

Itrakonazol till häst - en farmakokinetisk möjlighet?

Eva Sonesson

**Handledare: Carina Ingvast Larsson
Biträdande handledare: Lena Olsén
Institutionen för biomedicin och
veterinär folkhälsovetenskap**

INNEHÅLL

<u>FÖRORD</u>	4
<u>SUMMARY</u>	5
<u>INLEDNING</u>	6
<u>ITRAKONAZOL</u>	6
<u>MYKOSER</u>	7
<u>SYFTE</u>	8
<u>MATERIAL OCH METODER</u>	8
<u>HÄSTAR OCH LÄKEMEDEL</u>	8
<u>BLODPROVER</u>	9
<u>ANALYSER</u>	9
<u>RESULTAT OCH DISKUSSION</u>	10
<u>SAMMANFATTNING</u>	14
<u>APPENDIX</u>	15
<u>REFERENSER</u>	16

FÖRORD

Jag vill tacka läkemedelsföretaget Janssen-Cilag AB i Sollentuna, Sverige, som så vänligt donerade läkemedlet Sporanox® samt itrakonazol som referenssubstans.

Tack också till Agneta Gustafsson och Johan Bröjer, Enheten för kirurgi och medicin, stordjur, Institutionen för klinisk vetenskap, SLU, vilka har bidragit med praktisk hjälp på kliniken.

Jag vill också tacka min biträdande handledare Lena Olsén, doktorand på Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap. Utan hennes hjälp hade jag stått mig slätt när det gäller såväl HPLC-analyser som övrig laboratorieverksamhet. Tack!

Sist, men inte minst, tackar jag även min handledare Carina Ingvast Larsson, som har gett mig så mycket stöd och uppmuntran under arbetet. Hon har också de egenskaper som kanske är de allra viktigaste för en handledare: hon går att nå och hon svarar!

Eva Sonesson, Uppsala i december 2004.

SUMMARY

Itraconazole is a third generation azol, a fungicide which acts by inhibiting ergosterol synthesis in the fungal cell membrane, and thereby disturbing fungal regeneration. It has proven to be less toxic, to have a broader spectrum of activity and to be more potent than its predecessor ketoconazole. Itraconazole is only available in therapeutics approved for human use. Pharmacokinetic studies has been performed in humans, dogs, cats and laboratory animals. Although itraconazole has been used tentatively with good effect against fungal infections in horses, no pharmacokinetic studies have yet been done.

The aim of this pilot study was to get an indication if itraconazole from a pharmacokinetic point of view is a suitable therapeutic agent in equine mycosis. We wanted to make sure that the bioavailability for oral dosing seemed sufficient and that elimination half-life of itraconazole wasn't too short for it to be used in a practical manner.

Two healthy horses were given itraconazole (5 mg/kg) intravenously and orally. Bloodsamples were collected for 71 hours and serum analyses of itraconazole were made by high performance liquid chromatography (HPLC). Pharmacokinetic parameters obtained in this study indicate that itraconazole, from a pharmacokinetic aspect, is suitable for treatment of equine mycosis, considering the long treatment often required. Bioavailability was 33 % (mean, n=2) which is sufficient for the drug to be given orally. Terminal half-life after intravenous administration was 50h (mean, n=2) and therefore drug administration once daily would be adequate. Mean value (n=2) of volume of distribution was 7 l/kg and of clearance 0,11/kg·h. This seems promising and an extended study including a greater number of horses should be performed to optimize dose regimen in horses.

INLEDNING

Itrakonazol

Itrakonazol tillhör azolerna, en grupp lipofila, syntetiska fungicider, vilka verkar genom att hämma metaboliska processer, närmare bestämt cytokrom P-450-enzymen. Enzymen är nödvändiga för att syntetisera ergosterol, den dominerande sterolen i svampcellens membran, och följderna blir att membranets egenskaper förändras och därmed också membranassocierade enzymers funktioner. Den slutliga effekten blir en inhibering av svampens tillväxt (Grant & Clissold, 1989; Cleary *et al.*, 1992, Rang *et al.*, 2001). Itrakonazol är en tredje generationens azol och uppvisar färre biverkningar än sina föregångare, som till exempel ketokonazol. Itrakonazol har högre affinitet till svampars enzymer än vad ketokonazol har och verkar inte heller hämma däggdjurs cytokrom P-450 (Grant & Clissold, 1989). Itrakonazol har också ett bredare spektrum och är mer effektivt mot många olika svampinfektioner.

Inom humanmedicinen används itrakonazol för oralt bruk, antingen som kapslar, eller mixtur, bland annat mot svampinfektioner i hud och naglar, candidavaginit, invasiv aspergillos, oral/esofageal svampinfektion hos HIV-patienter samt som profylax mot svampinfektioner hos immunosupprimerade patienter. För närvarande finns inte itrakonazol i läkemedel godkända för användning till djur, men systemisk behandling med Sporanox® (läkemedel innehållande itrakonazol godkänt för användning till människa) har försöksvis med goda resultat använts mot olika typer av svampinfektioner hos hund och katt (Sharp & Sullivan, 1986; Mundell, 1990).

Farmakokinetik

Farmakokinetiska studier på friska människor visar att efter oral administrering å 100 mg/dag (motsvarar ca 1,4 mg/kg) nås maximal plasmakoncentration (T_{max}) efter 1,5 till 4 timmar och *steady-state* erhålles efter 14 dagars tillförsel av läkemedlet. Halveringstiden ($T_{1/2}$) efter en engångsdos på 100-200 mg ligger runt 20 timmar och vid upprepad oral administrering av 100-400 mg itrakonazol dagligen ökar halveringstiden till ca 30 timmar. Bindningen till proteiner i blodet, framför allt albumin, är så hög som 99,8 %. Itrakonazol har en stor distributionsvolym (V_d) och uppnår i vissa vävnader en koncentration 10 gånger plasmakoncentrationen (Grant & Clissold, 1989).

När det gäller biotillgänglighet (BA) kan man i litteraturen hitta olika uppgifter när det gäller medicinering till fastande eller i samband med mat. Enligt Cleary *et al.* (1992) har studier på människa visat att biotillgängligheten ökar så mycket som från ca 40 % vid oral administrering på fastande mage, till omkring 100 % om medicinering sker i samband med mat. Slain *et al.* (2001) uppger att BA efter oral administrering i samband med mat är ca 55 %. Lågt pH i magsäcken är en förutsättning för adekvat absorption när det gäller läkemedlet i kapselform (FASS, 2004), vilket gör att plasmakoncentrationen av itrakonazol ökar kraftigt när substansen intas i samband med föda (Grant & Clissold, 1989). Om patienten får samtidig behandling med syrahämmare, såsom H_2 -blockerare eller protonpumpshämmare rekommenderas att ta kapslarna med itrakonazol tillsammans med syrainnehållande dryck. Samtidigt kan man läsa att den orala mixturen skall tas på fastande mage för maximalt upptag (FASS, 2004).

Studier avseende itraconazols farmakokinetik har bland annat också gjorts på råttor, kanin, hund och katt. Farmakokinetiken av itraconazol hos hund och katt har visat sig vara liknande den hos människa när det gäller T_{max} och $T_{1/2}$, (Boothe *et al.*, 1997; Yoo *et al.*, 2002).

Mykoser

Mykoser på häst är framförallt relaterade till huden och orsakas oftast av *Trichophyton spp.* eller *Microsporum spp.* (ringorm). Dessa så kallade dermatofytoser kan behandlas lokalt med olika fungicida medel, som t ex enikonazol eller natamycin (båda dessa substanser finns i Europa i läkemedel godkända till häst). Man behandlar också med schampo innehållande klorhexidin eller jod, eller med andra preparat, varav en del är avsedda att användas till människa (Rochette *et al.*, 2003). Eftersom infektionen spontanläker är det ofta svårt att avgöra om det är behandlingen som gör hästen frisk (Stannard & White, 2002). Subkutana och systemiska svampinfektioner är ovanliga i Västeuropa. Bland de mykoser som ändå kan ses ibland finns bland annat mykotisk abort, keratomykos (främst orsakad av *Aspergillus spp.*), svampinfektioner i övre luftvägarna (orsakad av *Aspergillus*, *Conidiobolus*, *Pseudallescheria* med flera), systemisk *candidosis* hos föl och ledinfektioner orsakade av *Candida spp.* Olika fungicida medel och/eller kirurgi har använts för att behandla dessa infektioner (Rochette *et al.*, 2003).

Luftsäcksmykoser

Svampinfektioner i luftsäckarna hos häst är en relativt ovanlig åkomma (Baptiste, 2004) med varierande konsekvenser. Till Enheten för kirurgi och medicin, stordjur, Institutionen för klinisk vetenskap, SLU, inkommer i snitt ett fall per år med luftsäcksmykos (personligt meddelande, Pringle, 2004). Luftsäckarnas slemhinna beläggs med fungala plaque, oftast orsakade av *Aspergillus spp.* (Lepage *et al.*, 2004). Infektionen kan erodera underliggande känsliga strukturer som bland annat den cervikala sympatiska nerven, glossopharyngeala nerven, vagusnerven, maxillarartären samt den externa, och enligt Lane (1989), ffa den interna carotidartärens kärlvägg. Symtomen kan visa sig i form av intermitterent eller fatal epistaxis, dysfagi, ömhet över parotisområdet, onormal huvudhållning, näsflöde, huvudskygghet, onormala respiratoriska ljud, svettning och skakningar, Horners syndrom (ett flertal neurologiskt orsakade ögondefekter), kolik samt ansiktsförlamning (Raker, 1976).

Det vanligaste symtomet som uppmärksammas av ägarna är spontan epistaxis i vila. Första gången yttrar det sig vanligen som en unilateral, mindre blödning, vilken kan följas av flera små blödningar och om ingen behandling ges är det troligt att hästen förblöder när *A. carotis* väggar till slut ger vika (Lane, 1989).

Behandlingen av luftsäcksmykoser har, förutom vid några få beskrivna fall av systemisk behandling med itraconazol, varit antingen kirurgisk, lokal medicinsk eller en kombination av båda. Kirurgiskt finns olika metoder angivna, vilka går ut på att genom ockludering av interna och/eller externa *A. carotis* förhindra blodflöde till den del av kärnen som passerar luftsäcken, antingen genom ligering eller genom balong-kateterisering av kärnen (Freeman & Donawick, 1980; Léveillé *et al.*, 2000; McIlwraith, 1978). I en undersökning på 30 hästar, vilka

behandlats kirurgiskt (ligering av *A. carotis interna*, kardiella sidan) samt lokalt (med natamycin, antibiotika verksamt mot svampinfektioner) återhämtade sig 23 hästar totalt. I denna undersökning dog 3 hästar, 2 avlivades, en fick bestående pharyngeal hemiplegi med åtföljande dysfagi och en häst fick laryngeal hemiplegi (Greet, 1987). I samma undersökning ingick också 5 hästar som endast behandlades med natamycin lokalt, varav en häst återhämtade sig helt, en hade fortsatt dysfagi och 3 avlivades. Dessa hästar hade inte haft epistaxis som ett symptom, det hade alla hästar i den kirurgiskt behandlade gruppen. Annan beskriven lokal behandling med enilkonazol (van Nieuwstadt & Kalsbeek, 1994) har visat sig tillräcklig medan behandling med natamycin inte har fungerat tillfredsställande (McIlwraith, 1978).

När det gäller systemisk behandling med itraconazol, behandlades vid ett tillfälle tre hästar oralt mot mykotisk rhinit (3mg/kg två gånger dagligen). Två av hästarna hade nasala granulom orsakade av *Aspergillus spp.* och visade sig svara bra på behandlingen (den ena behandlades också kirurgiskt). Den tredje hästens rhinit var orsakad av *Conidiobolus coronatus*. Symtomen och utbredningen minskade under den 4,5 månader långa behandlingen, men återkom med förnyad kraft efter behandlingens slut (Korenek *et al.*, 1994). Itraconazol har också vid ett antal tillfällen använts systemiskt mot svampinfektioner i luftsäckarna hos häst i kombination med lokal behandling (Davies & Legendre, 1994; opublicerat data Bröjer, 2003). Det har också med framgång vid ett tillfälle använts mot osteomyelit i halskotpelaren på häst. Denna infektion var orsakad av *Coccidioides immitis* (Foley & Legendre, 1992).

Syfte

Inga farmakokinetiska studier är gjorda på itraconazol hos häst. Detta är en pilotstudie, det vill säga ett underlag till en större studie, för att undersöka om itraconazol ur en farmakokinetisk synvinkel är lämpligt för behandling av mykoser hos häst. För att utveckla en optimal terapi är det nödvändigt med en grundläggande kunskap om itraconazols kinetik hos häst. Vi vill alltså undersöka om biotillgängligheten är tillräckligt stor efter oral giva och att substansen inte elimineras för fort, det vill säga att halveringstiden inte är för kort. Detta är viktigt för att det skall vara praktiskt möjligt att administrera medicinen under de vanligen långa behandlingstiderna.

MATERIAL OCH METODER

Hästar och läkemedel

Två till synes friska och normala hästar tillhörande Institutionen för kliniska vetenskaper, Enheten för kirurgi och medicin, stordjur, SLU, ingick i försöket. Försöket bestod av två delar (A och B), där i var del en häst gavs itraconazol intravenöst (Sporanox®, infusionslösning 10 mg/ml, Janssen-Cilag), 5 mg/kg, med hjälp av permanentkanyl (Milacath, USA) i *V. jugularis*, och en häst gavs itraconazol oralt (Sporanox®, oral mixtur 10 mg/ml, Janssen-Cilag), 5 mg/kg, varpå blodprov togs. Läkemedlet donerades vänligen av Janssen-Cilag, Sverige. Efter en två veckors *wash out*-period fick den häst som tidigare fått oral giva en intravenös infusion och tvärtom. Den orala lösningen gavs på fastande mage via

en nässvalgsond (Nasoflex, Frankrike) direkt i magsäcken. Den parenterala givan gavs som infusion under 45 minuter, också den på fastande mage.

Blodprover

Blodprov togs i serumrör från permanentkanyler (Milacath, USA) i jugularvenerna på de båda hästarna. Hästarna som fick infusion provtogs i motsatta sidans jugularven. Vid oral tillförsel togs blodprover vid 0, 15, 30 och 60 minuter samt vid 2, 3, 6, 9, 12, 19, 25, 37, 49, 61, och 71 timmar (försök A) och vid 0, 15, 30 och 60 minuter samt vid 2, 3, 6, 8, 11, 15, 18, 23, 35, 48 och 55 timmar (försök B). För den intravenösa givan togs proverna under infusionen vid 0, 10, 20, 30 och 40 minuter, därefter vid 5, 10, 15, 30, 45, 60 och 90 minuter samt vid 2, 3, 6, 9, 12, 17, 23, 35, 47, 59, och 71 timmar (försök A) och vid 0, 10, 20, 30 och 40 minuter (under infusion), därefter vid 5, 10, 15, 30, 45, 60 och 90 minuter samt vid 2, 3, 5, 7, 10, 13, 17, 22, 34, 48 och 54 timmar (försök B). Efter varje blodprov spolades kanylen med 5 ml 0,9 % NaCl innehållande 10 IE heparin. Blodproven centrifugerades inom 12 timmar efter varje prov, varpå serumet förvarades i -20°C under ca 5 månader. Efter avslutade försök togs permanentkanylerna bort och hästarna återgick till vanlig verksamhet. Försöket var godkänt av djuretiska nämnden i Uppsala.

Analyser

Kemisk analys

En vätskekromatografisk analys (HPLC – *high performance liquid chromatography*) av itraconazol i serum gjordes med hjälp av en System Gold, Programmable Solvent Module 126 (Beckman, USA), en Spectrometric detector SPD-2A (SHIMADZU corp., Kyoto, Japan). Arean av topparna i kromatogrammen integrerades och beräknades med hjälp av en Merck Hitachi D-2500 Chromato-Integrator. Förkolonnen rymde 2 ml och den analytiska kolonnen var en Ultrasphere C 18, 4,6 x 250 mm (Beckman, USA). Mobil fas bestod av en blandning av acetonitril (CH₃CN) och vatten (60:40) till vilken 0.05 % etanolamin tillsattes. pH justerades till 6,0 med hjälp av 70% ättiksyra och blandningen avgasades med hjälp av ultraljud i 30 min. Detektionsvåglängden sattes till 258 nm och flödes hastigheten till 1,3 ml/min. Alla kemikalier var införskaffade från Merck (Tyskland) och var av den kvalitet som krävs för HPLC-analys.

Beredning av prov

Serumproteiner fälldes genom att 100 µl prov sattes till 150 µl acetonitril. Provet vortexblandades i 30 sekunder och centrifugerades i 5 minuter (2200 g). Efter att ha mosat pellet och blandat provet med hjälp av pipett, centrifugerades provet i 15 minuter (2200 g). Supernatanten tillvaratogs, vortexblandades i 5 sekunder varpå 40 µl injicerades i analysystemet.

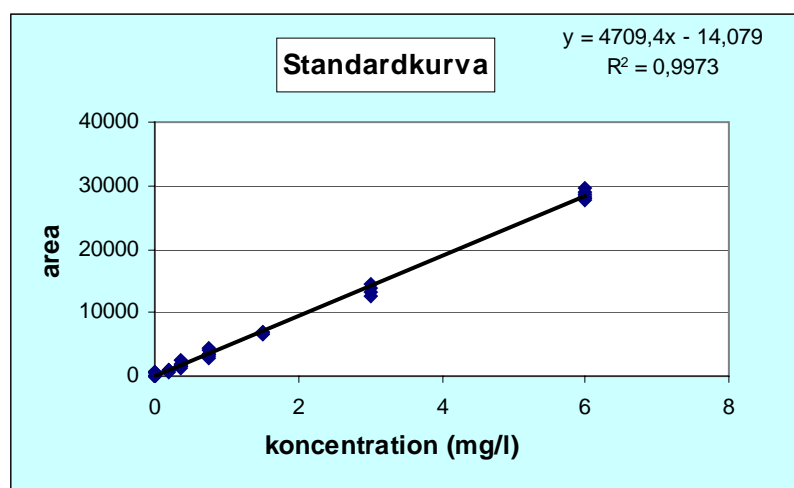
Standardkurva

Itraconazol (tillhandahölls vänligen av Janssen-Cilag, Sverige) löstes i metanol till en stamlösning med koncentrationen 0,2 g/ml. En standardkurva gjordes med poolat hästserum spikat med stamlösning (Tabell 1 och Figur 1).

Tabell 1. Spädningsserie av itraconazol i poolat hästserum

Koncentration (mg/l)	n	medelarea	CV (%)
0	6	326	113,0
6	7	28441	2,4
3	4	13514	6,2
1,5	4	6857	2,5
0,8	6	3562	16,7
0,4	7	1684	22,2
0,2	4	858	16,6

Arean för respektive koncentration plottades i ett diagram och den räta linjens ekvation kunde sedan beräknas med hjälp av linjär regression (Figur 1). På fyra av sex 0-prover blev arean inte lika med noll. Inte heller kunde koncentrationer lägre än 0,2 mg/l detekteras med säkerhet.



Figur 1. Standardkurva, itraconazol i serum.

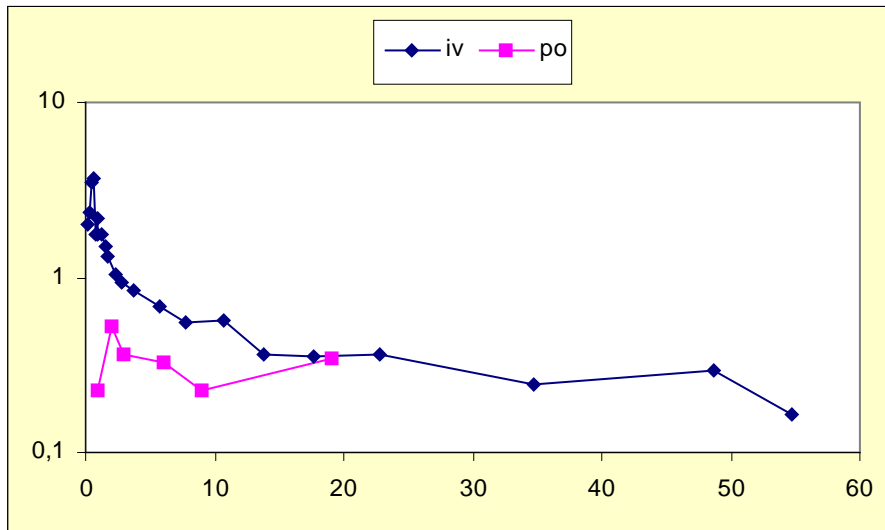
Farmakokinetisk analys

Den terminala hastighetskonstanten (k) bestämdes med hjälp av icke linjär regression (Microsoft Excel). Arean under kurvan (AUC) räknades ut med hjälp av trapetsmetoden och $T_{1/2}$ kunde beräknas med hjälp av k . Distributionsvolym (V_d) och clearance (Cl) för intravenös giva beräknades. Biotillgängligheten (BA) för oral administrering likaså (för formler se appendix).

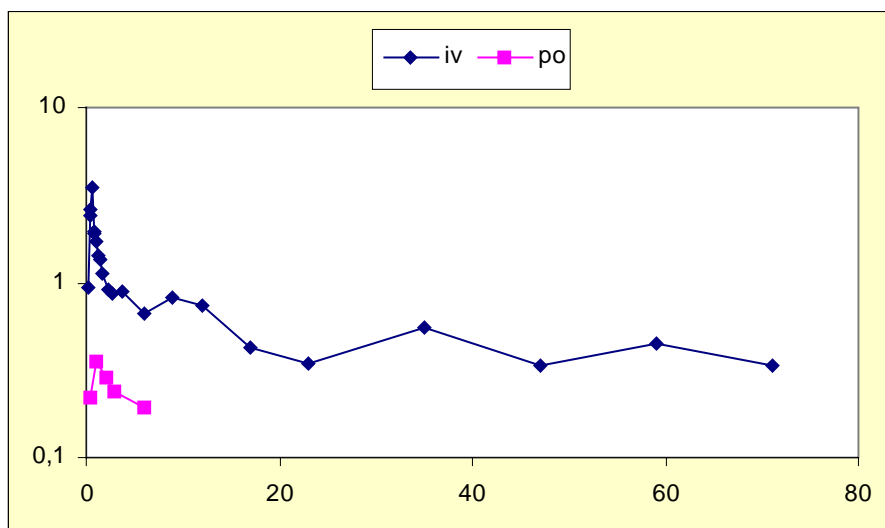
Resultat och Diskussion

Inga negativa effekter av itraconazol kunde vid något tillfälle ses på hästarna. Koncentrationen av itraconazol i försökshästarnas serum (Figur 2 och 3) räknades ut med hjälp av standardkurvans ekvation (Figur 1). För de intravenösa (5-48h och 6-71h) och de orala givorna (1-6h och 2-19h) följde kurvan ett enkelt exponentiellt förlopp varvid den terminala hastighetskonstanten (k) kunde

beräknas. Vid den intravenösa givan kunde man mäta koncentrationen i 48 (häst 1) respektive 71 timmar (häst 2). Vid oral giva kunde koncentrationer uppmätas till och med 19 timmar (häst 1) men endast till och med 6 timmar (häst 2), vilket innebär att koncentrationen i serum var under bestämbar nivå vid de senare provtagningstillfällena (figur 2 och 3). Den analysmetod som användes visade sig ha för låg känslighet för att bestämma koncentrationer $< 0,2$ mg/l.



Figur 2. Koncentrationer av itraconazol i serum efter oral respektive intravenös administrering, häst 1.



Figur 3. Koncentrationer av itraconazol i serum efter oral respektive intravenös administrering, häst 2.

Tillförlitligheten för de farmakokinetiska parametrarna (Tabell 2) i denna undersökning kan diskuteras. Halveringstiderna varierade ganska mycket i den terminala fasen. De var kortare efter oral giva än efter intravenös, framförallt när det gällde häst 2. Detta beror troligtvis på analysmetodens låga känslighet och att det långsamma terminala förlopp som påvisades efter den intravenösa givan inte kunde bestämmas efter den orala tillförseln. Jämfördes halveringstiden under en bestämd tidsperiod, det vill säga innan den terminala fasen planar ut i iv-kurvan, sågs ingen skillnad. Vid oral giva var halveringstiden 5 respektive 6 timmar, räknat mellan 2 - 9h (häst 1) och 1 - 6h (häst 2). Vid intravenös giva var halveringstiden 4 respektive 5 timmar om man räknade mellan 5min - 10h (häst 1) respektive 5min - 6h (häst 2).

Biotillgängligheten beräknades genom att jämföra AUC under ett bestämt tidsintervall, vilket troligtvis ger en sannare bild av verkligheten än om BA beräknas med hjälp av AUC extrapolerat till oändligheten ($AUC_{0-\infty}$). BA för båda hästarna var tio gånger större om man beräknade den med hjälp av $AUC_{0-19h,iv}$ och $AUC_{0-17h,po}$ (häst 1) samt $AUC_{0-6h,iv\&po}$ (häst 2) än om man använder AUC extrapolerat till oändligheten (Tabell 2). Ingen koncentration var uppmätt för intravenös giva vid 19 timmar, därför användes AUC_{iv} -värdet från 17 timmar (häst 1).

Arean under kurvan extrapolerat till oändligheten ($AUC_{0-\infty}$) uppvisar också en individuell variation oavsett administreringsätt. Häst 2 har en mycket större $AUC_{0-\infty,iv}$ än häst 1 och häst 1 har sex gånger så stor $AUC_{0-\infty,po}$ som häst 2 (Tabell 2). Om man däremot jämför de två hästarnas $AUC_{0-17h,iv}$ är skillnaden mycket liten (12,3 respektive 14,6 mg·h/l), likaså när man jämför häst 1 och 2 $AUC_{0-6h,po}$ (2,0 respektive 1,4 mg·h/l). Detta styrker uppfattningen om att metodens låga känslighet ger oss falska resultat när vi extrapolerar värdena till oändligheten.

Tabell 2. Farmakokinetiska parametrar för itrakonazol efter engångsdos under infusion, iv (5mg/kg) samt po (5mg/kg)

Häst	$AUC_{0-\infty}$ (mg·h/l)	AUC_{0-T} (mg·h/l)	$T_{1/2}$ (h)	Cl (l/kg·h)	V_d (l/kg)	C_{max} (mg/l)	T_{max} (min)	BA_T (%)	k
1, iv	36,88	12,30 ^γ	35,5	0,136	6,95	2,2	10	-	0,0195
2, iv	68,26	7,03 ^ε	65,4	0,073	6,91	2,0	5	-	0,0106
1, po	18,12	5,68 ^δ	26,8	-	-	0,5	120	46,1 ^δ	0,0259
2, po	2,92	1,43 ^ε	5,4	-	-	0,4	60	20,3 ^ε	0,128

T = tidsbegränsad, ^γ T = 17h, ^ε T = 6h, ^δ T = 19h. BA_T : häst 1, iv jämfördes med häst 1, po och häst 2, iv jämfördes med häst 2, po.

AUC = arean under kurvan, $T_{1/2}$ = terminala halveringstiden, Cl = clearance, V_d = distributionsvolym, C_{max} = maximal koncentration, T_{max} = tid för maximal uppmätt koncentration, BA = biotillgänglighet, k = terminala lutningskonstanten.

Även om denna studie är för liten för att några slutsatser skall kunna dras, kan man ändå jämföra dessa parametrar med resultat från farmakokinetiska studier på katt (Booth *et al.*, 1997) och hund (Heykants *et al.*, 1987). Efter intravenös engångsdos à 5 mg/kg förefaller halveringstiden för itrakonazol hos häst (i snitt 50 h) ligga nära den hos hund (51 h) och katt (57 h). Clearance varierade från 0,10 l/kg·h (i snitt för häst) till 0,23 l/kg·h (hund) och clearance för katt var 0,17 l/kg·h. Att clearance hos hund är nästan dubbelt så stor som den hos häst återspeglas också av att halveringstiderna ligger mycket nära varandra medan distributionsvolymerna skiljer sig relativt mycket åt. Distributionsvolymen hos hund var 17 l/kg och hos häst i snitt 7 l/kg, vilken också låg närmare den hos katt (5 l/kg). Biotillgängligheten efter en oral dos på 100 mg (ca 1,4 mg/kg) ligger hos människa på 40 % vid medicinering på fastande mage (Grant & Clissold, 1989), vilket är jämförbart med biotillgängligheten hos hästarna som fick itrakonazol oralt (46 och 20 % beräknat på AUC fram till 19 respektive 6 timmar). I försöket på katt (Booth *et al.*, 1997) får man efter oral administrering en BA på 74 %, men då ska man ha i åtanke att katterna matades strax efter itrakonazolgivningen.

Itrakonazol har visat sig vara verksamt mot flera olika slags svampinfektioner. Farmakodynamiska studier *in vitro* har visat att MIC₍₉₀₎ (*minimum inhibitory concentration*, minsta koncentration som krävs för att eliminera 90 % av organismen) varierar beroende på typ av svamp och ligger på <1 mg/l när det gäller ett flertal svampar, såsom t ex *Aspergillus spp.* (0,13 mg/l) och *Microsporium spp.* (0,25 mg/l). MIC₍₉₀₎ för *Trichophyton spp.* (som tillika med *Microsporium spp.* orsakar dermatofytos) var så hög som 4 mg/l. Studier på människa *in vivo* har visat att serumkoncentrationer av itrakonazol vid behandling av olika svampinfektioner ligger, med en dos på 100mg/dag, mellan 0,2 mg/l och 0,6 mg/l. Dessa koncentrationer har visat sig vara tillräckliga när det gäller flertalet vanliga svamppatogener (Grant & Clissold, 1989).

Denna studie säger ingenting om farmakokinetik av itrakonazol på häst vid långvarig behandling. Studier på marsvin indikerar en behandlingstid på minst fjorton dagar (Grant & Clissold, 1989) och på människa är behandlingstiden vid invasiv aspergillos beroende av kliniskt och mykologiskt svar (FASS, 2004). I en stor amerikansk studie (Tucker *et al.*, 1988) behandlades patienter med olika typer av svampinfektioner med itrakonazol mellan nio och tolv månader. Tiden för oral itrakonazolbehandling på häst har varierat mellan tre veckor vid luftsäcksaspergillos (Davies & Legendre, 1994) och sex månader vid *coccidioidomycosis osteomyelitis* (Foley & Legendre, 1992). Därför skulle det vara intressant med en längre studie med upprepad behandling med itrakonazol och fastställa farmakokinetiska parametrar vid *steady state*. Det skulle också vara bra att undersöka biotillgängligheten när itrakonazol ges oralt tillsammans med eller strax efter mat. När det gäller halveringstid och biotillgänglighet indikerar studien att itrakonazol väl svarar mot farmakokinetiska önskemål. Det vill säga: biotillgängligheten är tillräckligt hög vid oral tillförsel och halveringstiden är tillräckligt lång för att det skall räcka att behandla en gång om dagen, vilket är önskvärt.

SAMMANFATTNING

Itrakonazol är en tredje generationens azol. En fungicid som verkar genom att inhibera ergosterolsyntesen i svampcellens membran och därigenom störa svampens reproduktion. Den har visat sig vara mer potent, ha ett bredare spektrum och vara mindre toxisk än sin föregångare ketokonazol. Ittrakonazol finns för närvarande endast i läkemedel godkända för människa. Farmakokinetiska studier har gjorts på människa, hund, katt och små försöksdjur. Även om ittrakonazol med viss framgång försöksvis har använts mot svampinfektioner på häst, har hittills inga farmakokinetiska studier gjorts på detta djurslag.

Syftet med denna pilotstudie var att få en indikation om ittrakonazol, ur en farmakokinetisk synvinkel, är ett lämpligt läkemedel mot mykoser på häst. Vi ville se om biotillgängligheten för oral dosering var tillräckligt hög och om halveringstiden för ittrakonazol var tillräckligt lång för att substansen skulle kunna användas rent praktiskt.

Två friska hästar gavs ittrakonazol (5 mg/kg) intravenöst och oralt. Blodprover togs upp till 71h efter tillförseln, varefter ittrakonazol i serum analyserades med hjälp av *high performance liquid chromatography* (HPLC). De farmakokinetiska parametrar som erhöles i studien indikerar att ittrakonazol är lämplig för behandling av mykoser hos häst. Distributionsvolymen var 7 l/kg för båda hästarna och clearance var i snitt 0,11 l/kg·h (n=2). Halveringstiden vid intravenös giva var i snitt 50 timmar och biotillgängligheten vid oral giva var i snitt 33 % (n=2). Dessa resultat visar troligtvis att det är lämpligt att ge ittrakonazol oralt till häst och att dosering endast behöver ske en gång per dygn, vilket är önskvärt med tanke på den långa behandlingstid som ofta krävs vid en svampinfektion. Detta verkar lovande inför framtiden och en utökad studie över en längre tid och med fler hästar borde företas för att optimera dosering.

Appendix

$AUC_{0-\infty}$ (area under kurvan, extrapolerat till oändligheten)

$$= (\sum (C_i + C_{i-1}) (T_i - T_{i-1}) / 2) + C_t / k$$

C_t = sista koncentration

k = hastighetskonstanten terminala fasen

Cl (clearance) = $Dos / AUC_{0-\infty}$

$T_{1/2}$ (halveringstid) = $\ln 2 / k$

V_d (distributionsvolym) = $Dos / AUC \cdot k$

BA (biotillgänglighet) = AUC_{po} / AUC_{iv}

C_{max} (maximal koncentration)

T_{max} (tid för maximal koncentration)

REFERENSER

- Baptiste K.E. 2004. The mystery of guttural pouch mycosis: the paradox of advancing knowledge of a rare disease. *Vet J.* 168, 1-2.
- Boothe D.M., Herring I., Calvin J., Way N. & Dvorak J. 1997. Itraconazole disposition after single oral and intravenous and multiple oral dosing in healthy cats. *AJVR*, 58, 872- 877.
- Bröjer J. 2003. Institutionen för kliniska vetenskaper, SLU, Uppsala. Opublicerade data. Oktober 2003.
- Cleary J.D., Taylor J.W., Chapman S.W. 1992. Itraconazole in antifungal therapy. *Ann Pharmacother.* 26, 502-509.
- Davies E.W. & Legendre A.M. 1994. Successful treatment of guttural pouch mycosis with itraconazole and topical enilconazole in a horse. *J Vet Intern Med* 8, 304-305.
- FASS. 2004. Elanders, Kungsbacka.
- Freeman D.E. & Donawick W.J. 1980. Occlusion of internal carotid artery in the horse by means of a ballon-tipped catheter: clinical use of a method to prevent epistaxis caused by guttural pouch mycosis. *JAVMA* 176, 236-240.
- Foley J.P. & Legendre A.M. 1992. Treatment of coccidioidomycosis osteomyelitis in a horse. *J Vet Intern Med* 6, 333-334.
- Grant S.M. & Clissold S.P. 1989. Itraconazole. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in superficial and systemic mycoses. *Drugs* 37, 310-344.
- Greet T.R.C. 1987. Outcome of treatment in 35 cases of guttural pouch mycosis. *Equine Vet J* 19, 483-487.
- Heykants J., Michiels M., Meuldermans W. & al. The pharmacokinetics of itraconazole in animals and man. An overview. In: Recent trends in the discovery, development, and evaluation of antifungal agents. Barcelona, Spain: J R Prouse Science, 1987; 223-250.
- Korenek N.L., Legendre A.M., Andrews F.M., Blackford J.T., Wan P.Y., Breider M.A. & Rinaldi M.G. 1994. Treatment of mycotic Rhinitis with itraconazole in three horses. *J Vet Intern Med* 8, 224-227.
- Lane J.G. 1989. The management of guttural pouch mycosis. *Equine Vet J.* 21, 321-324.
- Lepage O.M., Perron M.-F. & Cadore J.-L. 2004. The mystery of fungal infection in the guttural pouches. *Vet J* 168, 60-64.
- Léveillé R., Hardy J., Robertson J.T., Willis A.M., Beard W.L., Weisbrode S.E. & Lepage O.M. 2000. Transarterial coil embolization of the internal and external carotid and maxillary arteries for prevention of hemorrhage from guttural pouch mycosis in horses. *Vet Surg* 29, 389-397.
- McIwraith C.W. 1978. Surgical treatment of acute epistaxis associated with guttural pouch mycosis. *Vet Med Small Anim Clin* 73, 67-69.
- Mundell A.C. 1990. New therapeutic agents in veterinary dermatology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 20, 1541-1556.
- Pringle, J. 2004. Professor, Institutionen för kliniska vetenskaper, SLU, Uppsala. Personligt meddelande. September 2004.
- Raker C.W. 1976. Diseases of the guttural pouch. *Mod Vet Pract.* 57, 549-552.

- Rang H.P., Dale M.M. & Ritter J.M. 2001. *Pharmacology*. 4th edition. Harcourt Publishers Limited. Edingburgh, United Kingdom.
- Rochette F., Engelen M. & Vanden Bossche H. 2003. Antifungal agents of use in animal health – practical applications. *J Vet Pharmacol Ther* 26, 31-53.
- Sharp N.J.H. & Sullivan M. 1986. Treatment of canine nasal aspergilosis with systemic ketokonazole and topical enilconazole. *Vet Rec* 118, 560-561.
- Slain D., Rogers P.D., Cleary J.D. & Chapman S.W. 2001. Intravenous itraconazole. *Ann Pharmacother* 35, 720-729.
- Stannard A.A., White S.D. 2002. Mycotic diseases. In: Smith B.P. (Ed.) *Large animal internal medicine*. 3rd edition. Mosby inc. St. Louis, Missouri, USA.
- Tucker R.M., Williams P.L., Arathoon E.G. & Stevens D.A. 1988. Treatment of mycosis with itraconazole. *Ann NY Acad Sci* 544: 451-470.
- van Nieuwstadt R.A. & Kalsbeek H.C. 1994. Air sack mycosis: topical treatment using enilconazole administered via indwelling catheter. *Tijdschr Diergeneeskd* 119, 3-5.
- Yoo, S.D., Kang E., Shin B.S., Jun H., Lee S.H. & Lee K.H. 2002. Interspecies comparison of the oral absorption of itraconazole in laboratory animals. *Arch Pharm Res.* 25, 378-391.