



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

Plasmahalter av buprenorfin efter peroral och intravenös administrering till kanin



Elina Thern

*Uppsala
2018*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2018:52*

Plasmahalter av buprenorfin efter peroral och intravenös administrering till kanin

Plasma levels of buprenorphine following oral and intravenous administration in rabbits

Elina Thern

Handledare: Patricia Hedenqvist, institutionen för kliniska vetenskaper

Biträdande handledare: Lena Olsén, institutionen för kliniska vetenskaper

Examinator: Görel Nyman, institutionen för kliniska vetenskaper

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0830

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2018

Delnummer i serie: Examensarbete 2018:52

ISSN: 1652-8697

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: kanin, buprenorfin, peroral, intravenös, läkemedelsadministrering, smärta, smärtlindring, analgesi, farmakokinetik, biotillgänglighet

Key words: rabbit, buprenorphine, oral, intravenous, drug administration, pain, pain relief, analgesia, pharmacokinetics, bioavailability

SAMMANFATTNING

I takt med att kaninens (*Oryctolagus cuniculus*) popularitet ökar och kravet på alltmer avancerad veterinärvård växer krävs kunskap om hur man smärtlindrar kanin på bästa sätt. Kaninen är ett utpräglat bytesdjur som döljer smärta väl, särskilt i stressade situationer som vid klinikvistelse. Buprenorfin är en vanligt använd opioid för smärtlindring av kaniner. På klinik administreras läkemedlet genom injektion, men för fortsatt smärtlindring i hemmet behövs en mer djurägaranpassad administreringsväg och peroral (PO) administrering skulle kunna vara ett alternativ. Dock är biotillgängligheten av buprenorfin efter PO administrering till kanin inte känd. Syftet med denna studie var att undersöka biotillgängligheten av buprenorfin efter PO tillförsel samt se vilka plasmakoncentrationer av buprenorfin som uppnås efter intravenös (IV) och PO administrering till kanin.

I studien mättes plasmahalter av buprenorfin efter IV (0,05 mg/kg) och PO (0,5 mg/kg) tillförsel till nio intakta honkaniner av rasen New Zealand White med en medelvikt på 2,96 kg (\pm 0,35). PO administreringen utfördes genom att läkemedlet deponerades med en spruta långt bak i munnen. Sex kaniner administrerades buprenorfin antingen IV (n=3) eller PO (n=3) och tre kaniner (n=3) administrerades både IV och PO med två veckors mellanrum. Blodprover togs via en separat kateter i örats centralartär vid 2 (endast IV), 5, 15, 30, 60, 90, 180, 360 och 480 minuter efter läkemedelsadministrering. Plasma analyserades för buprenorfinkoncentrationer genom ultrahög-prestanda vätskekromatografi-tandemmasspektrometri på Statens veterinärmedicinska laboratorium (SVA, Uppsala, Sverige).

Medelvärden för buprenorfinkoncentrationer beräknades vid samtliga mättidpunkter samt för halveringstid ($T_{1/2}$), uppmätt maximal koncentration (C_{max}), tid vid uppmätt C_{max} (T_{max}) och arean under plasmakoncentrationskurvan (AUC_{0-t}) vid IV och PO administrering. Buprenorfinkoncentrationerna efter PO administrering var signifikant ($p < 0,05$) lägre än efter IV tillförsel vid alla provtagningstidpunkter vid tvåvägs variansanalys (mixed two-way-repeated-measures ANOVA). Efter PO administrering var medelvärdet för C_{max} 2,3 (\pm 0,8) ng/ml och T_{max} 16 (\pm 7,8) minuter. Statistisk analys för $T_{1/2}$ och AUC utfördes genom oparade t -tester med en signifikansgräns av $p < 0,05$. Halveringstiden skilde sig inte signifikant mellan IV och PO tillförsel av buprenorfin. Arealen under plasmakoncentrationskurvan var signifikant större efter IV tillförsel trots att en tio gånger högre dos buprenorfin gavs PO. Biotillgängligheten för PO administrering uppgick till 2,7 %.

Jämfört med IV tillförsel, gav PO tillförsel av buprenorfin upphov till signifikant lägre koncentrationer i plasma, trots en 10 gånger högre administreringsdos. Det är tveksamt om den uppnådda plasmakoncentrationen efter PO administrering av 0,5 mg/kg är tillräcklig för analgesi. Vidare var volymen stor vilket försvårade administreringen eftersom flera av kaninerna var ovilliga att svälja läkemedlet. Detta bidrog troligen till att även ett oral transmukosalt (OTM) upptag av buprenorfin skedde. Slutsatsen är att PO administrering av buprenorfin till kanin inte kan rekommenderas.

SUMMARY

With the growing popularity of the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) as a household pet, the requirement for increasingly advanced veterinary care grows and knowledge of how to efficiently relieve pain in the rabbit is lacking. The rabbit, typical of a prey animal, conceals pain well, especially in stressful situations such as visits to a veterinary clinic. Buprenorphine is a commonly used opioid for pain relief of rabbits. In the clinic, the drug is administered by injection but for continued pain relief in the home an easier way of administration is preferable, wherefore oral (PO) administration could be an alternative. However, the bioavailability of buprenorphine after PO administration to rabbits is not known. The purpose of this study was to investigate the bioavailability of buprenorphine after oral administration in rabbits and the plasma levels of buprenorphine following PO and intravenous (IV) administration.

Blood plasma concentrations of buprenorphine were measured after IV (0.05 mg/kg) and PO (0.5 mg/kg) administration to nine New Zealand White intact female rabbits with a mean weight of 2.96 kg (\pm 0.35). PO administration was performed by depositing the drug with a syringe far back in the mouth. Six rabbits were administered buprenorphine either by the intravenous (n=3) or oral (n=3) route and three were administered IV and PO with a two week wash out period. Blood samples were taken via a catheter in the central artery of the ear at 2 (IV only), 5, 15, 30, 60, 90, 180, 360 and 480 minutes after administration. Plasma was analyzed for buprenorphine concentrations by ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry at the Swedish National Veterinary Institute (Statens veterinärmedicinska anstalt, SVA, Uppsala, Sverige).

Mean values were calculated for buprenorphine concentrations at all time points as well as half-life ($T_{1/2}$), maximum plasma concentration (C_{max}), time at C_{max} (T_{max}) and for the area under the plasma concentration curve (AUC_{0-t}) after IV and PO administration. The buprenorphine concentrations after oral administration was significantly ($p < 0,05$) lower than after intravenous administration at all sampled time points using a mixed two-way-repeated-measure ANOVA. After oral administration the mean C_{max} was 2.3 (\pm 0.8) ng/ml and T_{max} 16 (\pm 7.8) minutes. Statistical analysis for $T_{1/2}$ and AUC was performed by an unpaired t -test. The level of significance was set at $p < 0.05$. The half-life did not differ significantly between IV and PO administration. The area below the plasma concentration curve was significantly larger after IV administration despite the higher dose of buprenorphine used for PO administration. Bioavailability of buprenorphine was 2.7% after PO administration.

Oral administration of buprenorphine resulted in significantly lower plasma concentrations than IV administration, despite a 10-fold higher dose. It is doubtful whether the achieved plasma concentration after PO administration of 0.5 mg/kg is sufficient for analgesia in rabbits. Furthermore, the volume required for PO administration is high which complicates treatment. Several rabbits in this study were unwilling to swallow the drug completely, probably resulting in a simultaneously oral transmucosal (OTM) uptake of buprenorphine. The results of this study suggest that PO administration of buprenorphine to rabbits can not be recommended.

INNEHÅLL

Inledning	1
Litteraturoversikt	2
Bedömning av smärta hos kanin.....	2
Smärtbeteende.....	2
Förändringar i fysiologiska parametrar.....	2
Smärtlindring av kanin.....	2
Opioider.....	3
Morfin.....	3
Fentanyl.....	3
Butorfanol.....	3
Buprenorfin.....	4
Buprenorfins smärtstillande effekt.....	4
Buprenorfins potentiella bieffekter.....	4
Buprenorfins dosintervall och administreringsvägar.....	5
Buprenorfins terapeutiska intervall.....	6
Första passagemetabolism och läkemedelseliminering.....	7
Studiens syfte.....	7
Material och metoder	8
Kaninerna.....	8
Studiedesign.....	8
Studieuppbyggnad.....	8
Förberedelser.....	8
Läkemedelsadministrering.....	9
Blodprovstagning.....	9
Eftervård.....	9
Analys av prover.....	9
Databearbetning och statistiska analyser.....	9
Resultat	11
Diskussion	15
Peroral administrering av buprenorfin.....	15
Plasmakoncentrationer och analgesi.....	16
Buprenorfin till kanin.....	17
Studiedesign.....	18
Konklusion	19
Tack till	20
Referenser	21

FÖRKORTNINGSLISTA

AUC _(0-t)	Arean under plasmakoncentrationskurvan från första provtagning (0 min) till sista provtagning (480 min)
C _{max}	Uppmätt maximal plasmakoncentration
IM	Intramuskulär
IV	Intravenös
OTM	Oraltransmukosal
PO	Peroral
SC	Subkutan
T _{1/2}	Halveringstid beräknad på de sista fem provtagningarna (60-480 minuter)
T _{max}	Tid för uppmätt maximal plasmakoncentration
NSAID	Non steroid antiinflammatorisk drug, icke-steroid antiinflammatoriskt läkemedel

INLEDNING

Kaninens popularitet som sällskapsdjur har ökat kraftigt och idag är kanin det tredje vanligaste sällskapsdjuret i svenska hem (Statistiska centralbyrån, 2012), samtidigt som de ofta används som försöksdjur. I takt med att antalet tamkaniner ökar, växer även efterfrågan på avancerad veterinärvård och fler operativa ingrepp på kanin utförs. Inom biomedicinsk forskning används kanin i studier med avancerad kirurgi, t.ex. ortopediska ingrepp. Ur ett djuretiskt perspektiv är det viktigt att kunna ge kaniner adekvat smärtlindring när behov föreligger. Kaniner, liksom andra bytesdjur, döljer ofta smärta vilket gör det svårt att bedöma hur smärtpåverkad en kanin är och om den är tillräckligt smärtlindrad. I dagsläget är kunskapen om farmakokinetik och dosregim för många av de analgetiska läkemedel som används till kanin begränsad.

Opioiden buprenorfin är vanligt använt för smärtlindring inom veterinärmedicinen. Buprenorfin är en potent semisyntetisk opioid som har sin verkan genom en partiell agonistisk effekt på μ -opioida receptorer i centrala nervsystemet. Substansen är registrerad för intravenös (IV) och intramuskulär (IM) administrering till hund, katt och häst men används även off label till andra djurslag, däribland kanin. För att möjliggöra fortsatt smärtlindring med buprenorfin i hemmet efter exempelvis operativa ingrepp på klinik, eftersträvas en mer djurägaranpassad administreringsväg. Medan oral transmukosal (OTM) administrering i en del studier visat sig effektiv på katt (Robertson, *et al.* 2005) såg Freijs (2016) i sin studie att oral transmukosal administrering till kanin gav upphov till betydligt lägre plasmakoncentrationer vid en dos på 0,15 mg/kg, i jämförelse med subkutan (SC) injektion av 0,05 mg/kg. Ett annat alternativ till injektioner skulle kunna vara peroral (PO) tillförsel. På mus har man sett hög biotillgänglighet (34 %) vid PO administrering i doser på 0,4 mg/kg (Kalliokoski *et al.*, 2011). I dagsläget finns enbart ett fåtal studier om buprenorfinets farmakokinetiska egenskaper hos kanin efter IV tillförsel och för PO administrering tycks de saknas helt och den orala biotillgängligheten hos kanin är därför okänd. Få studier på kanin har utvärderat buprenorfinets effekt på smärta i kliniska smärtstudier.

Syftet med denna studie var att jämföra plasmahalter av buprenorfin efter IV och PO administrering till kanin. Intravenöst gavs buprenorfin i en dos på 0,05 mg/kg, vilket är den i litteraturen högsta rekommenderade dosen för IV, IM och SC administrering till kanin. Vid PO administrering gavs 0,5 mg/kg, en tio gånger högre dos än vid IV tillförsel. Att ge en hög dos buprenorfin PO grundade sig i studier på möss där högre doser än de som rekommenderas för IV och IM injektion använts (Kalliokoski *et al.*, 2011). Även de låga plasmakoncentrationer som uppmättes efter OTM-administrering i Freijs (2016) studie bidrog till valet av dos. Eftersom ett djurägarvänligt alternativ eftersträvades deponerades läkemedel vid PO administrering genom spruta i munnen och ej genom sondning. Hypotesen var att PO administrering i 10 gånger högre dos än rekommenderat skulle resultera i jämförbara plasmahalter med de halter som uppmätts efter en rekommenderad dos given IV.

LITTERATURÖVERSIKT

Bedömning av smärta hos kanin

Kanin är ett bytesdjur och döljer därför smärta väl vilket medför stor utmaning vid bedömning av smärtpåverkan hos detta djurslag (Varga, 2013). Inom djursjukvården och försöksdjursverksamheten behöver smärta kunna bedömas på kaniner efter operativa ingrepp eller vid andra smärtsamma tillstånd för att kunna ges adekvat smärtlindring. Detta är av yttersta vikt, dels ur ett djuretiskt perspektiv och dels för att undvika livshotande tillstånd, som exempelvis ileus, som kan uppkomma till följd av smärta (Cooper *et al.*, 2009; Varga, 2013).

Smärtbeteende

Kaniners ofta diffusa tecken på smärta kan vara svåra att upptäcka då de ofta påverkas av närvaron av en observatör eller förändring i miljön, t.ex. vid klinikvistelse (Leach *et al.*, 2009). Inaktivitet, apati, rastlöshet och aggressivitet är några av de beteendeförändringar som kan kopplas till smärta hos kanin. Nedsatt pälsvård och inappetens är även det observandum på att kaninen troligen upplever smärta (Leach *et al.*, 2009; Varga, 2013). Sitter kaninen ihopkurad och gnisslar tänder är det ofta ett tecken på abdominellt lidande (Varga, 2013). Vid kortvarig intensiv smärta kan kaninerna även vokalisera (Keating *et al.*, 2012). När människor bedömer smärta hos kanin utifrån beteendeförändringar tenderar de, oberoende av observatörens tidigare erfarenhet av kaniner, att fokusera på ansiktsuttryck (Leach *et al.* 2011). Skalor för objektiv smärtbedömning genom att studera ansiktsuttryck har utvecklats för flera djurslag, däribland mus, råtta och kanin (Langford *et al.*, 2010; Sotocinal *et al.*, 2011; Keating *et al.*, 2012). I den smärtbedömningsskala som finns framtagen till kanin, Rabbit grimace scale (RbtGS), ligger fokus på bedömning av fem områden i huvudregionen; öppningsgrad av ögonen, indragning av kinderna, morrhårens och öronens position samt nosens form. Skalan utvecklades och utvärderades av Keating *et al.* (2012) i en studie på kaniner som utsatts för akut nociceptiv smärta i form av örontatuering.

Förändringar i fysiologiska parametrar

Fysiologiska parametrar som andnings- och hjärtfrekvens förändras när kaniner upplever smärta (Shafford & Schadt, 2008a; Varga, 2013). I Keating *et al.* (2012) studie kunde man se att höjning av hjärtfrekvens, medelartärtryck och systoliskt blodtryck korrelerade bra till upplevd smärta enligt smärtbedömningsskalan ”Rabbit Grimace Scale”. Att utvärdera fysiologiska parametrar kan dock vara svårt eftersom mänsklig hantering ofta ger ett stresspåslag vilket i sig ger inverkan på dessa parametrar.

Vid stresspåslag, som exempelvis smärta, frigörs kortisol från binjurarna. Att mäta kortisolhalten i blodet på kanin som indikator på kortvarig akut nociceptiv smärta i form av örontatuering gav i Keating *et al.* (2012) studie inte upphov till högre utsöndring av kortikosteroner än efter låtsastatuering (med icke-traumatisk tång) när prov togs 15 minuter efter ingreppet. Värdena var dock förhöjda i förhållande till basnivå hos båda grupperna. Glukokortikoidmetaboliter i avföringen speglar föregående glukokortikoidkoncentrationer i blodet och har i studier använts som indikator på stress och smärta hos kanin (Goldschlager *et al.*, 2013; Monclús *et al.*, 2008).

Smärtlindring av kanin

Forskning på kanin rörande farmakokinetik och farmakodynamik för olika analgetiska substanser är begränsad. För smärtlindring av kanin används framförallt olika opioider, icke-steroida antiinflammatoriska substanser (NSAIDs) och lokalanestetika (Coulter *et al.*, 2011; Kluge *et al.*, 2017). Den vanligaste substansen för smärtlindring av kaniner i försöksdjurs-

verksamhet som genomgått kirurgiska ingrepp är enligt en brittisk studie opioiden buprenorfin följt av karprofen (Coulter *et al.*, 2011). Karpofen och meloxicam är båda NSAIDs som anses ha god effekt på akut och kronisk smärta (Barter, 2011; Varga, 2013; Grimm *et al.*, 2015). De har ett brett terapeutiskt intervall, lång duration och tycks ha få bieffekter hos kanin (Delk *et al.*, 2014; Eshar & Weese, 2014; Grimm *et al.*, 2015) även om de generellt anses ha en viss negativ inverkan på gastrointestinalkanalerna (Grimm *et al.*, 2015). En lång duration är ofta önskvärd vid behandling av kanin för att minimera stress av hantering vid läkemedelstillförelse. Meloxicam och karpofen har båda visat sig ha en god biotillgänglighet vid subkutan och PO giva till kanin (Carpenter *et al.*, 2009; Carpenter & Marion, 2013; Fredholm *et al.*, 2013). Peroral administrering underlättar smärtlindring av tamkaniner i hemmet. Studier på den orala biotillgängligheten av buprenorfin på kanin finns inte.

Multimodal analgesi har fördelen att olika substanser potentierar varandras effekter vilket bidrar till lägre doser läkemedel och en reduktion av risken för biverkningar. Buprenorfin i lågdos i kombination med meloxicam i tre dagar för postoperativ smärtlindring av kanin har visat sig ge signifikant lägre halter av fekala glukokortikoidmetaboliter under behandlingsdagarna än när substanserna använts var för sig. Kaninerna som fått en kombination av substanserna visade även betydligt mindre viktförlust 28 dagar efter operation (Goldschlager *et al.*, 2013).

Opioider

Opioider är potenta smärtstillande läkemedel som verkar på opioidreceptorer i centrala nervsystemet. De delas in i grupperna opiater, semisyntetiska och helsyntetiska opioider. Egenskaperna skiljer sig mellan de olika substanserna men generellt ger opioider god smärtlindring med kort till medellång duration men de är även förenade med bieffekter (Rang *et al.*, 2011). Nedan listas de substanser som används för smärtlindring på kanin med en kort beskrivning av deras effekt.

Morfin

Morfin verkar partiellt agonistiskt på μ -opioidreceptorn i centrala nervsystemet (CNS). Durationen är kort till medellång och den används vid måttlig till kraftig smärta (Rang *et al.*, 2011). Morfin har en mer uttalad negativ påverkan på mag-tarmkanalen än övriga opioider genom nedsatt tarmperistaltik som kan leda till ileus (Barter, 2011). Substansen kan användas för epidural analgesi av kanin (Carpenter & Marion, 2013).

Fentanyl

Fentanyl är en potent smärtstillande helsyntetisk opioid som används vid kraftig smärta och verkar rent agonistiskt på μ -opioidreceptorn (Rang *et al.*, 2011). Halveringstiden är kort och den dissocierar snabbt från opioidreceptorn vilket ger den en mycket kortvarig effekt (Boas & Villiger, 1985). Fentanyl har en uttalad andningsdeprimerande effekt (Barter, 2011). Substansen används ofta som konstant infusion under smärtsamma operationer (Grimm *et al.*, 2015). Fentanyl finns för långtidsbruk i t.ex. plåster för transdermal administrering. På kanin har dessa visat sig effektiva men också gett stora individuella skillnader i plasmakoncentrationer. Variationen i plasmakoncentration tros bero på kaninens snabba håråterväxt och att plåstret inte ligger helt dikt an huden (Foley *et al.*, 2001).

Butorfanol

Butorfanol verkar antagonistiskt på μ -receptorn och agonistiskt på κ -receptorn (Grimm *et al.*, 2015). Anslagstiden hos kanin är kort, cirka 15 minuter, med en kort till medellång analgetisk effekt (Flecknell & Liles, 1990). Substansen används vanligen i kombination med ett sedativum

för premedicinering inför anestesi eftersom de potentierar varandras sedativa effekt (Varga, 2013). Man har sett att en hög dos butorfanol (1,5 mg/kg IV) till kanin bidragit till en måttlig sederingsgrad och sänkt andningsfrekvens. Dessa effekter har inte setts vid lägre doser (0,1-0,5 mg/kg) (Flecknell & Liles, 1990). En ökad dos från 0,1 upp till 0,5 mg/kg IV har visat sig ge förlängd duration av analgesi vid termisk nociceptiv stimulans medan den högre dosen 1,5 mg/kg IV gett förkortad duration och en sänkning av toleransen gentemot värmestimuli (Flecknell & Liles, 1990).

Buprenorfin

Buprenorfins smärtstillande effekt

Buprenorfin är en semisyntetisk opioid med partiell agonistisk verkan på μ -receptorn i centrala nervsystemet (Rang *et al.*, 2011; Grimm *et al.*, 2015). Substansen är välanvänd inom veterinärmedicinen på grund av dess potenta smärtlindrande effekt och relativt långa duration. Dess partiella agonistiska verkan bidrar till en mindre analgetisk effekt än den som uppnås av rena μ -receptoragonister, som exempelvis metadon, och buprenorfin rekommenderas därför upp till måttlig smärta (Varga, 2013; Grimm *et al.*, 2015). För postoperativ smärtlindring kan buprenorfin kombineras med ett NSAID (Goldschlager *et al.*, 2013). Buprenorfin har, till skillnad från de flesta opioider, endast en ringa sedativ effekt hos kanin (Flecknell and Liles, 1990). Anslagstid är något längre än för många andra opioider och i studier på kanin har full analgetisk effekt uppnåtts först cirka 30 minuter efter läkemedelstillförelse när substansen getts IV (Flecknell & Liles, 1990). Buprenorfinets mer långvariga effekt i relation till andra opioider som används inom veterinärmedicinen (Flecknell & Liles, 1990; Grimm *et al.*, 2015) beror troligen på att den binder starkt till μ -receptorn (hög dissociationskonstant) (Boas & Villiger, 1985; Rang *et al.*, 2011). Analgesin anses effektiv under 6-12 timmar efter administrering (Grimm *et al.*, 2015). Durationen har hos kanin visat sig förlängas när dosen buprenorfin höjs (Flecknell & Liles, 1990; Steagall *et al.*, 2007; Taylor *et al.*, 2016) och i studier på andra djurslag även vara beroende av administreringsväg (Wootton *et al.*, 1988; Steagall *et al.*, 2013).

Buprenorfins potentiella bieffekter

Generellt anses opioider ha en negativ effekt på mag-tarmkanalen genom att sänka tarmmotiliteten, öka tonus i gastrointestinalkanalen och förlänga intervallen för ventrikeltömning (Grimm *et al.*, 2015; Rang *et al.*, 2011). Buprenorfin har visat sig ge upphov till förlängd tarmpassagehastighet och minskat vatten- och foderintag efter subkutan administrering i dosen 0,05 mg/kg till icke smärtpåverkade kaniner (Martin-Flores *et al.*, 2017). Det verkar emellertid ovanligt att rekommenderade kliniska doser (0,02-0,05 mg/kg) skulle ge upphov till tydliga gastrointestinala störningar när det administreras till friska kaniner eller för postoperativ smärtlindring (Cooper *et al.*, 2009; DiVincenti *et al.*, 2016; Goldschlager *et al.*, 2013) och man har inte sett att buprenorfin i dosen 0,03 mg/kg skulle ha negativ effekt på tarmfloras komposition hos kanin när det getts intramuskulärt för behandling av postoperativ smärta (Cooper *et al.* 2009). Eftersom smärta hos kanin i sig kan ge upphov till gastrointestinala störningar så som smärtinducerad ileus och andra mag-tarmlidanden till följd av inappetens (Cooper *et al.*, 2009; Varga, 2013) måste smärtans negativa effekter vägas mot eventuella bieffekter av smärtbehandlingen.

Opioider har en känd andningsdeprimerande effekt som uppkommer genom dess inverkan på andningscentrum där de minskar sensitivitet för ökat arteriellt koldioxidtryck (Rang *et al.*, 2011; Grimm *et al.*, 2015). Buprenorfins anses ge en mindre påtaglig andningsdepression än rena μ -agonister och kan användas postoperativt för att motverka respirationshämning när rena μ -receptoragonister, som exempelvis fentanyl, använts i anestesi-protokollet (Varga, 2013). Buprenorfin verkar då kompetetivt genom sin högre affinitet till receptorn (Rang *et al.*, 2011).

Buprenorfin har visat sig ha en viss påverkan på respirationen hos friska kaniner utan smärta genom sänkt andningsfrekvensen (Flecknell & Liles, 1990; Shafford & Schadt, 2008b) och genom att lindrigt sänka syretrycket (Schroeder & Smith, 2011). Den andningsdeprimerande effekten tycks inte vara korrelerad till dos och i Flecknell & Liles (1990) cross over-studie kunde man se en signifikant sänkning av respirationsfrekvensen endast vid doser mellan 0,015-0,06 mg/kg IV medan man vid högre doser i studien (0,12 och 0,3 mg/kg IV) inte såg någon effekt.

Buprenorfins dosintervall och administreringsvägar

Doser som rekommenderas för analgesi av kanin stäcker sig mellan 0,01-0,05 mg/kg var 6:e-12:e timme vid IV, IM och SC tillförsel (Barter, 2011; Carpenter & Marion, 2013; Varga, 2013; Grimm *et al.*, 2015). Vid kirurgiska ingrepp bör buprenorfin på grund av den långa anslagstiden ges pre- eller intraoperativt för att god analgetisk effekt ska ha uppnåtts postoperativt (Flecknell & Liles, 1990; Shafford & Schadt, 2008a).

Tillförsel via injektion

De beredningar av buprenorfin som finns tillgängliga idag för veterinärt bruk är registrerade för IV och IM administrering till hund, katt och häst. IV och IM administrering anses ge effektivast och jämnast analgesi (Steagall *et al.*, 2013). En nackdel med dessa administreringsvägar är att IV administrering kräver en venös infart och att intramuskulära injektioner är smärtsamma. Subkutana injektioner är troligen den vanligaste administreringsvägen av buprenorfin till kanin och används frekvent i olika smärtstudier. Denna väg har dock visat sig ge stora individuella skillnader i uppmätta plasmahalter hos bland annat kanin (Freijs, 2016) och katt (Steagall *et al.*, 2013). I Steagall *et al.* (2013) studie på katt skedde ingen signifikant höjning av termiskt nociceptivt tröskelvärde efter subkutan administrering av 0,03 mg/kg buprenorfin vilket var fallet vid IV och IM administrering av samma dos.

Peroral tillförsel

Effekten av PO administrering av buprenorfin har visat sig variera mellan djurslag och dos. I en studie på möss av Kalliokoski *et al.* (2011) har man sett att PO intag av 0,4 mg/kg buprenorfin gav högre serumkoncentrationer än efter SC administrering av 0,05 mg/kg. Buprenorfin fanns även kvar längre i cirkulationen än efter SC och IV giva (0,05 mg/kg). I studien uppgick biotillgängligheten för buprenorfin till 34 % vid PO administrering. I studier på råttor som administrerats 0,5 mg/kg buprenorfin PO noterades ingen analgesi (Martin *et al.*, 2001; Thompson *et al.*, 2006). Analgetisk effekt uppnåddes dock vid doser på 5 och 10 mg/kg PO samt 0,05 mg/kg SC (Martin *et al.*, 2001). När råttor administrerats buprenorfin PO i doser på 0,1-0,4 mg/kg preoperativt för smärtlindring har man dock kunnat se kraftigare viktuppgång postoperativt än hos kontrolldjur utan smärtlindring (Flecknell *et al.*, 1998). Katter som tillförts buprenorfin i dosen 0,01 mg/kg PO i samband med ovariehystektomi har visat sig påtagligt känsligare postoperativt vid palpation av operationsområdet än katter som administrerats meloxicam SC eller PO (Gassel *et al.*, 2005). Studier på kanin rörande PO upptag av buprenorfin saknas.

Ett exempel på hur PO upptag av opioider kan skilja sig mellan djurslag visar en jämförelse av tramadol till kanin och hund. Tramadol är en morfinliknande substans som, liksom buprenorfin, har sin verkan på μ -receptorn. När tramadol i Souza *et al.* (2008) studie getts i dosen 11 mg/kg PO till kanin uppgick C_{max} till $135,3 \pm 89,1$ ng/ml medan KuKanich & Papich (2004) i sin studie uppmätte C_{max} till $1402,75 \pm 695,52$ ng/ml hos hund vid en dos på $11,2 \pm 2,0$ mg/kg PO. Hos

hund uppgick den peroral biotillgänglighet för tramadol till $65 \pm 35 \%$ (Kukanich & Papich, 2004).

Oral transmukosal tillförsel

Vid oral transmukosal tillförsel tas läkemedel upp via slemhinnan i munnen. På så sätt undviks, till skillnad från vid oral tillförsel, första passagemetabolismen i tarm och lever (Rang *et al.*, 2011). Efter oral transmukosal (OTM) administrering av buprenorfin till kaniner som genomgått ortopedisk kirurgi uppmättes i Freijs (2016) studie signifikant lägre plasmanivåer buprenorfin än efter subkutan injektion, trots en tre gånger högre dos (0,15 mg/kg respektive 0,05 mg/kg). Medelvärde för C_{max} vid OTM var 0,74 ng/ml och vid SC administrering 1,16 ng/ml. Administrationsvägen var, på grund av den stora volymen, svårtillämpad enligt författaren.

OTM administrering till katt har visat god effekt på smärta (Robertson *et al.*, 2005) men det finns även motstridiga resultat (Giordano *et al.*, 2010). Hos hund har C_{max} vid 0,12 mg/kg buprenorfin via OTM-administrering givit upphov till liknande C_{max} som när 0,02 mg/kg buprenorfin administrerats IV (Abbo *et al.*, 2008) och samma dos (0,12 mg/kg OTM) har visats ge god effekt på postoperativ smärta när det givits preoperativt till tikar som genomgått ovariehystektomi (Ko *et al.*, 2011).

Buprenorfins terapeutiska intervall

Det terapeutiska intervallet av buprenorfinkoncentrationer i plasma hos kanin är i dagsläget inte känt. Freijs (2016) kunde i sin studie inte visa något samband mellan plasmakoncentrationer av buprenorfin och pain face score hos kaniner efter ortopedisk kirurgi. Efter IV tillförsel av buprenorfin till kanin har man inte kunnat se några dosberoende skillnader i respons på värmestimuli (Flecknell & Liles, 1990) och detta har heller inte kunnat ses hos katt (Steagall *et al.*, 2009). I Steagall *et al.* (2009) kunde man dock se en ökad tolerans av mekaniskt nociceptivt stimuli vid ökad dos.

Man antar att buprenorfin har en s.k. klockformad dos-effektkurva, d.v.s. att den smärtstillande effekten ökar med stigande dos till en viss nivå varefter effekten avtar med ytterliggare stigande doser. Detta har bland annat setts i en studie på möss (Lutfy *et al.*, 2003). I Lutfy *et al.* (2003) studie gavs buprenorfin SC och vid en dos på 1 mg/kg var den antinociceptiva effekten signifikant högre än vid doser på 0,3 samt 3 mg/kg. I Flecknell & Liles (1990) studie på kanin kunde man inte se att den analgetiska effekten avtog efter en viss dos när buprenorfin gavs IV i doser upp till 0,3 mg/kg, däremot förlängdes durationen av analgesin med stigande dos. I samma studie avtog den andningsdeprimerande effekten, vilken setts vid doser mellan 0,015-0,06 mg/kg, när högre doser på 0,12-0,3 mg/kg gavs.

I en studie på ovariehystektomerade tikar av Ko *et al.*, (2011) mätte man vid genombrott av smärta plasmakoncentrationen på nio hundar som behandlats med buprenorfin enligt tre olika dosregimer IV (0,02 mg/kg) eller OTM (0,02 respektive 0,12 mg/kg). Plasmahalterna låg vid smärtgenombrott mellan <0,10 och 5,41 ng/ml och skedde mellan 1 till 13 timmar efter administrering. Hos häst har man sett en ökad acceptans för mekaniskt stimuli vid buprenorfinkoncentrationer mellan 0,34-2,45 ng/ml efter att substansen getts IV i en dos på 0,01 mg/kg (Love *et al.*, 2015).

På katt, hund och häst har man kunnat se en så kallad negativ hysteresis efter IV tillförsel av buprenorfin (Robertson *et al.*, 2005; Pieper *et al.*, 2011; Steagall *et al.*, 2013; Love *et al.*, 2015; Taylor *et al.*, 2016). Negativ hysteresis betyder att det finns en förskjutning av läkemedlets effekt, i det här fallet analgesin, i relation till plasmakoncentrationskurvan.

Första passagemetabolism och läkemedelseliminering

Upptaget av läkemedel som tillförs PO sker främst genom passiv transport i tunntarmen och påverkas av flera faktorer, dels substansens fysikaliska och kemiska egenskaper men även tarmmotilitet och det splanchniska blodflödet. Dessutom kommer läkemedlet genomgå första passagemetabolism i tarm och levern med risk för inaktivering av endogena enzymer innan den når den systemiska cirkulationen (Rang *et al.*, 2011). Läkemedel som ges peroralt utan sondning kan även tas upp redan genom munslemhinnan (OTM). Läkemedel som tas upp oral transmukosalt når den systemiska cirkulationen direkt och genomgår inte första passagemetabolism.

Buprenorfin metaboliseras huvudsakligen till norbuprenorfin genom N-dealkalisering av cytokrom P450 3A4 i levern. Buprenorfin och norbuprenorfin konjugeras sedan innan eliminering. Norbuprenorfin är en aktiv metabolit men dess effek antas vara låg. De konjugerade formerna anses inaktiva. Hos människa sker utsöndring av buprenorfin främst i feces men även via urinen (Elkader & Sproule, 2005). I urin är det framförallt den konjugerade formen av norbuprenorfin som utsöndras medan det i faeces framförallt förekommer okonjugerat buprenorfin och okonjugerat norbuprenorfin (Cone *et al.*, 1985). Buprenorfin tros ha ett enterohepatiskt kretslopp varför de konjugerade formerna av buprenorfin och norbuprenorfin endast återfinns i liten mängd i feces (Elkader & Sproule, 2005).

Studiens syfte

Målet med den här studien var att undersöka plasmahalter av buprenorfin efter PO och IV administrering på kanin samt den orala biotillgängligheten. Förhoppningen var att kunna visa att PO administrering i högdos ger jämförbara plasmahalter med IV-administrering, och därmed kan användas till behandling av kaniner i hemmiljö.

MATERIAL OCH METODER

Kaninerna

I studien ingick nio honkaniner av rasen New Zealand White från Lidköpings kaninfarm (Lidköpings kaninfarm, Lidköping, Sverige) vars besättning hälsoinventeras¹. Vid studiens början var djuren 4-5 månader gamla med en medelvikt på 2,96 kg ($\pm 0,35$). Kaninerna hölls parvis i boxar om tre kvadratmeter med autoklaverat spån (Tapvei, Harjumaa, Estland) och autoklaverad halm som strömedel. De hade fri tillgång på dricksvatten och utfodrades med en begränsad mängd pellets (Lactamin kaninpellets, K1, Lantmännen, Malmö) och fri tillgång till autoklaverat hö. Två veckor för acklimatisering gavs innan försöket påbörjades. Under acklimatiseringsperioden ingick kaninerna i ett hanteringsförsök där hälften av kaninerna hanterades dagligen medan resterande kaniner endast hanterades i form av daglig vägning som ett försök i att se om intensiv hantering kan ge minskad stress hos kaniner i försöksdjursverksamhet. Båda försöken var godkända av djurförsöksetiska nämnden (Dnr: C 97/16 med tillägg 5.2.18-8707/14).

Studiedesign

Studieuppgift

Studien var planerad som en randomiserad cross-over-studie där sex kaniner skulle administreras buprenorfin IV och PO vid två separata tillfällen med minst två veckors intervall (wash-out). Svårigheter med kateterisering gjorde att totalt nio individer istället användes. Tre av dessa kaniner kom att administreras buprenorfin både IV och PO (cross-over), tre kaniner enbart PO och tre kaniner enbart IV (se tabell 1). Under försöksdagen togs blodprover ut vid bestämda tidpunkter efter läkemedelsadministrering.

Tabell 1. *Administreringsväg för respektive individ (n=9). För individer som administrerades buprenorfin både intravenöst (IV) och peroralt (PO) (individ 7, 8 och 9) lämnades en wash out-period på minst två veckor mellan administreringstillfällena*

	Individ								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
IV	X	X	X				X	X	X
PO				X	X	X	X	X	X

Förberedelser

Kaninerna vägdes inför varje administrering av buprenorfin för att möjliggöra beräkning av individuella doser läkemedel. Öronen rakades och ett tunt lager anestetikum (EMLA®, kräm, lidokain 25 mg/g + prilokain 25 mg/g, AstraZeneca, Södertälje, Sverige) applicerades och efter 20 minuter sattes en permanentkanyl (BD Venflon 22 G, 1,1x32 mm, BD AB, Stockholm, Sverige) i örats centralartär samt, vid de tillfällen buprenorfin skulle administreras IV, i motstående öras randven (BD Venflon 20 G, 0,9x25 mm, BD AB, Stockholm, Sverige). Ett

¹ Besättning fri från kaningulsot (Rabbit Haemorrhagic Disease Virus; RHDV), lymfocytärt choriomeningitvirus, Reovirus-3, Sendaivirus, Bordetella Bronchiceptica, Clostridium piliforme (Tyzzer's disease), dermatofyter, Pasteurella multocida, Pasteurella pneumotropica, Pastuerella spp, Salmonella spp, Encaphalitozoon cuniculi, CAR-bacillus, pneumocystis.

nollprov på 2 ml blod togs från centralartären före läkemedelsadministrering. Under försöksdagen satt kaninerna i burar (Type EC3 cage, Scanbur, Karlslunde, Danmark) med sin boxkamrat där de hade fri tillgång på autoklaverat hö, pellets och vatten. Kaninerna var konstant övervakade under försöksdagen.

Läkemedelsadministrering

Vid IV administrering gavs buprenorfin (Vetergesic® Vet, 0,3 mg/ml, Orion Pharma Animal Health, Sollentuna, Sverige) i dosen 0,05 mg/kg genom en venkateter i örats randven. Venkatetern spolades med 1 ml NaCl (Natriumklorid B. Braun, infusionsvätska, 9 mg/ml, B. Braun, Danderyd, Sverige) och avlägsnades efter administrering. Dosen vid den PO givan var 0,5 mg/kg och administrerades genom att kaninen hölls i ryggläge invirad i en handduk medan läkemedlet långsamt sprutades in i munnen med en 5 ml spruta.

Blodprovstagning

Efter läkemedelsadministrering togs blodprov vid 5, 15, 30, 60, 90, 180, 360 samt 480 minuter efter tillförsel. Efter IV administrering togs även ett prov vid 2 minuter. Vid varje provtagningstillfälle samlades 2 ml blod i EDTA-rör. Den totala mängden blod som togs per kanin under provtagningsdagarna överskred aldrig 7 ml/kg kroppsvikt. Efter varje provtagning spolades kanylen med natriumkloridlösning (Natriumklorid B. Braun, infusionsvätska, 9 mg/ml, B. Braun, Danderyd, Sverige) vartefter 0,15 ml hepariniserad (Heparin LEO 5000 IE/ml, LEO Pharma, Malmö, Sverige) natriumkloridlösning i en koncentration på 100 IE/ml heparin deponerades för att undvika koagulation i artärkatetern. Inför varje provtagning togs 0,2 mL blod ut för att tömma katetern på hepariniserad natriumkloridlösning. Under försöksdagen ställdes proverna i provställ på is i väntan på centrifugering och plasmaseparation.

Eftervård

Efter varje provtagningsdag administrerades karprofen 4 mg/kg (Norocarp vet, 50 mg/ml, N-Vet AB, Uppsala, Sverige) subkutant för smärtlindring. Artärkatetrar avlägsnades och tre minuters manuell komprimering av artären samt en efterföljande blödningskontroll utfördes innan kaninerna sattes tillbaka i sina ordinarie boxar. Vid avslutat försök omplacerades samtliga kaniner till privatpersoner.

Analys av prover

Efter provtagning centrifugerades EDTA-rören så att plasman kunde separeras och denna förvarades sedan i -80°C i väntan på analys. Proverna analyserades genom ultrahög-prestanda vätskekromatografi-tandemmasspektrometri på Statens Veterinärmedicinska Laboratorium (SVA, Uppsala, Sverige). Lägsta detektionsnivå vid analys var en koncentration av buprenorfin på 0,05 ng/ml.

Databearbetning och statistiska analyser

För varje provtagningstillfälle beräknades T_{max} , C_{max} , $AUC_{(0-t)}$ samt $T_{1/2}$. Medelvärde (SD) beräknades för uppmätta plasmakoncentrationer vid alla tidpunkter, tid vid maxkoncentration (T_{max}), högsta uppmätta koncentration läkemedel (C_{max}), halveringstid ($T_{1/2}$) samt arean under kurvan för plasmatidskoncentrationen ($AUC_{(0-t)}$). $AUC_{(0-t)}$ beräknades med linjär trapetsmetod från initial koncentration fram tills sista uppmätta koncentration (0-480 minuter). Halveringstid mättes från de sista fem provtagningarna (60-480 minuter) för att endast innefatta elimineringsfasen.

Beräkningarna utfördes i Microsoft Office Excel med add in-programmet PK Solver. En non compartment-modell för plasmakoncentrationer över tid användes för att möjliggöra en jämförelse mellan IV och PO värden. Statistiska analyser utfördes i Microsoft Excel och IBM SPSS Statistics. I Excel utfördes ett oparat t -test för $T_{1/2}$ och AUC_{0-t} mellan IV och PO administrering med alla kaniner inkluderade och ett parat t -test för samma parametrar för de kaniner som administrerats buprenorfin både IV och PO. En tvåvägs variansanalys (mixed two-way-repeated-measures ANOVA) med grupp (PO och IV) och tid (minuter) som faktorer gjordes i programmet IBM SPSS Statistics för att jämföra plasmakoncentrationer av buprenorfin vid olika provtagningstidpunkter. Ett p-värde $<0,05$ ansågs signifikant.

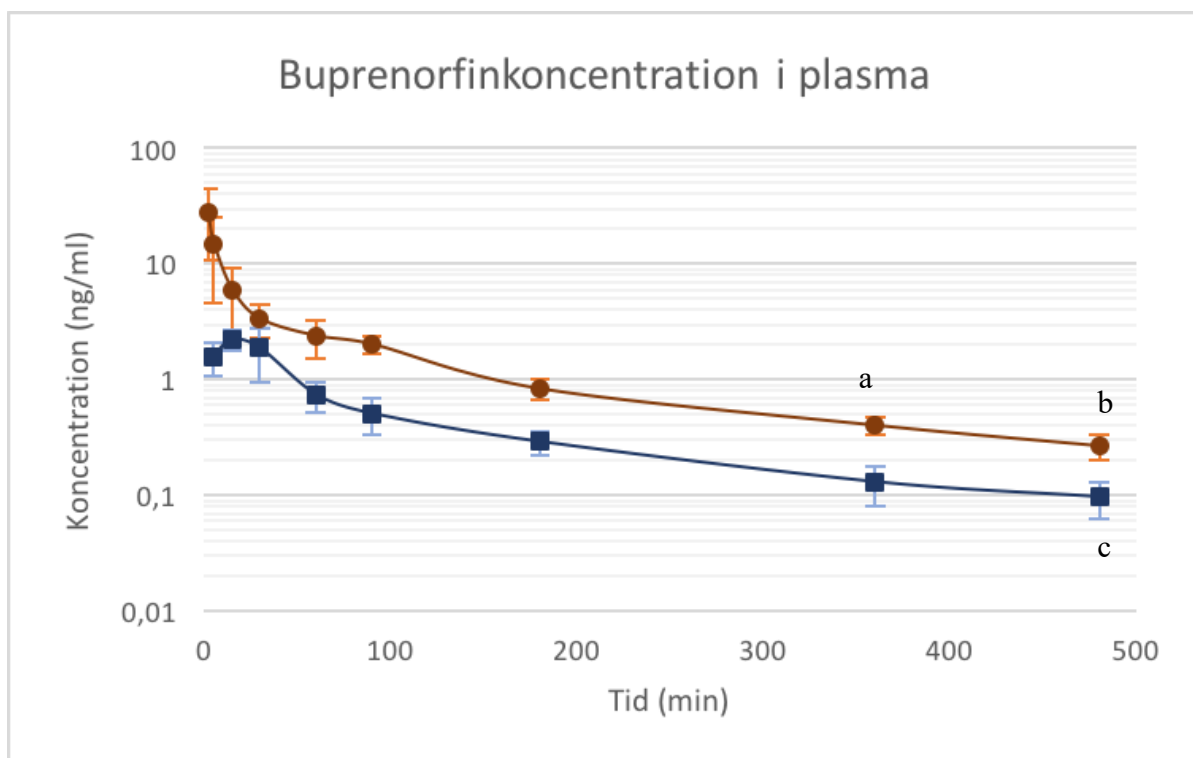
RESULTAT

Inga av kaninerna visade tydliga tecken på negativ påverkan under eller efter försöken. Kaninernas vikt ökade med 0,40 kg (\pm 0,26 kg) under de sex veckor försöket pågick. Det var tänkt att sex kaniner skulle användas i en randomiserad crossoverstudie med PO och IV administrering. På tre av kaninerna misslyckades dock kateterisering av centralartär vid nästkommande försöksdag och de uteslöts därför och ersattes med tre andra kaniner. Det blev således tre kaniner som fick buprenorfin både PO och IV, tre som fick enbart IV och tre enbart PO. De tre förstnämnda kaninerna benämns som cross-over (CO).

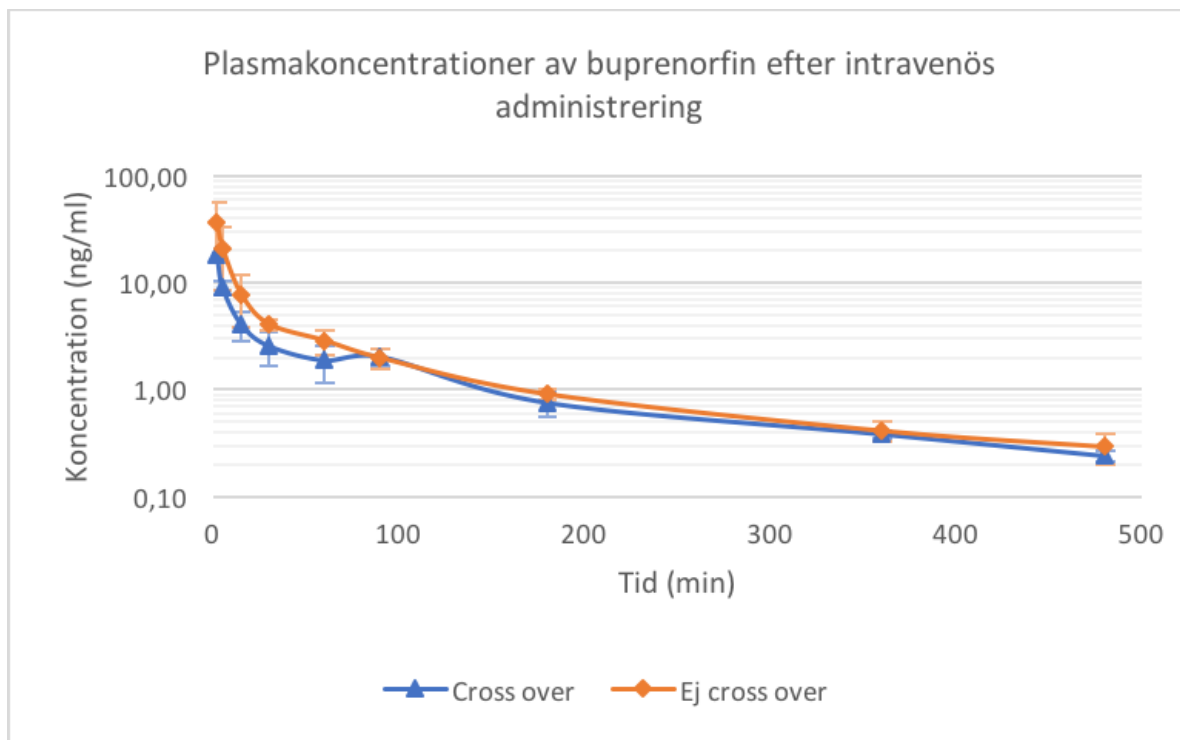
Ett prov vid tidpunkt 480 efter IV administrering samt ett prov vid 360 minuter för en kanin efter PO administrering fick strykas p.g.a. att kaninernas vikt inte medgav fler blodprover ($>$ 7 ml/kg). Blodprover för en kanin vid 360 och 480 minuter efter IV administrering kunde ej samlas då kaninen lyckades avlägsna artärkatetern efter 180 minuter.

Medelvärden (SD) för plasmakoncentrationer vid de olika provtagningstiderna för gruppen IV och PO beräknades och redovisas i Figur 1. Medelvärden (SD) beräknades även för de tre kaninerna i gruppen crossover (CO) och de sex kaniner som inte var crossover och en jämförelse mellan dessa redovisas i Figur 2 och 3.

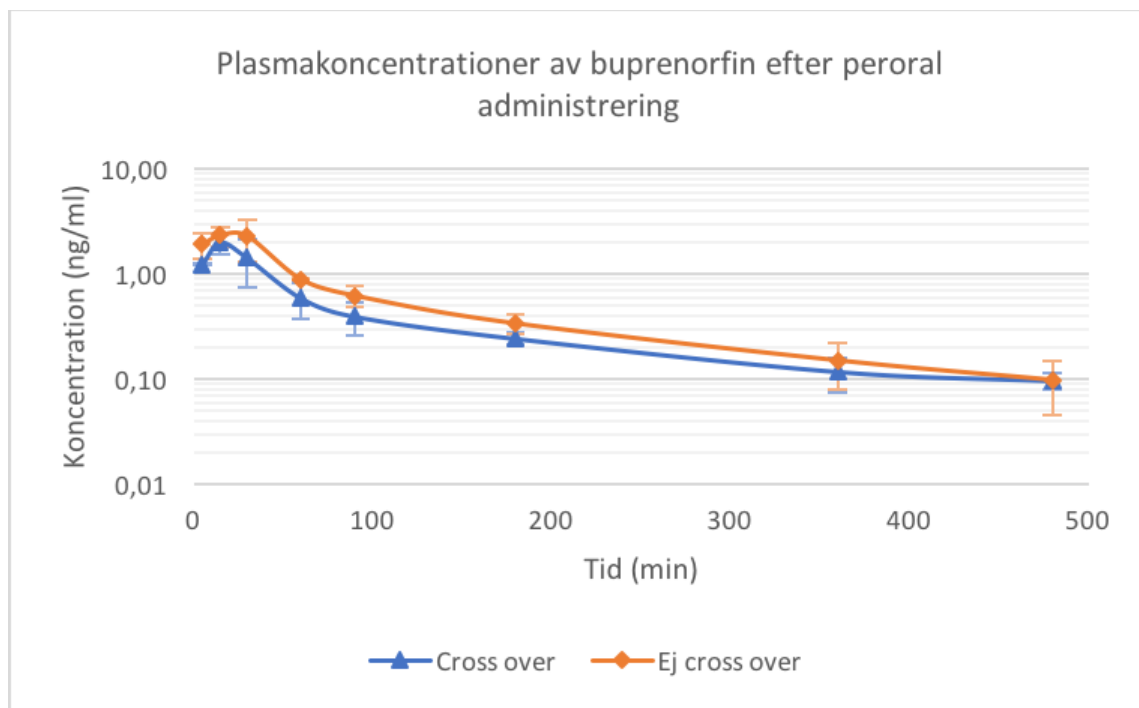
Plasmakoncentrationen av buprenorfin hos samtliga individer vid de olika mättidpunkterna jämfördes mellan de båda administreringsvägarna genom en mixed two-way-repeated-measures ANOVA. Buprenorfinkoncentrationen var signifikant lägre efter PO administrering vid samtliga tidpunkter.



Figur 1. Koncentration av buprenorfin i plasma (medel \pm SD) efter en singeldos IV 0,05 mg/kg ($n=6$, ●) och PO 0,5 mg/kg ($n=6$, ■) administrering av buprenorfin till New Zealand White-kaniner. ^a $n=5$, ^b $n=4$, ^c $n=5$



Figur 2. Koncentration av buprenorfin efter IV administrering 0,05 mg/kg (medel \pm SD) fördelat i två grupper; crossover (n=3, \blacktriangle) och ej crossover (n=3, \blacklozenge)



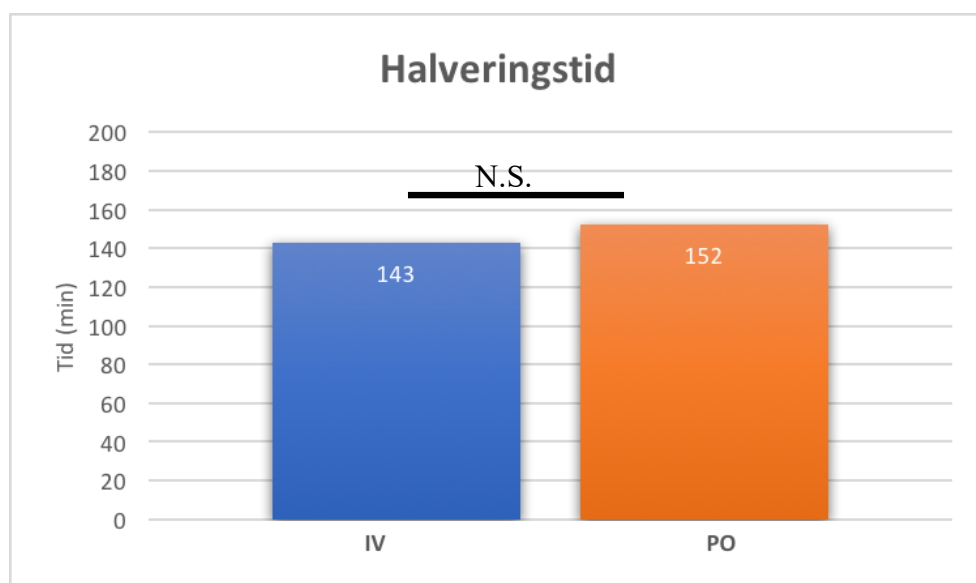
Figur 3. Koncentration av buprenorfin efter PO administrering 0,5 mg/kg (medel \pm SD) fördelat i två grupper; crossover (n=3, \blacktriangle) och ej crossover (n=3, \blacklozenge)

Värden för T_{max} , C_{max} , $T_{1/2}$ och $AUC_{(0-t)}$ beräknades med hjälp av erhållna plasmakoncentrationer. Beräkningar gjordes i Microsoft Excel med add-in-programmet PK-solver. Resultatet redovisas i Tabell 3.

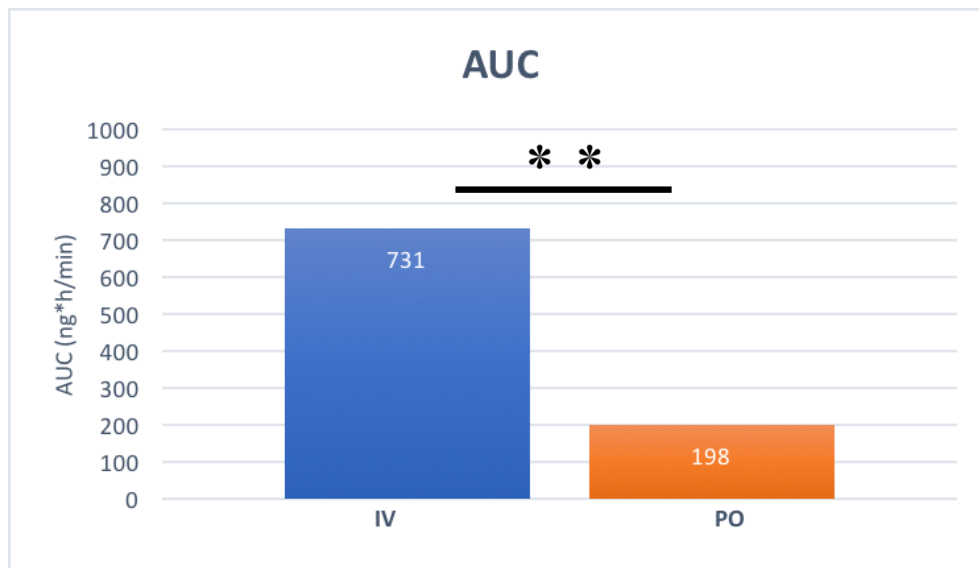
Tabell 3. Medelvärden (SD), median, lägsta och högsta värde för C_{max} , T_{max} halveringstid ($T_{1/2}$) och area under plasmakoncentrationskurva ($AUC_{(0-t)}$), efter IV (0,05 mg/kg, n=6) och PO (0,5 mg/kg, n=6) administrering av buprenorfin till kanin

	Administreringsväg							
	Intravenös				Peroral			
	Medel (SD)	median	min	max	Medel (SD)	median	min	max
C_{max} (ng/ml)	-	-	-	-	2,3 (0,78)	2,28	1,21	3,37
T_{max} (min)	-	-	-	-	16 (7,75)	15	6	30
$T_{1/2}$ (min)	143,2 (34,5)	133,5	107,9	207,2	153,0 (38,4)	147	112	217
AUC (ng*h/ml)	731,9 (248,7)	684,82	462,5	1031,2	198,7 (57,2)	199,58	139	293

Beräkningar visade på normalfördelad data för $T_{1/2}$ samt $AUC_{(0-t)}$ (Kolmogorov-Smirnova, Shapiro-Wilk Tests of Normality). För statistisk analys utfördes ett oparat T-test för dessa parametrar mellan IV- och PO-grupperna med samtliga individer inräknade (n=6). $T_{1/2}$ antogs vara lika mellan grupperna men ej för AUC. Resultat kan ses i figur 4 och 5 nedan. För crossover-gruppen gjordes ett parat T-test (n=3) mellan grupperna PO och IV där $T_{1/2}$ ej var signifikant skilda mellan grupperna medan AUC var ($p < 0,05$).



Figur 4. Skillnader i medelvärde för halveringstid ($T_{1/2}$) efter IV (0,05 mg/kg) och PO (0,5 mg/kg) administrering av buprenorfin till New Zealand White-kaniner (n=6). Statistik analys med oparat T-test. N.S. = Not significant (ej signifikant).



Figur 5. Skillnader i medelvärde för arean under plasmakoncentrationskurvan (AUC) efter IV (0,05 mg/kg) och PO (0,5 mg/kg) administrering av buprenorfin till New Zealand White-kaniner (n=6). Observera skillnad i dos mellan de båda administreringsvägarna. Statistik analys med oparat T-test. ** = $p < 0,01$.

Biotillgängligheten (f) beräknades genom formeln: $f = \frac{DOS_{IV} \times AUC_{po}}{DOS_{PO} \times AUC_{iv}}$. Biotillgängligheten för buprenorfin vid PO administrering uppgick till 2,71 %.

DISKUSSION

Peroral administrering av buprenorfin

Peroral tillförsel av läkemedel är i många fall ett bra administreringssätt för behandling av djur i hemmiljö. Det är ofta relativt lätt att administrera och möjliggör i vissa fall en förkortad klinikvistelse vilket minskar stress hos djuren. Olika substanser når dock den systemiska cirkulationen i olika stor utsträckning. Opioiders biotillgänglighet vid PO administrering tycks variera både mellan substans och djurslag. Upptaget genom tarmslemhinnan vid PO administrering påverkas av flera faktorer, däribland magsäckens fyllnadsgrad, tarmmotilitet och blodflöde, som bland annat påverkas av födointag (Rang *et al.*, 2011). Kaniner skänkte utsättas för fasta, vilket gör denna faktor ointressant. Upptaget av buprenorfin efter PO administrering hos kanin tycks inte ha studerats tidigare men administreringssättet verkar ändå användas i praktiken (Varga, 2013). Hos möss har man sett en biotillgänglighet på 34 % efter PO tillförsel av buprenorfin i doser på 0,4 mg/kg (Kalliokoski *et al.*, 2011). Resultatet i denna studie visade att den perorala biotillgängligheten av buprenorfin till kanin var så låg som 2,7 %. Den låga biotillgängligheten skulle kräva mycket höga doser för att nå rimliga analgetiska plasmakoncentrationer. Buprenorfin gavs i denna studie i en dos på 0,5 mg/kg (10 gånger den rekommenderade högsta dosen), vilket redan gav stora volymer med den beredning som finns tillgänglig (0,3 mg/ml). Beredningen ger som exempel en volym på 5 ml till en kanin på 3 kilogram. Även den ekonomiska aspekten bör beaktas samt lämpligheten att lämna med djurägare en stor mängd av ett narkotikaklassat preparat.

Administrering av buprenorfin peroralt till kanin var svår. Kaninerna ville inte gärna svälja läkemedlet vilket resulterade i en del spill som medförde att hela den beräknade dosen i flera fall inte administrerades och även att buprenorfinet blev kvar i munhålan en tid. Det kan inte uteslutas att en del av substansen togs upp via munslemhinnan, det vill säga oraltransmukosalt. Vid oraltransmukosal administrering genomgår läkemedlet inte första passagmetabolism som sker vid peroral tillförsel vilket medför att den beräknade biotillgängligheten vid PO-tillförsel i denna studie kan vara högre än den faktiska biotillgängligheten för PO-administrerat buprenorfin. Ett mer tillförlitligt resultat för den perorala biotillgängligheten hade kunnat fås genom att administrera läkemedlet via dond i magsäcken på kaninerna. Detta skulle dock inte förändrat slutsatsen att peroral tillförsel till kanin inte är att rekommendera eftersom sondning av läkemedel inte är en djurägarvänlig metod.

En annan aspekt att ta hänsyn till är att vid stora interindividuella skillnader i upptag, eller metabolism, av ett läkemedel kan en hög dos hos individer med högt upptag och/eller långsam metabolism ge upphov till toxiska effekter. Interindividuella skillnader i upptag och/eller eliminering har setts hos både katt, kanin och marsvin vid subkutan administrering av buprenorfin (Steagall *et al.*, 2013; Freijs, 2016; Smith *et al.*, 2016). I den föreliggande studien uppmättes C_{max} i intervallet 1,21–3,37 ng/ml hos kaninerna som fick buprenorfin PO (n=6). Vid intravenös tillförsel beräknades inte C_0 (maximal plasmakoncentration) men koncentrationen vid två minuter efter tillförsel av buprenorfin låg mellan 17,3–59,1 ng/ml (n=6.). Den stora skillnaden efter IV giva beror troligen på att administreringshastigheten och tidpunkten för provtagningen inte blir exakt lika mellan individerna.

Det är även viktigt att vara försiktig med att extrapolera resultat från studier på ett djurslag till ett annat eftersom stora djurslagsskillnader i peroralt upptag och metabolism för opioida substanser tycks föreligga. Hos möss sågs en hög peroral biotillgänglighet (34 %) för buprenorfin (Kalliokoski *et al.*, 2011) medan den i denna studie var mycket låg (2,7 %). Stora djurslagsskillnader mellan kanin och hund i uppmätt C_{max} (135,3 ± 89,1 ng/ml respektive

1402,75 ± 695,52 ng/ml) har även setts för den opioida substansen tramadol när en nästan likadan dos getts peroralt (Souza *et al.* 2008; KuKanich & Papich 2004).

Plasmakoncentrationer och analgesi

Buprenorfinkoncentrationerna var signifikant lägre vid alla tidpunkter efter PO administrering i jämförelse med de koncentrationer som uppnåddes vid IV administrering. Det finns inga exakta data om vilka koncentrationer av buprenorfin som har en analgetisk effekt eftersom korrelationen mellan plasmakoncentration och grad av analgesi inte tycks vara direkt kopplade. I studien av Freijs (2016) med subkutan och oral-transmukosal administrering av buprenorfin till kanin efter ortopediska ingrepp fanns ingen korrelation mellan smärt-score och buprenorfinkoncentrationen i plasma. På ovariehystektomerade tikar har man i en studie av Ko *et al.* (2011) påvisat smärtgenombrott vid koncentrationer mellan < 0,10 och 5,41 ng/ml. I studien hade 7 av 9 hundar som behövde kompletterande analgesi plasmakoncentrationer ≤ 0,60 ng/ml varav 5 hade värden ≤ 0,16 ng/ml. Smärtgenombrottet skedde också vid varierande tidpunkter, mellan 1 och 13 timmar efter administrering. Smärtgenombrott hos hunden med en buprenorfinkoncentration på 5,41 ng/ml skedde endast en timme efter OTM-administrering av en hög dos buprenorfin (0,12 mg/kg). Hos katt har man sett att analgesieffekten inträffar efter cirka 30 minuter vid IV och OTM-administrering av buprenorfin och att maxvärden för termiskt tröskelvärde uppnås först efter 90 minuter (Robertson *et al.*, 2005). Hos hunden i Ko *et al.* (2011) kan man därför fundera på om maxeffekten av buprenorfin ännu inte uppnåtts eller om buprenorfinets smärtstillande effekt var otillräcklig för att häva smärtan. I den aktuella studien på kanin uppgick medelvärde för plasmakoncentrationerna till värden över 0,6 ng/ml under 60 minuter (0,74 ng/ml) efter PO tillförsel samt 180 minuter (0,82 ng/ml) efter IV tillförsel. Vid 480 minuter låg medelvärdet på 0,10 ng/ml efter PO och 0,27 ng/ml efter IV giva.

Det kan även spekuleras om höga initiala plasmakoncentrationer förbättrar analgesin genom att öka biofasen/osmosen in i målvävnaden. I en studie av Murrell *et al.* (2007) där man undersökt effekten av transdermal administrering av buprenorfin (35 µg/h) hos katt uteblev en höjning av termiskt tröskelvärde från basnivå. Detta trots uppmätta buprenorfinkoncentrationer i plasman jämförbara med koncentrationer som förknippats med analgesi efter IV och OTM buprenorfin giva i en annan studie (Robertson *et al.*, 2005). Man har i en studie på katt av Steagall *et al.* (2013) uppmätt ett högre termiskt tröskelvärde efter IV tillförsel av buprenorfin än när samma dos givits subkutan, men koncentrationer i plasman mättes inte här. Negativ hysteresis har setts efter buprenorfin giva hos flera andra djurslag (Robertson *et al.*, 2005; Pieper *et al.*, 2011; Steagall *et al.*, 2013; Love *et al.*, 2015; Taylor *et al.*, 2016,) och gör det svårt att monitorera grad av smärtlindring genom att mäta plasmakoncentrationer. Effekten beror sannolikt på att buprenorfin har en hög dissociationskonstant för µ-receptorn, vilket innebär att effekten kvarstår under en lång tid efter att koncentrationen i cirkulationen sjunkit. Detta medför att en låg plasmakoncentration buprenorfin inte behöver betyda låg grad av analgesi.

I Flecknell & Liles (1990) studie av buprenorfin till kanin kunde man inte se den klockformade dos-effektkurvan som setts hos bland annat möss (Lutfy *et al.*, 2003). I Lutfy *et al.* (2003) studie sågs maximal antinociceptiv effekt vid en dos på 1 mg/kg vilket är en betydligt högre dos än de som använd för analgesi kliniskt. Den avtagande analgetiska effekten sågs vid en dos på 3 mg/kg. I Flecknell & Liles (1990) studie var den högsta administrerade dosen 0,3 mg/kg vilket inte ens motsvarar dosen för maxeffekt i Lutfy *et al.* (2003) studie och man kan därför inte utesluta att analgesin avtar med högre doser även hos kanin.

Studier rörande buprenorfinns analgetiska effekt hos kanin är få. I många smärtstudier används ökad tolerans av värmestimuli som ett mått på analgesi. Det är svårt att säga hur den typ av

nociception korrelerar till smärta efter exempelvis kirurgiska ingrepp. Smärta är en subjektiv upplevelse och skiljer sig mellan individer. Hos människa har man sett genetiska skillnader i hur man upplever olika nociceptiva stimuli (Coghill, 2010) och mest troligt har även kaniner och andra djur individuella skillnader i hur de upplever smärta även om detta är svårstuderat. Att utvärdera analgetisk effekt genom att studera fysiologiska parametrar hos kanin är också förenat med svårigheter då mänsklig närvaro skapar stress som ger liknande förändringar. Man kunde exempelvis i Keating *et al.* (2012) studie inte se någon skillnad i kortisolhalter i blodet mellan kaniner som örontatuerats eller fått en låtsastatuering även om värden i båda grupperna var förhöjda i förhållande till basnivåer. En trolig anledning är att stress till följd av hantering höjt kortisolnivåerna hos djur i båda grupperna.

Arean under plasmakoncentrationskurvan, som är ett mått på läkemedelsexponering över tid, var efter peroral administrering av buprenorfin var signifikant lägre ($p < 0,01$) trots en tio gånger högre dos och hade samma dos givits PO och IV hade skillnaden blivit ännu större. Den terminala halveringstiden (elimineringsfasen) skilde sig inte mellan PO och IV administrering av buprenorfin ($p > 0,05$) vilket inte heller var förväntat eftersom denna förväntas vara samma oberoende av plasmakoncentration. Det är dock av stor vikt att beakta halveringstid när det kommer till att bestämma dos och doseringsintervall av ett läkemedel.

Buprenorfin till kanin

Opioider har en känd negativ inverkan på tarmmotiliteten. I denna studie studerades inte gastrointestinal påverkan men inga uppenbara avvikelser sågs under den tid försöket pågick. Buprenorfin har hos kanin setts ge långsammare tarmpassagehastighet i Martin-Flores *et al.* (2017) studie. Det är dock viktigt att ta hänsyn till att även smärta har en negativ gastrointestinal påverkan och ta detta i beaktning när man väljer smärtlindringsstrategi till kanin. I Cooper *et al.* (2009) studie på ovariehystektomerade honkaniner utvecklade fyra av tio kaniner ileus postoperativt i en kontrollgrupp som endast fått lokalbedövning under operation medan detta inte sågs hos någon kanin i de grupper som fått mer adekvat smärtlindring.

I studien av Goldschlager *et al.* (2013) på kanin kunde man se att en kombination av en låg dos buprenorfin och meloxicam gav upphov till signifikant lägre halt av glukokortikoider i faeces efter ovariehystektomi än när preparaten användes var för sig. Meloxicam har en bra biverkningsprofil för kanin och har i studier om långtidsanvändning (1 mg/kg q24 h i 21 respektive 29 dagar) inte resulterat i negativa effekter på gastrointestinkanalen eller på tarmbakteriekomposition (Delk *et al.*, 2014; Eshar & Weese, 2014). Multimodal analgesi har fördelen att läkemedlen verkar på olika lokaliseringar i nervsystemet och potentierar varandra. Därmed kan lägre doser av respektive substans ges och risken för biverkningar minskar. I Goldschlager *et al.* (2013) studie om fekala glukokortikoidnivåer efter ovariohysterektomi på kanin steg nivåerna efter avslutad behandling (tre dagar postoperativt) vilket kan föranleda ett förespråkande av en längre behandlingstid än tre dagar vid större kirurgiska ingrepp på kanin. Det är alltid viktigt att väga potentiella biverkningar av läkemedel mot behovet av fortsatt smärtlindring.

Opioiders effekt skiljer sig mellan djurslag och man bör därför vara försiktig att dra slutsatser från studier som utförts på annat än det aktuella djurslaget. I studier där opioiden morfin administrerats observerade Kamata *et al.* (2012) exempelvis eufori och mydriasis hos katt men inte hos hund. Kräkning är vanligt hos hundar som administrerats morfin men mindre vanligt hos katt (Kamata *et al.*, 2012; Grimm *et al.*, 2015). I Kamata *et al.* (2012) studie gavs även fentanyl i doser mellan 0,002-0,004 mg/kg till hund och katt vilket resulterade i minskad aktivitet och sänkt medvetandegrad hos hund medan aktivitetsnivån höjdes hos katt. I en studie

av Hellyer *et al.* (2003) jämfördes bindning till opioidreceptorer mellan hund och häst och man såg då att det finns en trolig djurslagsvariation i distribution av opioida receptorer i centrala nervsystemet. Buprenorfin har hos häst setts stimulera lokomotorisk aktivitet (Love *et al.*, 2015) medan det kan ha en sederande effekt hos hund (Abbo *et al.*, 2008) vilket skulle kunna bero på variationer i opioidreceptordistribution.

Studiedesign

Studien var planerad som en randomiserad crossover-studie där varje kanin skulle fått buprenorfin genom de båda administreringsvägar som beskrivs i material och metod. På grund av svårigheter med kateterisering av artären lyckades inte designen fullt ut. Kanske hade kateteriseringen lyckats bättre om längre tid än de två veckor för återhämtning hade lämnats mellan provtagningsdagar. En ren cross-over hade gett ett starkare bevisvärde eftersom varje individ hade fungerat som sin egen kontroll mellan de två administreringsvägarna. Plasmakoncentrationer samt värden för $T_{1/2}$ och AUC_{0-t} hos de tre individer som var cross-over utmärkte sig inte nämnvärt sig mot data från de övriga kaninerna (se figur 2 och 3). Individerna som användes är en relativt homogen grupp och resultaten visar tydligt att det orala upptaget är lågt vilket gör att slutsatsen med stor sannolikhet blivit densamma.

Till skillnad från vad som sågs i Freijs (2016) studie, visade ingen kanin tecken på centralnervösa symtom av provtagningen. I en del fall lyckades kaninerna dra ut artärkatetern mot slutet av försöksdagen (efter 180–480 minuter). Eftersom artären måste komprimeras vid borttagning av katetern för att förhindra livshotande blodförluster, övervakades kaninerna konstant under försöksdagen. Benägenheten att avlägsna artärkatetern under senare delen av försöksdagen skulle kunna bero på att buprenorfinet haft en sederande effekt som avtagit eller att kaninerna kände ett ökat obehag av katetrarna.

KONKLUSION

Resultatet i denna studie visade att peroral tillförsel av buprenorfin i hög dos (0,5 mg/kg) till kanin endast ger upphov till låga plasmakoncentrationer i jämförelse med intravenös tillförsel (0,05 mg/kg). Det är oklart om plasmanivåer efter PO tillförsel kan ge tillräcklig analgesi hos smärtpåverkade kaniner. Biotillgängligheten för peroralt administrerat buprenorfin visade sig i denna studie vara mycket låg vilket gör att stora volymer krävs. Detta sammanvägt med svårigheten att administrera buprenorfin PO och lämpligheten att lämna med djurägare en stor volym narkotikaklassat läkemedel hem gör att PO administrering av buprenorfin till kanin inte kan rekommenderas.

TACK TILL

Ett stort tack till min handledare Patricia Hedenqvist för allt stöd och handledning jag fått under arbetet med mitt examensarbete. Vill även rikta min tacksamhet till Lena Olsén och Görel Nyman för kloka synpunkter och input på mitt arbete samt till Marianne Jensen Waern, Mari Wallbring, Carola Eriksson och Elin Manell på Institutionen för kliniska vetenskaper för god assistans vid försöksdagarna.

REFERENSER

- Abbo, L., Ko, J., Maxwell, L., Galinsky, R., Moody, D., Johnson, B. & Fang, W. (2008). Pharmacokinetics of buprenorphine following intravenous administration in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 69(6), ss. 722–727.
- Barter, L. S. (2011). Rabbit analgesia. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*, 14(1), ss. 93–104.
- Boas, R. A. & Villiger, J. W. (1985). Clinical actions of fentanyl and buprenorphine. *British Journal of Anaesthesia*, 57, ss. 192–196.
- Carpenter, J. W. & Marion, C. J. (2013). *Exotic animal formulary*. 4 uppl. St Louis: Elsevier Health Science.
- Carpenter, J. W., Pollock, C. G., Koch, D. E. & Hunter, R. P. (2009). Single and multiple-dose pharmacokinetics of meloxicam after oral administration to the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of zoo and wildlife medicine: official publication of the American Association of Zoo Veterinarians*, 40(4), ss. 601–6.
- Coghill, R. C. (2010). Individual differences in the subjective experience of pain: New insights into mechanisms and models. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 50(9), ss. 1531–1535
- Cone, E. J., Gorodetzky, C. W., Yousefnejad, D. & Darwin, W. D. (1985). ⁶³Ni electrone-capture gas chromatographic assay for buprenorphine and metabolites in human urine and feces. *Journal of Chromatography Biomedical Applications Elsevier Science Publishers B.V*, 337, ss. 291–300.
- Cooper, C. S., Metcalf-Pate, K. A., Barat, C. E., Cook, J. A. & Scorpio, D. G. (2009). Comparison of side effects between buprenorphine and meloxicam used postoperatively in Dutch belted rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 48(3), ss. 279–285
- Coulter, C. A., Flecknell, P. A., Leach, M. C. & Richardson, C. A. (2011). Reported analgesic administration to rabbits undergoing experimental surgical procedures. *BMC Veterinary Research*, 7(1), s. 12.
- Delk, K. W., Carpenter, J. W., Kukanich, B., Nietfeld, J. C. & Kohles, M. (2014). Pharmacokinetics of meloxicam administered orally to rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) for 29 Days. *American journal of Veterinary Research*, 75(2), ss. 195–199.
- DiVincenti, L., Meirelles, L. A. D. & Westcott, R. A. (2016). Safety and clinical effectiveness of a compounded sustained-release formulation of buprenorphine for postoperative analgesia in New Zealand White rabbits. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 248(7), ss. 795–801.
- Elkader, A. & Sproule, B. (2005). Buprenorphine. *Clinical Pharmacokinetics*, 44(7), ss. 661–680.
- Eshar, D. & Weese, J. (2014). Molecular analysis of the microbiota in hard feces from healthy rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) medicated with long term oral meloxicam. *BMC Veterinary Research*, 10(1), s. 62.
- Flecknell, P. A. & Liles, J. H. (1990). Assessment of the analgesic action of opioid agonist-antagonists in the rabbit. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 17(1), ss. 24–29.
- Flecknell, P. A., Roughan, J. V & Stewart, R. (1999). Use of oral buprenorphine

- (‘buprenorphine jello’) for postoperative analgesia in rats—a clinical trial. *Laboratory Animals*, 33(2), ss. 169–174.
- Foley, P. L., Henderson, A. L., Bissonette, E. A., Wimer, G. R. & Feldman, S. H. (2001). Evaluation of fentanyl transdermal patches in rabbits: blood concentrations and physiologic response. *Comparative medicine*, 51(3), ss. 239–244.
- Fredholm, D. V., Carpenter, J. W., KuKanich, B. & Kohles, M. (2013). Pharmacokinetics of meloxicam in rabbits after oral administration of single and multiple doses. *American Journal of Veterinary Research*, 74(4), ss. 636–641.
- Freijs, E. (2016). Comparison of plasma levels and analgesic effect between oral transmucosal and subcutaneous administration of buprenorphine in rabbits. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet (Examensarbete 2016:46).
- Gassel, A. D., Tobias, K. M., Egger, C. M. & Rohrbach, B. W. (2005). Comparison of oral and subcutaneous administration of buprenorphine and meloxicam for preemptive analgesia in cats undergoing ovariohysterectomy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 227(12), ss. 1937–1944.
- Giordano, T., Steagall, P. V., Ferreira, T. H., Minto, B. W., de Sá Lorena, S. E. R., Brondani, J. & Luna, S. P. (2010). Postoperative analgesic effects of intravenous, intramuscular, subcutaneous or oral transmucosal buprenorphine administered to cats undergoing ovariohysterectomy. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 37(4), ss. 357–366.
- Goldschlager, G. B., Gillespie, V. L., Palme, R. & Baxter, M. G. (2013). Effects of multimodal analgesia with LowDose buprenorphine and meloxicam on fecal glucocorticoid metabolites after surgery in New Zealand white rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 52(5), ss. 571–6.
- Grimm, K. A., Lamont, L. A., Tranquilli, W. J., And, S. A. G. & Robertson, S. A. (2015). *Veterinary Anesthesia and Analgesia - the fifth edition of Lumb and Jones*. 5 uppl. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Hellyer, P. W., Bai, L., Supon, J., Quail, C., Wagner, A. E., Mama, K. R. & Magnusson, K. R. (2003). Comparison of opioid and alpha-2 adrenergic receptor binding in horse and dog brain using radioligand autoradiography. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 30(3), ss. 172–182.
- Kalliokoski, O., Jacobsen, K. R., Hau, J. & Abelson, K. S. P. (2011). Serum concentrations of buprenorphine after oral and parenteral administration in male mice. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 187(2), ss. 251–4.
- Kamata, M., Nagahama, S., Kakishima, K., Sasaki, N. & Nishimura, R. (2012). Comparison of Behavioral Effects of Morphine and Fentanyl in Dogs and Cats. *Journal of Veterinary Medical Science*, 74(2), ss. 231–234.
- Keating, S. C. J., Thomas, A. A., Flecknell, P. A. & Leach, M. C. (2012). Evaluation of EMLA cream for preventing pain during tattooing of rabbits: changes in physiological, behavioural and facial expression responses. (Chapouthier, G., Ed) *PLoS ONE*, 7(9).
- Kluge, K., Larenza Menzies, M. P., Kloeppe, H., Pearce, S. G., Bettschart-Wolfensberger, R. & Kutter, A. P. N. (2017). Femoral and sciatic nerve blockades and incision site infiltration in rabbits undergoing stifle joint arthrotomy. *Laboratory Animals*, 51(1), ss. 54–64.
- Ko, J. C., Freeman, L. J., Barletta, M., Weil, A. B., Payton, M. E., Johnson, B. M. & Inoue, T.

- (2011). Efficacy of oral transmucosal and intravenous administration of buprenorphine before surgery for postoperative analgesia in dogs undergoing ovariohysterectomy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 238(3), ss. 318–328.
- KuKanich, B. & Papich, M. G. (2004). Pharmacokinetics of tramadol and the metabolite O-desmethyltramadol in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27(4), ss. 239–246.
- Langford, D. J., Bailey, A. L., Chanda, M. L., Clarke, S. E., Drummond, T. E., Echols, S., Glick, S., Ingraio, J., Klassen-Ross, T., Lacroix-Fralish, M. L., Matsumiya, L., Sorge, R. E., Sotocinal, S. G., Tabaka, J. M., Wong, D., Van Den Maagdenberg, A. M. J. M., Ferrari, M. D., Craig, K. D. & Mogil, J. S. (2010). Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. *Nature Methods*, 7(6), ss. 447–449.
- Leach, M. C., Allweiler, S., Richardson, C., Roughan, J. V, Narbe, R. & Flecknell, P. A. (2009). Behavioural effects of ovariohysterectomy and oral administration of meloxicam in laboratory housed rabbits. *Research in Veterinary Science*, 87(2), ss. 336–347.
- Leach, M. C., Coulter, C. A., Richardson, C. A. & Flecknell, P. A. (2011). Are we looking in the wrong place? Implications for behavioural-based pain assessment in rabbits (*Oryctolagus cuniculi*) and beyond? (Hausberger, M., Ed) *PLoS ONE*, 6(3).
- Love, E. J., Pelligand, L., Taylor, P. M., Murrell, J. C. & Sear, J. W. (2015). Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of intravenous buprenorphine in conscious horses. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 42(1), ss. 17–29.
- Lutfy, K., Eitan, S., Bryant, C. D., Yang, Y. C., Saliminejad, N., Walwyn, W., Kieffer, B. L., Takeshima, H., Carroll, F. I., Maidment, N. T. & Evans, C. J. (2003). Buprenorphine-induced antinociception is mediated by mu-opioid receptors and compromised by concomitant activation of opioid receptor-like receptors. *Journal of Neuroscience*, 23(32), ss. 10331–10337.
- Martin-Flores, M., Singh, B., Walsh, C. A., Brooks, E. P., Taylor, L. & Mitchell, L. M. (2017). Effects of buprenorphine, methylbuprenorphine, and their combination on gastrointestinal transit in healthy New Zealand white rabbits. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 56(2), ss. 155–159.
- Martin, L. B. E., Thompson, A. C., Martin, T. & Kristal, M. B. (2001). Analgesic efficacy of orally administered buprenorphine in rats. *Comparative Medicine*, 51(1), ss. 43–48.
- Monclús, R., Palomares, F., Tablado, Z., Martínez-Fontúrbel, A. & Palme, R. (2009). Testing the threat-sensitive predator avoidance hypothesis: Physiological responses and predator pressure in wild rabbits. *Oecologia*, 158(4), ss. 615–623.
- Murrell, J. C., Robertson, S. A., Taylor, P. M., McCown, J. L., Bloomfield, M. & Sear, J. W. (2007). Use of a transdermal matrix patch of buprenorphine in cats: preliminary pharmacokinetic and pharmacodynamic data. *The Veterinary Record*, 160(17), ss. 578–583.
- Pieper, K., Schuster, T., Levionnois, O., Matis, U. & Bergadano, A. (2011). Antinociceptive efficacy and plasma concentrations of transdermal buprenorphine in dogs. *Veterinary Journal*, 187(3), ss. 335–341.
- Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. M., Flower, R. J. Rod J. & Henderson, G. (2011). *Rang and Dale's Pharmacology*. 7 uppl. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Robertson, S. A., Lascelles, B. D. X., Taylor, P. M. & Sear, J. W. (2005). PK-PD modeling of buprenorphine in cats: Intravenous and oral transmucosal administration. *Journal of*

Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 28(5), ss. 453–460.

- Schroeder, C. A. & Smith, L. J. (2011). Respiratory rates and arterial blood-gas tensions in healthy rabbits given buprenorphine, butorphanol, midazolam, or their combinations. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 50(2), ss. 205–211.
- Shafford, H. L. & Schadt, J. C. (2008a). Effect of buprenorphine on the cardiovascular and respiratory response to visceral pain in conscious rabbits. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 35(4), ss. 333–340.
- Shafford, H. L. & Schadt, J. C. (2008b). Respiratory and cardiovascular effects of buprenorphine in conscious rabbits. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 35(4), ss. 326–332.
- Smith, B., Wegenast, D., Hansen, R., Hess, A. & Kendall, L. (2016). Pharmacokinetics and paw withdrawal pressure in female guinea pigs (*Cavia porcellus*) treated with sustained-release buprenorphine and buprenorphine hydrochloride. *Journal of American Association for Laboratory Animal Science*, 55(6), ss. 789–793.
- Sotocina, S. G., Sorge, R. E., Zaloum, A., Tuttle, A. H., Martin, L. J., Wieskopf, J. S., Mapplebeck, J. C., Wei, P., Zhan, S., Zhang, S., McDougall, J. J., King, O. D. & Mogil, J. S. (2011). The rat grimace scale: A partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Molecular Pain*, 7(55).
- Souza, M. J., Greenacre, C. B. & Cox, S. K. (2008). Pharmacokinetics of orally administered tramadol in domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *American Journal of Veterinary Research*, 69(8), ss. 979–982.
- Statistiska centralbyrån (SCB) (2012). *Hundar, katter och andra sällskapsdjur*.
- Steagall, P. V. M., Mantovani, F. B., Taylor, P. M., Dixon, M. J. & Luna, S. P. L. (2009). Dose-related antinociceptive effects of intravenous buprenorphine in cats. *Veterinary Journal*, 182(2), ss. 203–209.
- Steagall, P. V., Pelligand, L., Giordano, T., Auberger, C., Sear, J. W., Luna, S. P. & Taylor, P. M. (2013). Pharmacokinetic and pharmacodynamic modelling of intravenous, intramuscular and subcutaneous buprenorphine in conscious cats. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 40(1), ss. 83–95.
- Steagall, P. V., Taylor, P. M., Brondani, J. T., Luna, S. P., Dixon, M. J. & Ferreira, T. H. (2007). Effects of buprenorphine, carprofen and saline on thermal and mechanical nociceptive thresholds in cats. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 34(5), ss. 344–350.
- Taylor, P. M., Luangdilok, C. H. & Sear, J. W. (2016). Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of high doses of buprenorphine delivered via high-concentration formulations in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 18(4), ss. 290–302.
- Thompson, A. C., Dipirro, J. M., Sylvester, A. R., Martin, L. B. E. & Kristal, M. B. (2006). Lack of analgesic efficacy in female rats of buprenorphine. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 45(6), ss. 13–16.
- Varga, M. (2013). *Textbook of Rabbit Medicine*. 2. ed. Elsevier Health Sciences.
- Wootton, R., Cross, G., Wood, S. & West, C. D. (1988). An analgesiometry system for use in rabbits with some preliminary data on the effects of buprenorphine and lofentanil. *Laboratory Animals*, 22(3), ss. 217–222.