleitet wird.

## Material und Methoden

### *Versuchstiere, Fütterung und Haltung*

Zur Verfügung standen 15 übergewichtige Ponys (Shetlandponys und gemischte Ponyrassen); unter ihnen 10 Stuten und 5 Wallache. Das mittlere Körpergewicht zu Versuchsbeginn betrug  $201 \pm 64,7$  kg, das mittlere Alter  $10,7 \pm 5,27$  Jahre, der mittlere BCS (Skala 1-9, *Henneke et al. 1983*)  $7,7 \pm 1,5$  und der mittlere CNS (Skala 0-5, *Carter et al. 2009*)  $3,60 \pm 1,1$ . Die Ponys waren einzeln oder zu zweit in Boxen aufgestellt und auf Gummimatten gehalten; sie erhielten Wasser zur freien Verfügung und einen 5-stündigen täglichen Auslauf auf einem Sandpaddock. Die Ponys erhielten 1–1,2 kg Heu/100 kg KM sowie Grünmehl (50 g/100 kg KM) und ein vitaminisiertes Mineralfutter (Horsal Basisä, Firma Schaulman, Pinneberg). Über den gesamten Versuchszeitraum stammten die eingesetzten Futtermittel jeweils aus einer Charge (Tab. 1). Die kalkulierte Energieaufnahme, bestimmt über die Analyseergebnisse der verfütterten Futtermittel Heu und Grünmehl, betrug 7,0–8,4 MJ/100 kg KM.

### *Körpergewichtsreduktionsprogramm (KGRP)*

Die Ponys wurden während einer 4-wöchigen Adaptationsphase an die allgemeinen Haltungsbedingungen gewöhnt. In dieser Zeit erhielten die Ponys Heu ad libitum. Das anschließende KGRP erfolgte über 14 Wochen und setzte sich aus einer restriktiven Heufütterung – die Ponys erhielten 1-1,2 kg Heu/100 kg KM/Tag wöchentlich angepasst an das aktuelle Körpergewicht – und einem Bewegungsprogramm niedriger Intensität zusammen. Die Ponys wurden dabei täglich an 6 Tagen in der Woche 40 Minuten an der Hand geführt, d.h. 30 min Schritt und 15 min Trab.

**Tab. 1** Chemische Analyse der verfütterten Futtermittel, Angaben in g/kg Trockenmasse (TM) / *Chemical analyses of feedstuffs, expressed in g/kg dry matter*

Parameter	Heu	Grünmehl
Rohasche, g/kg TM	57	128
Rohprotein, g/kg TM	77	125
Rohfett, g/kg TM	11	23
Rohfaser, g/kg TM	350	251
Stickstoff freie Extraktstoffe, g/kg TM	506	473

## Messung von Körpergewicht, BCS, CNS

Das aktuelle Körpergewicht (KM) wurde wöchentlich auf einer Viehwaage mit zwei Stahlwiegebalken (Wiegesystem iconix FX 1, Firma Texas Trading, Windach) bestimmt. Der BCS (Henneke et al. 1983) und der CNS (Carter et al. 2009) wurden zu Versuchsbeginn und -ende von zwei verschiedenen Personen unabhängig voneinander beurteilt.

## Frequently sampled intravenous glucose tolerance test (FSIGTT)

Zur Beurteilung der Insulinsensitivität wurde zu Beginn und Ende des Versuches der FSIGTT nach dem Protokoll von Tóth et al. (2009) durchgeführt. Den Ponys wurde nach einer 12-stündigen Nüchternungsphase ein Venenkatheter in die rechte oder linke V. jugularis externa gelegt. In definierten Abständen (Minute -10, -5, -1, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 19, 22, 23, 24, 25, 27, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 150, 180) wurde Blut aus dem Katheter entnommen und in eine Serummonovette (Monovette® 9 ml Z, Firma Sarstedt, Nümbrecht) sowie eine Na-Fluorid Monovette (S-Monovette® 2,7 ml FE, Na-Fluorid zur Inhibition der Glykolyse, Firma Sarstedt, Nümbrecht) aufgeteilt. Zum Zeitpunkt 0 wurde Glucose in einer Dosierung von 100 mg/kg KM (Glucoselösung 40 %, Firma Serumwerk Bernburg AG, Bernburg) intravenös verabreicht. In Minute 20 erfolgte die intravenöse Insulingabe (Insuman® Rapid, Firma Sanofi-Aventis, Frankfurt am Main) in einer Dosierung von 20 mU/kg KM über den Venenkatheter. Unmittelbar nach den Blutentnahmen sowie der Gabe von Glucose und Insulin wurde der Katheter mit jeweils 5 ml isotonischer Kochsalzlösung (NaCl 0,9 %, Firma B. Braun, Tuttlingen) gespült. Das in den Na-Fluorid Monovetten enthaltene Blut wurde direkt nach der Blutentnahme mit Hilfe einer Tischzentrifuge (mLW electronic T62.2, VEB MLW Medizintechnik Leipzig; GDR; Deutschland) abzentrifugiert, der Plasmaüberstand in Eppendorfgefäße abpipettiert und bis zur weiteren Verarbeitung bei -20°C gefroren. Mit Ausnahme einer halbständigen Clottingzeit bei Raumtemperatur vor der Zentrifugation wurde mit dem in den Serummonovetten enthaltenen Blut analog verfahren.

## Blutprobennahme

In der Woche 0, 1, 3, 5, 6, 7, 9, 11, 12 und 14 wurden Blutproben mittels Punktion der V. jugularis externa nach einer 12-stündigen Nüchternungszeit in den Morgenstunden (08:00-09:00) gewonnen und in eine Serummonovette (Monovette® 9 ml Z, Firma Sarstedt, Nümbrecht) sowie in eine Na-Fluorid Monovette (S-Monovette® 2,7 ml FE, Na-Fluorid zur Inhibition der Glykolyse, Firma Sarstedt, Nümbrecht) aufgeteilt. Zentrifugation, abpipettieren und einfrieren der Proben erfolgte wie bei dem FSIGTT beschrieben.

## Analytische Methoden

### Futteranalyse

Die Rohnährstoffe des Heus sowie des Grünfutters wurden mittels Weender Analyse nach Naumann et al. (1976) unter-

sucht; die Bestimmung des Rohproteins (Rp) fand mit Hilfe der oxidativen Aufschlussmethode nach Dumas (1962) statt. Die Ergebnisse sind Tab. 1 zu entnehmen.

### Plasma Glucose

Die Ermittlung der Glucosekonzentration im Plasma erfolgte mittels der kombinierten Glucose-Oxidase-Peroxidase-Reaktion. Die farbigen Reaktionsprodukte wurden durch ein Spektralphotometer (LS 500, Firma Dr. Bruno Lange GmbH, Berlin) gemessen.

### Serum Insulin

Zur Bestimmung der Serum Insulinkonzentration wurde ein Festphasenradioimmunoassay (Coat-A-Count R Insulin, Firma Siemens, Deutschland) verwendet, der für das Pferd validiert ist (Reimers et al. 1982). Die Radioaktivität des markierten Insulins wurde mittels Gamma-Counter ermittelt, wobei ein umgekehrt proportionales Verhältnis der gemessenen Counts zur Serum Insulinkonzentration auftritt.

## Statistische Methoden

Die Blutparameter werden als Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) angegeben. Die AUC (area under the curve, 0.-19. min) für Serum Insulin und Plasma Glucose wurde auf der Grundlage des FSIGTT mit Hilfe nicht überlappender Polygone berechnet. Dabei wurde die Fläche oberhalb der Basislinie bestimmt. Die Kalkulation des Insulin- und Glucosepeaks (0.-19. min) des FSIGTT erfolgte mittels Microsoft Excel 2003® (Firma Microsoft, Redmond, USA). Der Insulinsensitivitätsindex (SI), ermittelt im FSIGTT, wurde durch das MINMOD-Computerprogramm nach Boston et al. (2003) kalkuliert.

Bei der statistischen Auswertung (Statistika, StatSoft) wurden die Werte durch den Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung überprüft. Normalverteilte Daten sind mittels der ein- oder zweifaktoriellen Varianzanalyse (Faktor: Zeit, SI Kategorie) ausgewertet worden; nicht normalverteilte Daten wurden mit dem Kruskal-Wallis ANOVA überprüft. Das Signifikanzniveau wird mit  $p < 0,05$  angegeben.

## Ergebnisse

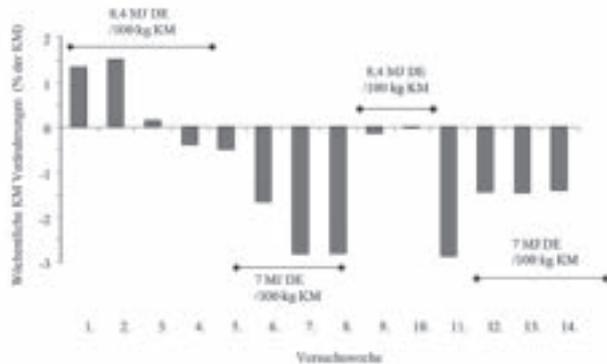
### Morphometrische Ergebnisse

Wöchentliche Körpergewichtsverluste zwischen 1,4–2,8 % der KM konnten bei einer kalkulierten Energieaufnahme von 7 MJ DE/100 kg KM (1 kg Heu/100 kg KM) beobachtet werden, wohingegen die Aufnahme von rund 8,4 MJ DE/100 kg KM nicht zu einer Körpergewichtsreduktion führte (Abb. 1). Begleitend zu den Körpergewichtsverlusten konnte am Versuchsende eine signifikante Veränderung des BCS und CNS festgestellt werden (Tab. 2).

### Insulinsensitivität (ermittelt im FSIGTT)

Sieben Ponys wurden zu Beginn des Versuchs bei der Kalkulation des Insulinsensitivitätsindex (SI) als insulinresistent klas-

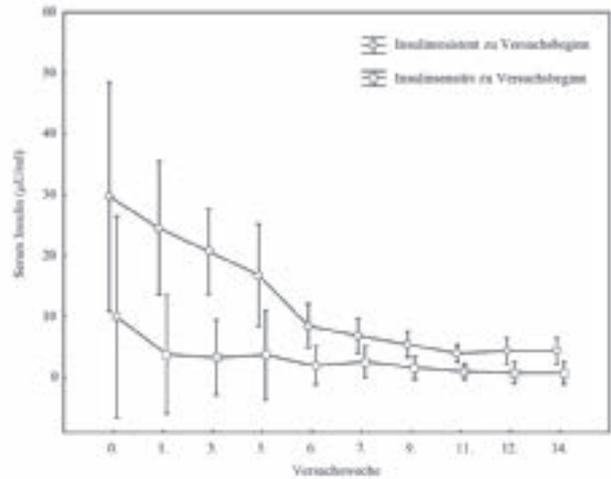
sifiziert (SI insulinresistent:  $< 1,0 \text{ l/min}/\mu\text{10}^{-4}$ , Tab. 3), wohingegen acht Ponys, trotz Adipositas und z. T. rezidivierenden Hufrehschüben, eine unauffällige Insulinreaktion aufwiesen (SI insulinsensitiv:  $> 1,5 \text{ l/min}/\mu\text{U} \times 10^{-4}$ , Tab. 3). Am Ende des Versuchs konnte bei allen Ponys eine unauffällige Insulinsensitivität berechnet werden (Tab. 3). Die signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu Versuchsbeginn spiegeln sich auch in zwei weiteren, kalkulierten Parametern, dem Insulinpeak und der AUC für Serum Insulin, wieder. Bezüglich der Parameter Glucosepeak und AUC für Plasma Glucose konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Versuchsbeginn und -ende verzeichnet werden (Tab. 3).



**Abb. 1** Wöchentliche Körpermassenveränderungen (% der KM, MW) in Abhängigkeit von der kalkulierten Energieaufnahme (N=15) *Weekly body weight changes (% of body weight) in relationship to calculated energy intake*

*Nüchterninsulin und -glucose*

Die Nüchterninsulinaktivitäten zeigten zu Versuchsbeginn signifikante Unterschiede zwischen den insulinresistenten ( $29,7 \pm 32,6 \mu\text{U/ml}$ ) und insulinsensitiven Ponys ( $10,0 \pm 11,9 \mu\text{U/ml}$ ) auf (Abb. 2). Ab der 7. Versuchswoche



**Abb. 2** Serum Insulinaktivitäten (MW±SD, µU/ml) im Verlaufe des KGRP in Abhängigkeit der Klassifizierung der Insulinwirkung (insulinresistent [N=7] vs insulinsensitiv [N=8]) zu Beginn des Versuchs (Gruppe  $p=0,007$ , Zeit  $p<0,0001$ , Gruppe×Zeit  $p<0,01$ ) *Serum insulin (mean±SD) during body weight reduction programme related to classification of insulin action (insulin-resistant [N=7] to insulin-sensitive [n=8]) at the beginning of the study (group  $P=0.007$ , time  $P<0.0001$ , group x time  $P<0.01$ )*

**Tab. 2** Körpermasse (kg), BCS und CNS zu Versuchsbeginn und -ende (MW ± SD) / *Body weight (kg), BCS and CNS at the beginning and at the end of the study (mean ± SD)*

Parameter	Versuchsbeginn	Versuchsende
KM (kg)		
IR <sup>1</sup> (N = 7)	224 ± 65 <sup>a</sup>	192 ± 56 <sup>b</sup>
IS <sup>1</sup> (N = 8)	179 ± 58 <sup>a</sup>	155 ± 56 <sup>b</sup>
BCS (Skala 1–9)		
IR <sup>1</sup> (N = 7)	8 ± 1 <sup>a</sup>	5 ± 2 <sup>b</sup>
IS <sup>1</sup> (N = 8)	7 ± 2 <sup>a</sup>	5 ± 2 <sup>b</sup>
CNS (Skala 0–5)		
IR <sup>1</sup> (N = 7)	4 ± 1 <sup>a</sup>	3 ± 2 <sup>b</sup>
IS <sup>1</sup> (N = 8)	3 ± 1 <sup>a</sup>	2 ± 1 <sup>b</sup>

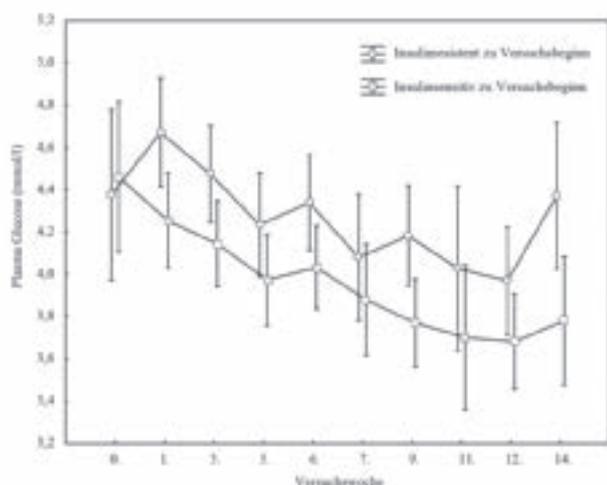
<sup>1</sup>Einteilung insulinresistent (IR) bzw. insulinsensitiv (IS) zu Versuchsbeginn  
<sup>ab</sup>unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Reihe kennzeichnen signifikante Effekte mit  $p < 0,05$ .

**Tab. 3** Insulinsensitivitätsindex (SI), Glucose- und Insulinpeaks sowie Flächenberechnung (AUC), ermittelt im FSIGTT (MW ± SD) *Index of insulin sensitivity (SI), glucose and insulin peaks, area under the curve (AUC) as determined in FSIGTT (mean ± SD)*

Parameter	Versuchsbeginn		Versuchsende	
	IR <sup>1</sup> (N = 7)	IS <sup>1</sup> (N = 8)	IR <sup>1</sup> (N = 7)	IS <sup>1</sup> (N = 8)
SI [(l/min/µU) × 10 <sup>4</sup> ]	0,29 ± 0,25 <sup>a</sup>	6,97 ± 7,93 <sup>b</sup>	8,72 ± 13,8 <sup>b</sup>	7,36 ± 13,1 <sup>b</sup>
Insulinpeak (0.-19. min, µU/ml)	186 ± 100 <sup>a</sup>	87,6 ± 68,1 <sup>b</sup>	60,6 ± 15,7 <sup>b</sup>	48,9 ± 31,5 <sup>b</sup>
Glucosepeak (0.-19. min, mmol/l)	11,6 ± 1,51 <sup>a</sup>	10,7 ± 0,56 <sup>a</sup>	11,7 ± 1,78 <sup>a</sup>	12,1 ± 2,34 <sup>a</sup>
AUC <sub>Insulin</sub> (0.-19. min, µU × min/ml)	1738 ± 1088 <sup>a</sup>	725 ± 520 <sup>b</sup>	575 ± 230 <sup>c</sup>	415 ± 311 <sup>c</sup>
AUC <sub>Glucose</sub> (0.-19. min, mmol × min/l)	78,3 ± 29,2 <sup>a</sup>	71,4 ± 30,5 <sup>a</sup>	59,1 ± 22,6 <sup>a</sup>	64,0 ± 9,39 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Einteilung insulinresistent (IR) bzw. insulinsensitiv (IS) zu Versuchsbeginn <sup>abc</sup>unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Reihe kennzeichnen signifikante Effekte mit  $p < 0,05$

sank die Serum Insulinaktivität der zu Versuchsbeginn als insulinresistent klassifizierten Ponys deutlich unter  $10 \mu\text{U/ml}$  und erreichte zum Versuchsende Aktivitäten um  $4,36 \pm 3,89 \mu\text{U/ml}$ . Auch die als insulinsensitiv klassifizierten Ponys wiesen gegen Ende der Beobachtungsperiode signifikant niedrigere Insulinaktivitäten ( $0,8 \pm 0,7 \mu\text{U/ml}$ ) als zu Versuchs-



**Abb. 3** Plasma Glucosekonzentration (MW±SD,  $\mu\text{U/ml}$ ) im Verlaufe des KGRP in Abhängigkeit der Klassifizierung der Insulinwirkung (insulinresistent [N=7] vs insulinsensitiv [N=8]) zu Beginn des Versuchs (Gruppe  $p=0,15$ , Zeit  $p<0,05$ , Gruppe×Zeit  $p=0,219$ )  
*Plasma glucose (mean±SD) during body weight reduction programme related to classification of insulin action (insulin-resistant [N=7] to insulin-sensitive [n=8]) at the beginning of the study (group  $P=0.15$ , time  $P<0.05$ , group x time  $P=0.219$ )*

beginn auf (Abb. 2). Die Nüchtern-glucosekonzentrationen im Plasma variierten auf einem moderat höheren Niveau für die zu Beginn als insulinresistent eingestuft Ponys, die Glucosekonzentrationen lagen aber für alle Ponys immer deutlich innerhalb der Referenzwerte von 3-5,2 mmol/l (Abb. 3).

Zwischen dem Insulinsensitivitätsindex (SI) und den Nüchterninsulinaktivitäten konnte ein signifikanter Zusammenhang mit  $r=-0,52$  ermittelt werden, der Zusammenhang kann mit folgender Gleichung dargestellt werden:  $y=25,2-1,4 \times (x=SI, y=\text{Nüchterninsulinaktivität})$ .

## Diskussion

Die Ponys zeigten eine durchschnittliche Gewichtsabnahme von 1,4–2,8 % des Körpergewichts pro Woche bei einer Heuzulage von 1 kg/100 kg KM/Tag, was einer Energieaufnahme von 7 MJ DE/100 kg KM/Tag entspricht. Ähnliche Ergebnisse wurden auch von van Weyenberg et al. (2008b) sowie Dugdale et al. (2010) erzielt. Die beobachteten Körpergewichtsverluste waren mit keinerlei negativen gesundheitlichen Konsequenzen wie z.B. Hyperlipidämien verbunden (Schmengler et al., Publikation eingereicht), allerdings steht die notwendige Reduktion der Raufuttermenge in Konflikt mit der derzeit geltenden Raufutterempfehlung von mindestens 1,5 kg Heu/100 kg KM/Tag. Diese Diskrepanz spiegelte sich auch im Verhalten der Ponys dieser Studie wider, die während der letzten Versuchswochen Verhaltensauffälligkeiten in Form

von Sandaufnahme und auffällig vermehrten Leckens des Salzsteines auf dem Sandpaddock zeigten.

In Studien beim Pferd konnte ein enger Zusammenhang zwischen der Fettleibigkeit und einer Insulinresistenz gezeigt werden (Hoffman et al. 2003, Vick et al. 2007, Carter et al. 2009). Unter adipösen Bedingungen kommt es zu einer Umgestaltung des weißen Fettgewebes einhergehend mit einer Adipozytenhypertrophie und -plasie, einer Makrophageninfiltration, endothelialer Zellaktivierung und Fibrose. Hypertrophe Fettzellen verschieben ihre Immunfunktion in Richtung einer Produktion proinflammatorischer Proteine, sodass bei Adipositas die physiologischerweise antiinflammatorischen Eigenschaften des Fettgewebes in proinflammatorische umgewandelt werden. Beim Menschen wird dieser Zustand als „chronisch-geringgradiger Entzündungsstatus“ bezeichnet (Stumvoll 2010). Der Begriff „Adipo(zyto)kine“ umfasst hierbei alle vom Fettgewebe produzierten und sezernierten Substanzen, die sowohl lokale als auch systemische Wirkungen haben. Zu nennen sind hierbei Zytokine (z.B. TNF $\alpha$ ), Hormone (z.B. Leptin), Wachstumsfaktoren, Enzyme, Komplementfaktoren und Prostaglandine (Stumvoll 2010). Einige von ihnen werden ausschließlich oder vorwiegend vom Fettgewebe produziert, während andere auch in verschiedenen Geweben außerhalb des Fettgewebes synthetisiert werden.

Adipo(zyto)kine beeinflussen Appetit und Sättigung, den Glucose- und Lipidmetabolismus, die Blutdruckregulation sowie die Inflammation und Immunfunktion; genauer gesagt arbeiten sie als ein Netzwerk, das die Inflammation, Insulinaktion, den Glucose- und den Lipidmetabolismus lokal und systemisch reguliert. Beim Pony konnte allerdings dieser Sachverhalt noch nicht klar nachgewiesen werden, da bei adipösen insulinresistenten Ponys die mRNA Expression von verschiedenen Zytokinen nicht signifikant gegenüber insulinsensitiven Ponys erhöht war (Ungru et al. 2012). Unabhängig davon, konnte aber in der vorliegenden Studie gezeigt werden, dass durch eine entsprechende Körpergewichtsreduktion bei insulinresistenten Ponys die Insulinsensitivität deutlich verbessert werden konnte bzw. die Insulinresistenz reversibel war. Neben der Gewichtsreduktion wurden die Ponys einem sehr moderaten Bewegungsprogramm unterzogen, welches ebenfalls einen positiven Einfluss auf die Verbesserung der Insulinsensitivität ausüben kann. Die Resultate hinsichtlich der Auswirkung von Training auf die Insulinsensitivität bei Pferden sind kontrovers. Während einige Studien einem Bewegungsprogramm positive Wirkung bezüglich einer Verbesserung der IR zuschrieben (Powell et al. 2002, Pratt et al. 2006, Stewart-Hunt et al. 2010), konnten andere Studien ausschließlich durch Training ohne Durchführung einer restriktiven Diät keinen Effekt auf die Insulinsensitivität beobachten (Freestone et al. 1992, Carter et al. 2010).

In der aktuellen Studie konnte allerdings auch dargestellt werden, dass nicht grundsätzlich eine Adipositas mit einer Insulinresistenz einhergeht, da acht der Versuchsp Ponys zwar adipös waren, aber keine Insulinresistenz aufwiesen. Ähnlich wie beim Menschen muss daher davon ausgegangen werden, dass ein „gesunden Phänotyp“ auch bei Ponys vorliegen kann.

Erwähnenswert ist des Weiteren, dass bei insulinresistenten Ponys keine Hyperglycämie zu beobachten war, was den

Schluss zulässt, dass die  $\beta$ -Zellen des Pankreas in der Lage waren durch eine erhöhte Insulinsekretion einer Hyperglycämie entgegenzuwirken. Es kann somit von einer kompensierten Insulinresistenz gesprochen werden, welches durch die Studien von *Treiber et al.* (2005) und *Bailey et al.* (2008) ebenfalls bestätigt wird.

Die anhand des FSIGTT kalkulierten Parameter wie z.B. der Insulinsensitivitätsindex (SI) bestätigen im Wesentlichen die einzeln bestimmten Nüchterninsulinaktivitäten. Aufgrund dessen, dass der FSIGTT, auf dessen Grundlage der SI Wert kalkuliert worden ist, einen hohen Zeitaufwand erfordert und somit unter Praxisbedingungen nur schwer durchzuführen ist, scheint die Bestimmung der Insulinwirkung anhand eines einzelnen Nüchterninsulinwertes eine Alternative darzustellen. Bezüglich der Festlegung der Referenzwerte besteht allerdings Konfliktpotenzial: *Treiber et al.* (2005) legten die Grenze für eine Hyperinsulinämie bei  $>40,4$  mU/l, *Johnson et al.* (2004) bei  $>30$   $\mu$ U/ml und *Frank et al.* (2009) sowie *Durham* (2010) bei  $>20$   $\mu$ U/ml.

In der eigenen Studie fiel auf, dass zu Beginn des Versuchs generell eine hohe Streubreite der Nüchterninsulinwerte, sowohl bei den insulinresistenten als auch bei den insulin-sensitiven Ponys zu verzeichnen war, wohingegen bei allen Ponys zu Versuchsbeginn Nüchterninsulinwerte  $<10$  mU/ml im Serum bei einer sehr geringen Streubreite gemessen wurden. Zu betonen ist, dass eine geringe Streubreite nur unter standardisierten Bedingungen zu erwarten ist, unter Praxisbedingungen ist aufgrund zahlreicher Einflussfaktoren wie z.B. Einhaltung einer Nüchternperiode, Variation in der Heuzusammensetzung, Bewegung etc mit einer größeren Variation bei den Insulinwerten zu rechnen. Bezüglich der Festlegung von kritischen Insulinaktivitäten bedarf es demnach weiterer Studien, zumal die Beziehung zwischen dem SI Index und den Nüchterninsulinwerten nur mit  $r=-0,52$  beschrieben werden konnte.

Zusammenfassend wird durch diese Studie deutlich, dass bei einer Gewichtsabnahme von 1,4–2,8 % pro Woche die Insulinsensitivität insulinresistenter, adipöser Ponys signifikant verbessert werden kann. Zudem scheinen bezüglich der Diagnostik der Insulinwirkung Nüchterninsulinwerte eine praxisnahe Alternative zu den umfangreichen Methoden z.B. den FSIGTT darzustellen. Kritische Referenzwerte für die dysregulierte Insulinwirkung werden zurzeit mit  $>20$ – $>40$   $\mu$ U/ml angegeben.

## Verzeichnis der Abkürzungen

AUC	Area under the curve
BCS	Body condition score
CNS	Cresty neck score
DE	Digestible energy (verdauliche Energie)
EMS	Equines metabolisches Syndrom
FSIGTT	Frequently sampled intravenous glucose tolerance test
IR	Insulinresistent
IS	Insulinsensitiv
KGRP	Körpergewichtsreduktionsprogramm
KM	Körpermasse
MW	Mittelwert
SD	Standardabweichung
SI	Insulinsensitivitätsindex
TM	Trockenmasse

## Literatur

- Bailey S. R., Habershon-Butcher J. L., Ransom K. J., Elliott J. und Menzies-Gow N. J.* (2008) Hypertension and insulin resistance in a mixed-breed population of ponies predisposed to laminitis. *Am. J. Vet. Res.* 69., 122-129
- Bergman R. N., Ider Y. Z., Bowden C. R. und Cobelli C.* (1979) Quantitative estimation of insulin sensitivity. *Am. J. Physiol.* 236, E667-E677
- Boston R. C., Stefanovski D., Moate P. J., Sumner A. E., Watanabe R. M. und Bergman R. N.* (2003) MINMOD Millennium: a computer program to calculate glucose effectiveness and insulin sensitivity from the frequently sampled intravenous glucose tolerance test. *Diabetes Technol. Ther.* 5, 1003-1015
- Buff P. R., Johnson P. J., Wiedmeyer C. E., Ganjam V. K., Messer N. T. und Keisler D. H.* (2006) Modulation of leptin, insulin, and growth hormone in obese pony mares under chronic nutritional restriction and supplementation with ractopamine hydrochloride. *Vet. Ther.* 7, 64-72
- Carter R. A., McCutcheon L. J., Valle E., Meilahn E. N. und Geor R. J.* (2010) Effects of exercise training on adiposity, insulin sensitivity, and plasma hormone and lipid concentrations in overweight or obese, insulin-resistant horses. *Am. J. Vet. Res.* 71, 314-321.
- Carter R. A., Geor R. J., Burton Staniar W., Cubitt T. A. und Harris P. A.* (2009) Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. *Vet. J.* 179, 204-210
- Dugdale A. H., Curtis G. C., Cripps P., Harris P. A. und Argo C. M.* (2010) Effect of dietary restriction on body condition, composition and welfare of overweight and obese pony mares. *Equine Vet. J.* 42(7), 600-610
- Dumas A.* (1962) Stickstoffbestimmung nach Dumas. Die Praxis des org. Chemikers. Schrag, Nürnberg, Deutschland, 41. Auflage
- Durham A.* (2010) Diagnosis of the equine metabolic syndrome. Proceedings des 5. Leipziger Tierärztekongresses, Band 1; Aschenbach J.R., Gäbel G., Daugschies A., Vervuert I. Leipziger Universitätsverlag GmbH, Leipzig, Deutschland, 1. Auflage, 93-97
- Firshman A. M. und Valberg S. J.* (2007) Factors affecting clinical assessment of insulin sensitivity in horses. *Equine Vet. J.* 39, 567-575
- Frank N., Elliott S. B., Brandt L. E. und Keisler D. H.* (2006) Physical characteristics, blood hormone concentrations, and plasma lipid concentrations in obese horses with insulin resistance. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 228, 1383-1390
- Frank N., Geor R. J., Bailey S. R., Durham A. E. und Johnson P. J.* (2009) Equine metabolic syndrome. *J. Vet. Intern. Med.* 24, 467-475
- Freestone J. F., Beadle R., Shoemaker K., Bessin R. T., Wolfsheimer K. J. und Church C.* (1992) Improved insulin sensitivity in hyperinsulinaemic ponies through physical conditioning and controlled feed intake. *Equine Vet. J.* 24, 187-190
- Geor R. J.* (2008) Metabolic predispositions to laminitis in horses and ponies: obesity, insulin resistance and metabolic syndromes. *J. Equine Vet. Sci.* 28, 753-759
- Gordon M. E., McKeever K. H., Betros C. L. und Manso Filho H. C.* (2007) Plasma leptin, ghrelin and adiponectin concentrations in young fit racehorses versus mature unfit standardbreds. *Vet. J.* 173, 91-100
- Henneke D. R., Potter G. D., Kreider J. L. und Yeates B. F.* (1983) Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Vet. J.* 15, 371-372
- Hoffman R. M., Boston R. C., Stefanovski D., Kronfeld D. S. und Harris P. A.* (2003) Obesity and diet affect glucose dynamics and insulin sensitivity in Thoroughbred geldings. *J. Anim. Sci.* 81, 2333-2342
- Houseknecht K. L. und Spurlock M. E.* (2003) Leptin regulation of lipid homeostasis: dietary and metabolic implications. *Nutr. Res. Rev.* 16, 83-96
- Johnson P. J.* (2002) The equine metabolic syndrome peripheral Cushings syndrome. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 18, 271-293

- Johnson P. J., Messer N. T., Slight S. H., Wiedmeyer C., Buff P. und Ganjam V. K. (2004) Endocrinopathic laminitis in the horse. Clin. Tech. Equine Pract. 3, 45-56
- Kahn C. R. (1978) Insulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness: a necessary distinction. Metabolism 27(Suppl 2), 1893-1902
- Kearns C. F., McKeever K. H., Roegner V., Brady S. M. und Malinowski K. (2006) Adiponectin and leptin are related to fat mass in horses. Vet. J. 172, 460-465
- Kronfeld D. S., Treiber K. H., Hess T. M. und Boston R. C. (2005) Insulin resistance in the horse: definition, detection, and dietetics. J. Anim. Sci. 83, E22-E31
- Meyer H. und Coenen M. (2002) Pferdefütterung. Parey Buchverlag, Berlin, Deutschland, 4. Auflage
- Naumann K., Bassler R., Seibold R. und Barth K. (1976) Methodenbuch III: Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Verlag Neumann, Melsungen, Deutschland, 3. Auflage
- Powell D. M., Reedy S. E., Sessions D. R. und Fitzgerald B. P. (2002) Effect of short-term exercise training on insulin sensitivity in obese and lean mares. Equine Vet. J. Suppl. 34, 81-84
- Pratt S. E., Geor R. J. und McCutcheon L. J. (2006) Effects of dietary energy source and physical conditioning on insulin sensitivity and glucose tolerance in Standardbred horses. Equine Vet. J. Suppl. 36, 579-584
- Reimers T. J., Cowan R. G., McCann J. P. und Ross M. W. (1982) Validation of a rapid solid-phase radioimmunoassay for canine, bovine, and equine insulin. Am. J. Vet. Res. 43, 1274-1278
- Stewart-Hunt L., Geor R. J. und McCutcheon L. J. (2006) Effects of short-term training on insulin sensitivity and skeletal muscle glucose metabolism in Standardbred horses. Equine Vet. J. Suppl. 36, 226-232
- Stumvoll M. (2010) Metabolisches Syndrom beim Menschen – Mechanismen. LBH Proceedings, 5. Leipziger Tierärztekongress, 81-85
- Schmengler U., Ungru J., Boston R., Coenen M. und Vervuert I. The effects of L-carnitine supplementation on body weight losses and metabolic profile in obese and insulin resistant ponies during a several weeks lasting bodyweight reduction programme. Submitted Livestock Science
- Tóth F., Frank N., Elliott S. B., Perdue K., Geor R. J. und Boston R. C. (2009) Optimisation of the frequently sampled intravenous glucose tolerance test to reduce urinary glucose spilling in horses. Equine Vet. J. 41, 844-851
- Treiber K. H., Kronfeld D. S., Hess T. M., Boston R. C. und Harris P. A. (2005b) Use of proxies and reference quintiles obtained from minimal model analysis for determination of insulin sensitivity and pancreatic beta-cell responsiveness in horses. Am. J. Vet. Res. 66, 2114-2121
- Ungru J., Blüher M., Coenen M., Raila J., Boston R. und Vervuert I. (2012) Effects of body weight reduction on blood adipokines and subcutaneous adipose tissue adipokine mRNA expression profiles in obese ponies. Vet. Rec. 171, 528-535
- van Weyenberg S. (2008a) Leptin, obesity and equine insulin resistance [PhD vet. Sci]. Ghent: Univ. Ghent
- van Weyenberg S., Hesta M., Buyse J. und Janssens G. P. J. (2008b) The effect of weight loss by energy restriction on metabolic profile and glucose tolerance in ponies. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 92, 538-545
- Vick M. M., Adams A. A., Murphy B. A., Sessions D. R., Horohov D. W., Cook R. F., Shelton B. J. und Fitzgerald B. P. (2007) Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. J. Anim. Sci. 85, 1144-1155

PD Dr. Ingrid Vervuert

Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik

Veterinärmedizinische Fakultät

Universität Leipzig

An den Tierkliniken 9

04103 Leipzig

ingrid.vervuert@vetmed.uni-leipzig.de