

Biotillgänglighet för buprenorfin efter subkutan administrering till kanin

Bioavailability of buprenorphine after subcutaneous administration to rabbits



Elin Fredriksson

*Uppsala
2019*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

Biotillgänglighet för buprenorfin efter subkutan administrering till kanin

Bioavailability of buprenorphine after subcutaneous administration to rabbits

Elin Fredriksson

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: EX0869

Kursansvarig institution: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2019

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

Omslagsillustration: Elin Fredriksson

Nyckelord: kanin, buprenorfin, smärtlindring, analgesi, subkutan, intravenös, biotillgänglighet, farmakokinetik

Key words: rabbit, buprenorphine, pain relief, analgesia, subcutaneous, intravenous, bioavailability, pharmacokinetics

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

SAMMANFATTNING

Kaniner är både populära sällskapsdjur och används ofta experimentellt inom forskning. Kaniner kan behöva genomgå kirurgiska ingrepp och effektiv postoperativ smärtlindring är nödvändig för att upprätthålla god djurvälstånd. För att smärtlindra kaniner används opioiden buprenorfin, ett potent långtidsverkande analgetikum med lindrig sedativ effekt och förstärkande effekt på andra centralt verkande läkemedel. Buprenorfin administreras ofta subkutant (SC) då det är mindre komplicerat än intravenös (IV) och troligen mindre smärtsamt än intramuskulär (IM) injektion. I nuläget är rekommenderad dosering och doseringsintervall för buprenorfin till kanin 0,02–0,1 mg/kg var 6:e timme oavsett administrationsväg, detta trots att nästan inga farmakokinetiska studier genomförts på kanin för att beräkna biotillgängligheten. Syftet med denna studie var att fastställa biotillgängligheten hos buprenorfin efter SC administrering och därmed kunna ge bättre rekommendationer för administrering av buprenorfin till kanin. I denna randomiserade studie användes tio New Zealand White kaniner, fem av vardera kön. Vid tre olika tillfällen och med två veckors mellanrum, administrerades varje kanin buprenorfin IV 0,05 mg/kg, SC 0,05 mg/kg (SC låg) respektive SC 0,1 mg/kg (SC hög). Upprepade arteriella blodprover togs under 480 min och serum analyserades för att mäta buprenorfinkoncentrationen. Data analyserades med två-vägs-ANOVA med behandling och kön som oberoende variabler, djur och försöksdag som block, samt kroppsvikt som kovariat. Administrationsvägen hade en signifikant effekt på alla parametrar, som varierade mellan kön. AUC var signifikant lägre för SC låg än för IV för honor (423 ± 149 resp. 911 ± 161 $\mu\text{g/L} \cdot \text{min}$, $p < 0,001$) och även för hanar (366 ± 178 resp. 667 ± 133 , $p = 0,01$). AUC för SC låg var även signifikant lägre än för SC hög för honor (633 ± 211 , $p = 0,015$) och hanar (958 ± 387 , $p < 0,001$). Biotillgängligheten var signifikant lägre för SC låg än för SC hög för hanar (53 ± 22 resp. 71 ± 23 %, $p = 0,008$) men inte för honor (48 ± 21 resp. 36 ± 14 %, $p = 0,6$). C_{max} var lägre för SC låg än för SC hög för hanar (2 ± 1 resp. 8 ± 3 ng/ml, $p < 0,001$) men inte för honor (3 ± 2 resp. 3 ± 1 ng/ml, $p = 0,15$). Det är svårt att ge en rekommendation om SC dos av buprenorfin till kanin eftersom effekten av dos på de farmakokinetiska egenskaperna varierar beroende på kön. Eftersom SC administrering även kan påverkas av fettdepåer så är intravenös administrering att föredra. Det vore värdefullt att utvärdera intramuskulär administrering som ett alternativ.

SUMMARY

Rabbits are popular pets and widely used in research. Sometimes rabbits may need to undergo surgical procedures and effective post-operative analgesia is necessary to maintain good animal welfare. The opioid buprenorphine is often used to relieve pain in rabbits. It is a potent long-acting analgesic with mild sedative effect and enhancing effect on other centrally acting drugs. Buprenorphine is often administered subcutaneously (SC) as it is easier than giving intravenous (IV) and probably less painful than an intramuscular (IM) injection. At present, the recommended dosage and dosing interval for buprenorphine for rabbits is 0,02-0,1 mg/kg every 6 hours, regardless of route of administration, even though there are almost no pharmacokinetic studies on rabbits to calculate the bioavailability of buprenorphine. The purpose of this study was to determine the bioavailability of buprenorphine after SC administration and provide better recommendations for the administration of buprenorphine to rabbits. In this randomized crossover study, ten New Zealand White rabbits, five of each sex, were used. At three different occasions, with intervals of two weeks, each rabbit was administered buprenorphine IV 0,05 mg/kg, SC 0,05 mg/kg (low) and SC 0,1 mg/kg (high). Repeated arterial blood samples were taken during 480 minutes after administration and serum was assayed to determine buprenorphine concentration. Data was analyzed with two-way ANOVA with Treatment and Sex as independent factors, Animal and Time as blocking factors and body weight (BW) as a covariate. Administration route had an overall effect on all parameters, an effect that varied between sexes. AUC was significantly lower for SC 0,05 than for IV in females (423 ± 149 and 911 ± 161 $\mu\text{g/L}\cdot\text{min}$, $p < 0,001$) and males (366 ± 178 and 667 ± 133 $\mu\text{g/L}\cdot\text{min}$, $p = 0,01$). AUC was also significantly lower for SC 0,05 than for SC 0,1 in females (633 ± 211 , $p = 0,015$) and in males (958 ± 387 , $p < 0,001$). The bioavailability was significantly lower for SC 0,05 than SC 0,1 in males (53 ± 22 and $71 \pm 23\%$, $p = 0,008$) but not in females (48 ± 21 and $36 \pm 14\%$, $p = 0,6$). C_{max} was lower for SC 0,05 than SC 0,1 in males (2 ± 1 and 7 ± 3 ng/mL, $p < 0,001$) but not females (3 ± 2 and 3 ± 1 ng/mL, $p = 0,15$). It is difficult to give a recommendation for dosage of SC buprenorphine to rabbit as the effect of dose on the pharmacokinetic properties varies depending on the sex. Since SC administration also could be affected by fat deposits, intravenous administration is to prefer. It would be valuable to evaluate intramuscular administration as another option.

INNEHÅLL

Inledning	1.
Litteraturöversikt	1.
Vad är buprenorfin.....	1.
Respiratoriska och kardiovaskulära effekter.....	1.
Gastrointestinala effekter.....	2.
Analgetiska effekter.....	2.
Farmakokinetiska egenskaper.....	4.
Studiens syfte.....	5.
Material och metod	5.
Kaninerna.....	5.
Studiedesign.....	5.
Försöksdagarna.....	6.
Hantering och analys av prover.....	6.
Bearbetning av data.....	6.
Resultat	7.
Hälsostatus och vikt.....	7.
Buprenorfinhalt i serum.....	8.
Farmakokinetiska parametrar.....	11.
Diskussion	14.
Biotillgänglighet.....	14.
Vad kan påverka biotillgängligheten vid en SC injektion.....	16.
Studiens resultat relaterat till doseringsrekommendationer.....	18.
Konklusion	18.
Populärvetenskaplig sammanfattning	19.
Tack till	21.
Referenser	22.

LISTA ÖVER FÖRKORTNINGAR

AUC_{0-t} – Area under serumkoncentration-tid kurvan från tiden 0 till tiden t

AUC_{0-inf} – Area under serumkoncentration-tid kurvan från tiden 0 till oändlighet

C_{max} – Högsta uppmätta koncentration

ECM – extracellulär matrix

F – biotillgänglighet

IA – intraadipös

IM – intramuskulär

IV – intravenös

NaCl – natriumklorid

NZW – New Zealand White

OTM – oral transmukosal

PO – peroral

SC – subkutan

SD – standardavvikelse

T_{max} – tid till högsta uppmätta koncentration

$T_{1/2}$ – halveringstid

INLEDNING

För postoperativ smärtlindring efter kirurgiska ingrepp på kanin används opioiden buprenorfin. Buprenorfin administreras ofta med subkutan (SC) injektion, då det är enklare än intravenös (IV) och troligtvis mindre smärtsamt än intramuskulär (IM) injektion. I nuläget är rekommenderad dosering och doseringsintervall för buprenorfin till kanin 0,02–0,1 mg/kg var 6:e timme oavsett administrationsväg (Barter, 2011). Detta trots att nästan inga farmakokinetiska studier gjorts på kaniner efter SC injektion med buprenorfin. SC administrering av buprenorfin till katt har i flera studier visat sig ge lägre upptag och mindre analgetisk effekt än IM och IV administrering av samma dos (Steagall *et al.*, 2013; Steagall *et al.*, 2007; Robertson *et al.*, 2003; 2005; Giordano *et al.*, 2010). Studier på kaniner som smärtlindrats med buprenorfin SC har visat varierande analgetisk effekt (Wootton *et al.*, 1988; Weaver *et al.*, 2010; Goldschlager *et al.*, 2013; DiVincenti Jr *et al.*, 2016). En studie (Hedenqvist *et al.*, 2016) visade att kaniner som fått postoperativ smärtlindring med SC buprenorfin, 0,05 mg/kg SC, efter benkirurgi fortfarande hade höga poäng på ”pain face”, en smärtskala baserad på kaninens ansiktsuttryck. Sammantaget indikerar detta att biotillgängligheten av buprenorfin efter SC administrering kan vara låg, vilket denna studie syftar till att undersöka.

LITTERATURÖVERSIKT

Vad är buprenorfin?

Buprenorfin är ett läkemedel som används mycket inom veterinärmedicin, framförallt för att lindra postoperativ smärta. Läkemedlet är ett potent långtidsverkande analgetikum med lindrig sedativ effekt och förstärker även effekten av andra centralt verkande läkemedel. Buprenorfin är vattenlöslig, har låg molekylvikt (467,64 g/mol) och är mycket lipofil vilket ger snabb absorption och stor distributionsvolym efter IM injektion hos flera djurarter. Buprenorfin är en syntetisk opioid som ger smärtlindrande effekt genom att binda till och aktivera opioidreceptorer i det centrala nervsystemet, då som parteriell agonist till μ -receptorn och antagonist till κ -receptorn (Roughan & Flecknell, 2002). Buprenorfin binder med hög affinitet och dess dissociation från bindningsstället sker i två steg med en snabb första fas då ca 50 % av receptorerna frigörs och en långsam andra dissociationsfas. Detta tros vara orsaken till att buprenorfin har en analgetisk verkan som överstiger den farmakokinetiska halveringstiden och ger längre verkningsduration än många andra opioider (Boas & Villiger, 1985; Rothman *et al.*, 1995). Buprenorfin fungerar även som μ -receptorantagonist då den med sin höga affinitet till opioidreceptorer kan hindra inbindningen av rena agonister såsom ex. morfin eller metadon. I vissa studier räknas buprenorfin även som κ -receptor agonist och kan ge analgetisk effekt via κ -receptorn. Vilka receptorer buprenorfin verkar på är antagligen dosberoende (Roughan & Flecknell, 2002; Pick *et al.*, 1997).

Respiratoriska och kardiovaskulära effekter

Shafford och Schadt (2008) undersökte vilka respiratoriska och kardiovaskulära effekter buprenorfin utövar på åtta friska vakna NZW kaniner. En dos av 0,06 mg buprenorfin (ca 0,02 mg/kg) injicerades IV eller SC på kaninerna. Blodtryck, arteriella blodgaser, hjärt- och andningsfrekvens mättes före injektion samt 10 och 22 min efter IV injektion resp. 30, 60 och 90

min efter SC injektion. Resultatet visade att varken blodtryck eller hjärtfrekvens påverkades av IV eller SC injektion av buprenorfin 0,02 mg/kg. Däremot minskade andningsfrekvensen markant och en mild hypoxi sågs hos kaninerna efter både IV och SC administration. Andningsfrekvensen sänktes med 85 %, 22 min efter IV och 71 %, 90 min efter SC administration. Dessa förändringar tolererades väl av friska djur men bör tas i beaktande om buprenorfin skall administreras till kaniner som är predisponerade för andningsdepression.

Gastointestinala effekter

Deflers *et al.* (2018) studerades de gastrointestinala organen hos 15, 3 mån gamla NZW kaninhanar med ultraljud och kontraströntgen med bariumsulfat både innan och efter IM injektion 0,1 mg/kg buprenorfin. Kaninerna hade fri tillgång till vatten, hö och en kanin-mix. Resultatet visade att tarmkontraktionerna kvarstod, kontraktionerna i pylorus och duodenum ökade något men intagen föda passerade i normal hastighet genom digestionskanalen. Detta motsägs dock i studien av Martin-Flores *et al.* (2017) där åtta vuxna NZW hankaniner gavs 20 bariumfyllda ampuller genom en orogastrisk sond och i en randomiserad studie injicerades med fyra olika behandlingar; 0,05 mg/kg buprenorfin SC, 1 mg/kg metylnaltrexon (μ -opioidantagonist) SC, både buprenorfin 0,05 mg/kg och metylnaltrexon 1 mg/kg eller NaCl var 12:e timme i två dagar. Kaninerna fodrades med fullfoderpellets och hade fri tillgång till vatten. Produktion av feces, vatten och matkonsumtion samt kroppsvikt mättes sedan under fem dagar efter varje behandling. Feces röntgades för att se om det innehöll bariumampuller. Resultatet visade minskad mat och vattenkonsumtion, förlängd passagetid genom gastrointestinala systemet och minskad mängd avföring. Sambehandling med metylnaltrexon 1 mg/kg motverkade inte de negativa effekterna.

Analgetiska effekter

Studier på kanin har visat att buprenorfin når maximal smärtlindrande effekt vid nociceptiv smärta (värme) 3 – 4 h efter SC administrering med 0,03 mg/kg buprenorfin (Flecknell & Liles, 1990). Hos råttor uppnås däremot maximalt smärtlindring redan ca 1 timme efter SC injektion med 0,5 mg/kg (Dum & Herz, 1981). Även hos katt ses maximal (men låg) smärtlindrande effekt mot nociceptiv smärta (värme) efter 1 h vid SC administrering av en låg dos (0,02 mg/kg) (Steagall *et al.*, 2013). En liknande studie med högkoncentrerat buprenorfin (0,24 mg/kg) SC på katt visar även den på smärtlindrande effekt mot nociceptiv smärta (värme) från 1 h men maximal smärtlindrande effekt sågs först efter 8 h (Doodnaught *et al.*, 2017).

Buprenorfin har i studier på råttor visat sig ha en klockformad dosresponskurva, vilket innebär att när maximal smärtlindrande effekt har uppnåtts ger ökad dos buprenorfin inte bättre analgesi utan kan istället ge minskad effekt, detta vid doser över 1 mg/kg. Det som händer är troligen att den agonistiska effekt buprenorfin utövar på opioidreceptorer avtar samtidigt som den antagonistiska effekten ökar (Dum & Herz, 1981).

Den serum/plasmakoncentration av buprenorfin som krävs för att uppnå smärtstillande effekt varierar kraftigt mellan olika arter och studier, från runt 0,1 till 10 ng/ml. Flera studier på människor med tumörrelaterad eller postoperativ smärta har visat att den lägsta plasmakoncentration av buprenorfin som krävs för att lindra medelstark till stark smärta ligger på 0,1 till 0,5 ng/ml (Lehmann & Gordes, 1988, Gralow *et al.*, 1995, se Sittl *et al.*, 2003). Hos möss har

studier med nociceptiv smärta visat att 1–10 ng/ml i plasma och 3–12 ng/ml i hjärnan krävs för effektiv smärtlindring, korrelationen mellan buprenorfinkoncentration i plasma och hjärna och analgetisk effekt var mycket god (Park *et al.*, 2008). En studie på hund visar att en plasmakoncentration över 0,6 ng/ml krävs för fullgod analgetisk effekt efter ovariehysterektomi (Ko *et al.*, 2011). I en annan studie (Nunamaker *et al.*, 2014) behövde 2 av 20 hundar extra smärtlindring efter ovariehysterektomi trots plasmanivåer över 2 ng/ml. Hundarna hade administrerats antingen 0,02 mg/kg buprenorfin var 12:e timme eller 0,2 mg/kg buprenorfin med långsam frisättning (slow release buprenorphine, SRB). En hund behövde extra smärtlindring 1–2 h efter buprenorfin administration (plasmakoncentration 2,08 ng/ml), en annan 14 h efter SRB administration (plasmakoncentration 2,26 ng/ml). Övriga hundar hade vid dessa tillfällen plasmanivåer över 2 ng/ml.

Studier av SC administrering av högkoncentrerat buprenorfin till katt som utsattes för nociceptiv smärta (Taylor *et al.*, 2016) visade att plasmakoncentrationer associerade med maximal antinociceptiv effekt var 1,01–1,72 ng/ml efter 0,02 mg/kg, 1,4–4,9 ng/ml efter 0,06 mg/kg, 4,6–51,4 ng/ml efter 0,12 mg/kg och 5,3–22,3 ng/ml efter 0,24 mg/kg. Medelvärdet för plasmakoncentration av buprenorfin då den analgetiska effekten avtog var $2,3 \pm 2$ ng/ml. Som smärtstimulus användes värme på katternas rakade bröstorg.

Hos kanin har en SC injektion av buprenorfin 0,03 mg/kg visat ge analgesi i 8–10 h (Wotton *et al.*, 1988). En annan studie (Flecknell & Liles, 1990) visade att IV injektion av buprenorfin 0,0075 mg/kg ger analgesi i upp till 2,5 h, 0,03 mg/kg ger analgesi i 11 h och 0,3 mg/kg ger analgesi i över 13 h. Ökad dos buprenorfin gav liten effekt på maximal analgesi men däremot en tydlig längre duration. I bägge studierna framkallades en värmestimulus med en typ av analgesiometer som skapar ett centrerat infrarött hett ljus, vilket riktas mot rakad del av kaninens rygg och avbryts när huden rycker till.

Det har gjorts ett fåtal kliniska smärtstudier med SC administrering av buprenorfin till kanin. Weaver *et al.* (2010) studerade postoperativ smärtlindring av 20 honkaniner som genomgått ovariehysterektomi. Kaninerna smärtlindrades antingen med 0,02 mg/kg buprenorfin SC var 12:e timme i 3 dagar, ett fentanylplåster (25 µg) som applicerats 24 timmar innan operation, en SC injektion med 1 mg/kg ketoprofen var 24:e timme i 3 dagar eller ingen smärtlindring alls. Kaninerna studerades avseende foder och vätskekonsumtion, avföring, rörelse och beteende. Alla kaninerna visade minskad aptit och minskad vilja att röra sig efter operation. Ingen signifikant skillnad sågs mellan de kaniner som inte fått någon smärtlindring och de kaninerna som fått buprenorfin, fentanyl eller ketoprofen.

Goldschlager *et al.* (2013) använde 39, 2–3 mån NZW hankaniner i en studie om arterioskleros. Efter ett kirurgiskt ingrepp i femoralartären smärtlindrades kaninerna antingen med buprenorfin 0,03 mg/kg SC var 12:e timme i 3 dagar, meloxicam 0,2 mg/kg SC var 24:e timme i 3 dagar, buprenorfin 0,01 mg/kg och meloxicam 0,1 mg/kg SC var 24:e timme i 3 dagar eller en dos 0,5 % bupivacain 0,5 ml lokal infiltration vid incisionen. Avföring analyserades för fekala kortikosteron-metaboliter. Alla kaniner utom de som fått buprenorfin + meloxicam hade förhöjda nivåer av fekala kortikosteron-metaboliter som ökade till dag 7, normaliserade dag 28. Kaninerna som fått buprenorfin + meloxicam fick förhöjda nivåer först efter avslutad behandling. Samtliga kaniner hade minskad foderkonsumtion och avföring en vecka postoperativt, åter till

det normala efter två veckor. Alla kaninerna minskade i vikt efter operationen men buprenorfin + meloxicam gruppen minskade minst i vikt och gick sedan upp mest i vikt innan studien avslutades på dag 28 efter operation (0,35 kg mot 0,1 kg). Denna studie visar att hos kaniner mildrar lågdos buprenorfin, administrerat med meloxicam, effektivt andelen fekala kortikosteron-metaboliter som utvecklas efter operation utan de negativa effekterna i samband med högre doser.

Cooper *et al.* (2009) gjorde en studie på 30 holländska honkaniner där skillnaden i gastrointestinala biverkningar jämfördes mellan buprenorfin 0,03 mg/kg IM var 12:e timme i 48 timmar, meloxicam 0,2 mg/kg SC var 24:e timme i 48 timmar och bupivacain 0,5 % 0,5 ml lokal infiltration vid incisionen som postoperativ smärtlindring efter ovariehysterektomi. I gruppen som fått bupivacain drabbades 4 av 10 kaniner av ileus efter operationen och hela gruppen behandlades med clopramid. Samtliga kaniner hade minskad foderkonsumtion en vecka postoperativt men de meloxicambehandlade återgick snabbare till normal foderkonsumtion och ökade avföringsproduktionen snabbare. Ingen signifikant skillnad i foderkonsumtion och avföringsproduktion sågs mellan kaninerna i grupperna som behandlats med buprenorfin och meloxicam.

DiVincenzi *et al.* (2016) undersökte den kliniska effekten av en buprenorfinlösning med fördröjd frisättning jämfört med vanlig buprenorfin vid SC administrering till 24 NZW hankaniner. Kaninerna användes i en kirurgisk studie där implantat i titan sattes in i tibia. Preoperativt påbörjades medicinerings med antingen buprenorfin 0,02 mg/kg SC som följdes upp var 12:e timme i 3 dagar, eller buprenorfin med fördröjd frisättning 0,12 mg/kg SC. Kaninernas smärtreaktioner studerades under 7 dagar. Inga signifikanta skillnader sågs i ”grimace scale” (Keating *et al.*, 2012) eller ”activity score” mellan grupperna, undantaget att 3 av 12 kaniner som fått vanlig buprenorfin visade tecken på måttlig smärta när nästa dos skulle ges. Ingen av kaninerna drabbades av några allvarliga negativa bieffekter. Författarna drog slutsatsen att buprenorfinlösning med fördröjd frisättning administrerad SC 0,12 mg/kg var minst lika effektiv som vanlig buprenorfin som smärtstillande efter ortopedisk kirurgi och utan större biverkningar.

Hedenqvist *et al.* (2016) studerade smärta efter administrering av enbart buprenorfin 0,05 mg/kg SC eller i kombination med carprofen 5 mg/kg SC till kaniner efter ett ingrepp i maxilla. Ingen skillnad i *pain face scoring* syntes mellan grupperna och ingen skillnad före och 1h efter administrering av analgetika. Resultaten tydde på att doserna var för låga, administreringsvägen ineffektiv eller smärtskattningen för okänslig.

Farmakokinetiska egenskaper

De farmakokinetiska egenskaperna hos buprenorfin är ännu inte särskilt studerade på kanin men däremot på flera andra djurslag, som råtta, hund, människa och mus (Yu *et al.*, 2006). Vissa uppgifter finns dock från tidigare studier på kanin:

Freijs (2016) jämförde oral transmukosal (OTM) administrering av buprenorfin 0,15 mg/kg med SC administrering av buprenorfin 0,05 mg/kg hos 18 NZW kaniner efter ortopedisk kirurgi. Plasmanivåer uppmättes och postoperativ smärta bedömdes med hjälp av en skala baserad på ansiktsuttryck, Rabbit Grimace Scale (Keating *et al.*, 2012) och subjektiv poängsättning av

smärtan. Median (min-max) halveringstid efter SC administration var 50 (22–139) min och median AUC var 337 (73–657) ng*h/ml. Studien visade att OTM-administrering av buprenorfin var svår att genomföra och gav signifikant lägre plasmakoncentrationer än SC administrering, trots en tre gånger högre dos. Subkutan administrering gav väldigt varierade plasmakoncentrationer, som inte korrelerade med smärtpoängen. Slutsatsen drogs att plasmakoncentrationen troligen inte är ett bra mått på smärtlindrande effekt efter engångsadministrering.

Thern (2018) jämförde plasmahalter av buprenorfin efter IV och peroral (PO) administration av buprenorfin till 6 NZW honkaniner och den orala biotillgängligheten beräknades. Intravenöst gavs en dos på 0,05 mg/kg och PO 0,5 mg/kg. Halveringstiden efter IV administration var 143 ± 35 min (medel \pm SD) och AUC 732 ± 249 ng*h/ml. Peroral tillförsel gav låga plasmakoncentrationer jämfört med IV administration trots att dosen var 10 ggr så hög. Biotillgängligheten beräknades till 3 %. Peroral administrering var krånglig pga. en stor volym och mycket spill. Slutsats var att PO administrering inte kan rekommenderas.

Dessa studier ger misstankar om att biotillgängligheten vid SC administration av buprenorfin kan vara låg.

Studiens syfte

Att fastställa biotillgängligheten för buprenorfin hos kanin vid SC administrering och jämföra serumkoncentrationer över tid efter två olika SC doser.

MATERIAL OCH METODER

Kaniner

Till studien användes tio 4–5 månader gamla kaniner av rasen New Zealand White (NZW). Fem hanar och fem honor inköptes från Linköpings kaninfarm¹. Kaninerna hölls i boxar på 3 m², honorna i par respektive trio och hanarna enskilt. Boxarna var strödda med spån, autoklaverad halm och ett hus att gömma sig i och sitta på. Kaninerna utfodrades med pellets (K1 special, Lantmännen lantbruk, Stockholm) samt hade fri tillgång till autoklaverat hö och vatten. Innan studien inleddes acklimatiserades kaninerna under två veckor genom att projektdeltagarna turades om att spendera 15 min/dag i varje box, erbjöd bitar av färsk frukt, samt efter hand hanterade och vägde kaninerna.

Studiedesign

Studien var en randomiserad crossover-studie vilket innebär att varje kanin injicerades med 0,05 mg/kg buprenorfin IV och SC (låg), samt 0,1 mg/kg SC (hög), i randomiserad ordning.

¹ 2018-08-27 SVA. Id U180705-0316 Kaninbesättning fri från: CAR-bacillus, Pneumocystis, Salmonella, Rotavirus, Bordetella bronchiseptica, Pasteurella multocida, Ectoparasiter, Encephalitozoon cuniculi, Clostridium piliforme, RHDV. Låga nivåer av endoparasiter av Flagellata sp.

Studien utfördes under sex veckor med två veckors ”wash out” mellan varje administrerings-tillfälle.

Försöksdagar

Kaninerna genomgick klinisk undersökning, vägdes och lokalbedövades på öronen med lokalbedövningskräm (EMLA®, kräm, lidokain 25 mg/g + prilokain 25 mg/g, AstraZeneca, Södertälje, Sverige) som fick verka i 30 min. En artärkateter placerades i den centrala öronartären (Venflon, blå 22GA, 0,8x25 mm, BDIT AB, Helsingborg, Sverige) och 2 ml blod samlades i ett serumrör (0-prov). Första försöksdagen samlades även 2 ml i ett EDTA-rör för hematologi. Inför IV-injektion placerades även en venkateter av samma typ och storlek i andra örats randven. Efter varje provtagning spolades artärkatetern med 2 ml NaCl (Natriumklorid B. Braun, infusionsvätska, 9 mg/ml, B. Braun, Danderyd, Sverige) och därefter deponerades 0,1 ml koksalt med 100 IE heparin/ml (Heparin LEO 5000 IE/ml, LEO Pharma, Malmö, Sverige) i katetern. Varje kanin försågs med en plastkrage och placerades i en bur (Type EC3 cage, Scanbur, Karlslunde, Danmark) med tillgång till pelleterat foder, hö och vatten under försöksdagen.

Kaninerna injicerades med buprenorfin (Vetergesic® Vet, 0,3 mg/ml, Orion Pharma Animal Health, Sollentuna, Sverige) och 2 ml blod samlades i serumrör efter 2 (endast IV), 5, 10, 15, 30, 60, 90, 180, 360 och 480 min. Maximal blodvolym som togs var 7 ml/kg vid varje försöksdag. Om volymen riskerade att överskridas, ströks något av provtagningstillfällena. Före varje provtagning kasserades 0,2 ml blod. Efter sista provtagning avlägsnades katetrarna och en kompress pressades mot kärlet tills blödningen avstannat. Kaninerna administrerades 4 mg/kg carprofen (Norocarp vet, 50 mg/ml, N-Vet AB, Uppsala, Sverige) SC för smärtlindring och släpptes tillbaka till sina boxar.

Hantering och analys av prover

Efter provtagning fick serumrören stå i minst 60 min för att sedan centrifugeras och serum separeras. Serum frysförvarades i minus 80 grader C. Analys av proverna utfördes på Sveriges veterinärmedicinska anstalt (SVA) där buprenorfin-koncentrationen mättes med ultrahög-prestandavätskekromatografi-tandemmasspektrometri.

Bearbetning av data

Alla uppgifter från provtagningar och analyser lades in i Microsoft Excel. Tid vid maximal koncentration (T_{max}), högsta uppmätta koncentration (C_{max}), halveringstid ($T_{1/2}$) och area under tid-koncentrationkurvan (AUC) beräknades för varje administrationsväg med programmet Add-in PK-Solver. Biotillgängligheten beräknades genom förhållandet mellan AUC för IV och SC låg resp. hög med formeln:

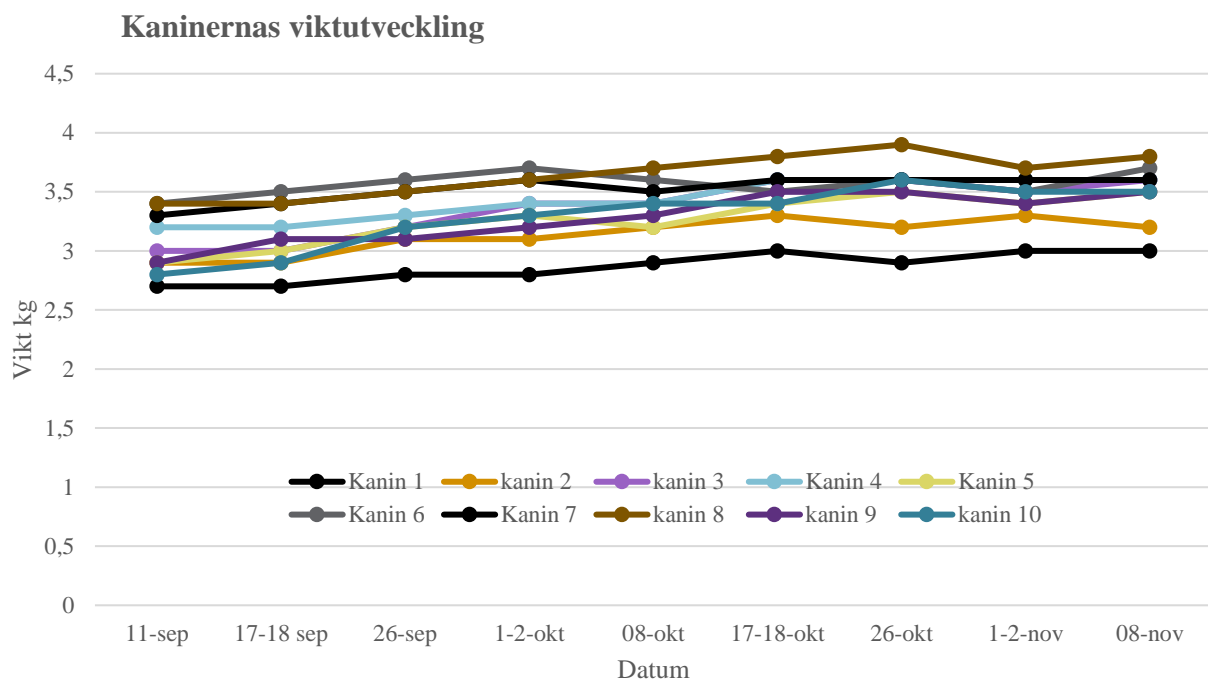
$$\text{Biotillgänglighet (F)} = \text{DOS}_{IV} \times \text{AUC}_{SC} / \text{DOS}_{SC} \times \text{AUC}_{IV}$$

Data analyserades med två-vägs-ANOVA med administreringsväg och kön som oberoende faktorer, djur och administrationsdag som block och kroppsvikt som co-faktor. Signifikansgränsen sattes till $p < 0,05$.

RESULTAT

Hälsostatus och vikt

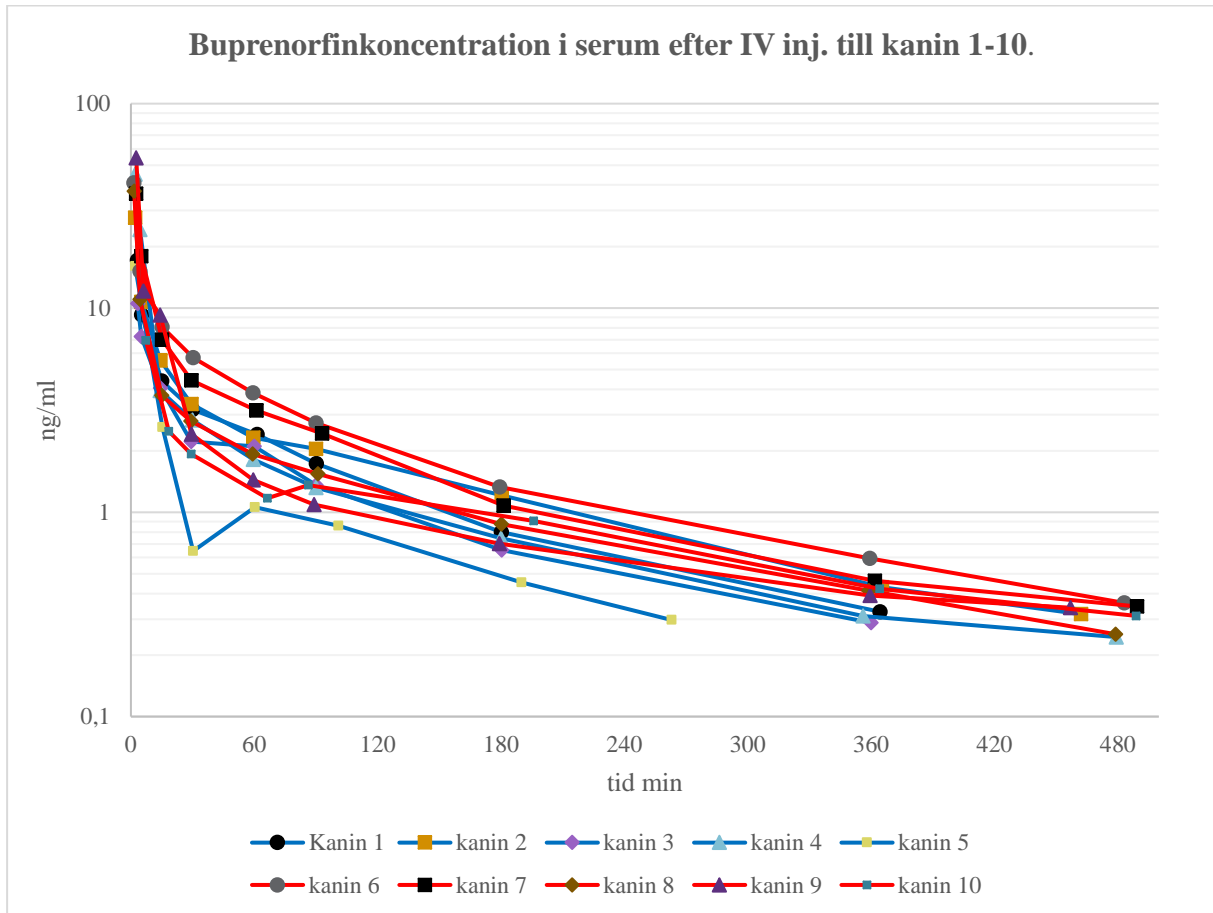
Alla kaninerna var kliniskt friska och den hematologiska undersökningen utan anmärkning. Ingen av kaninerna visade några tecken på negativ påverkan av hantering och blodprovstagningar. Alla kaninerna ökade i vikt, i genomsnitt med 15 % under studien. Honornas och hanarnas medelvikt i början av studien var 3,16 resp. 2,94 kg ($p = 0,03$) och när studien avslutades 3,63 resp. 3,38 kg ($p = 0,046$). Kaninerna ökade lika mycket i vikt (0,44 kg för hanarna, 0,46 kg för honorna, ($p = 0,85$)).



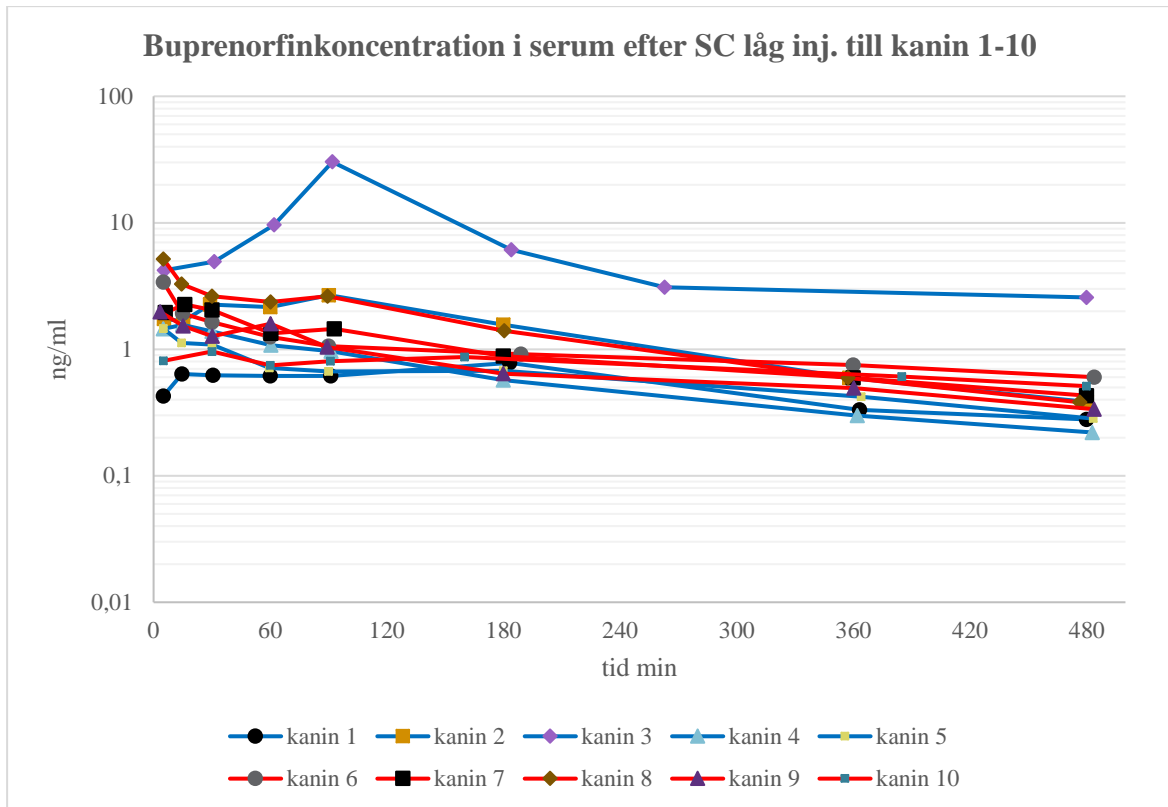
Figur 1. Kaninernas viktökning under studien. Kaninerna hade en genomsnittlig viktökning med 15 % (9–25 %). Kanin 1–5 var hanar, 6–10 honor.

Buprenorfinhalter i serum

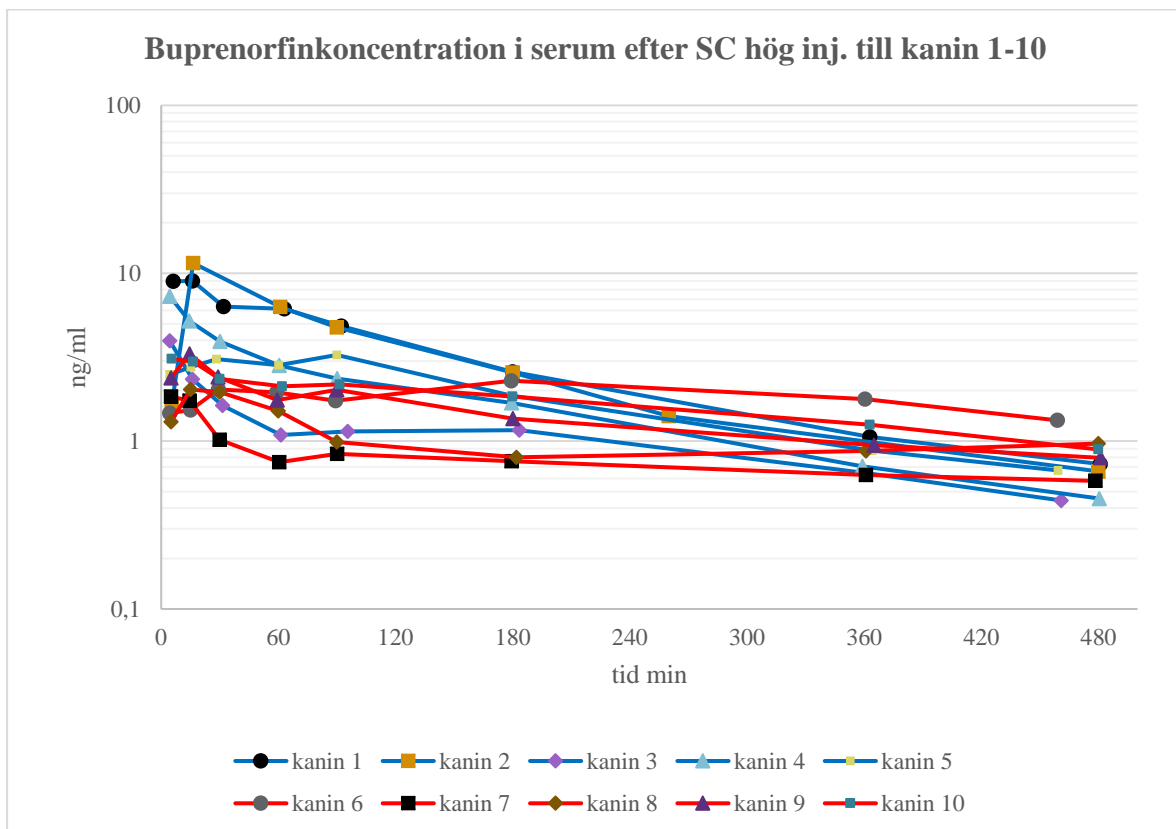
Buprenorfinhalten i serum över tid för varje individ framgår av figur 2–4. Medelkoncentrationerna över tid framgår av figur 5 och figur 6 visar medelkoncentrationerna uppdelat i hanar och honor.



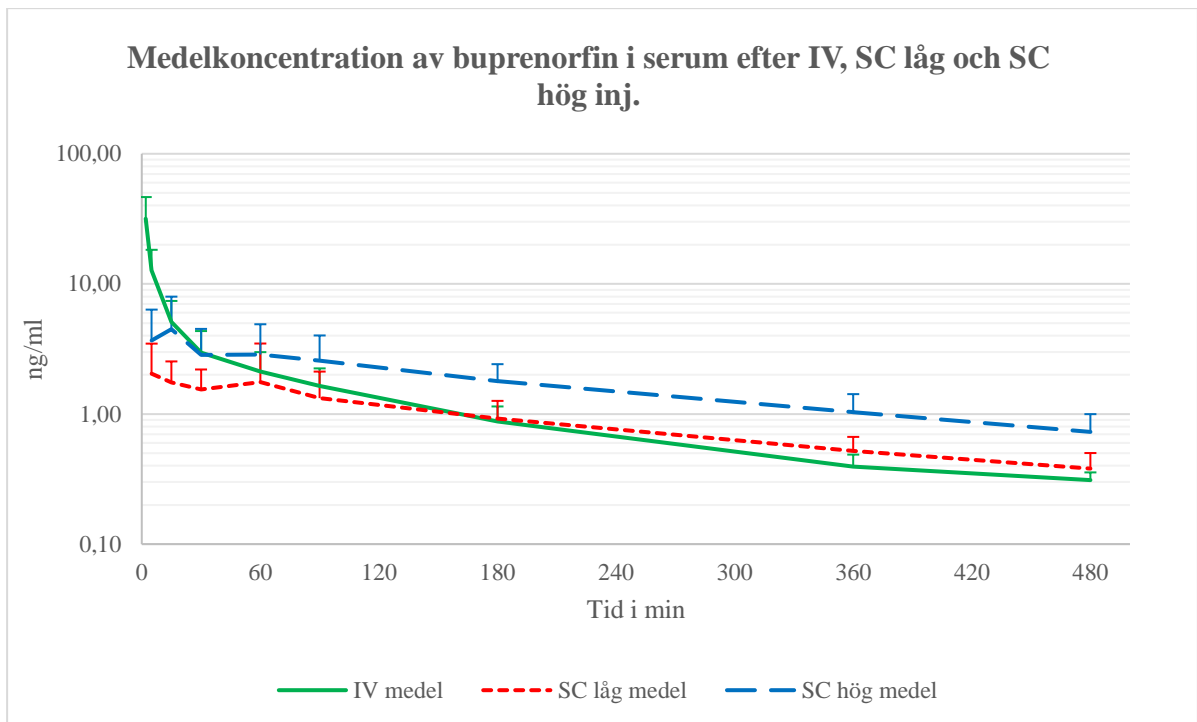
Figur 2. Buprenorfinhalten i serum efter IV injektion av 0,05 mg buprenorfin. Kanin 1–5 är hanar och 6–10 är honor.



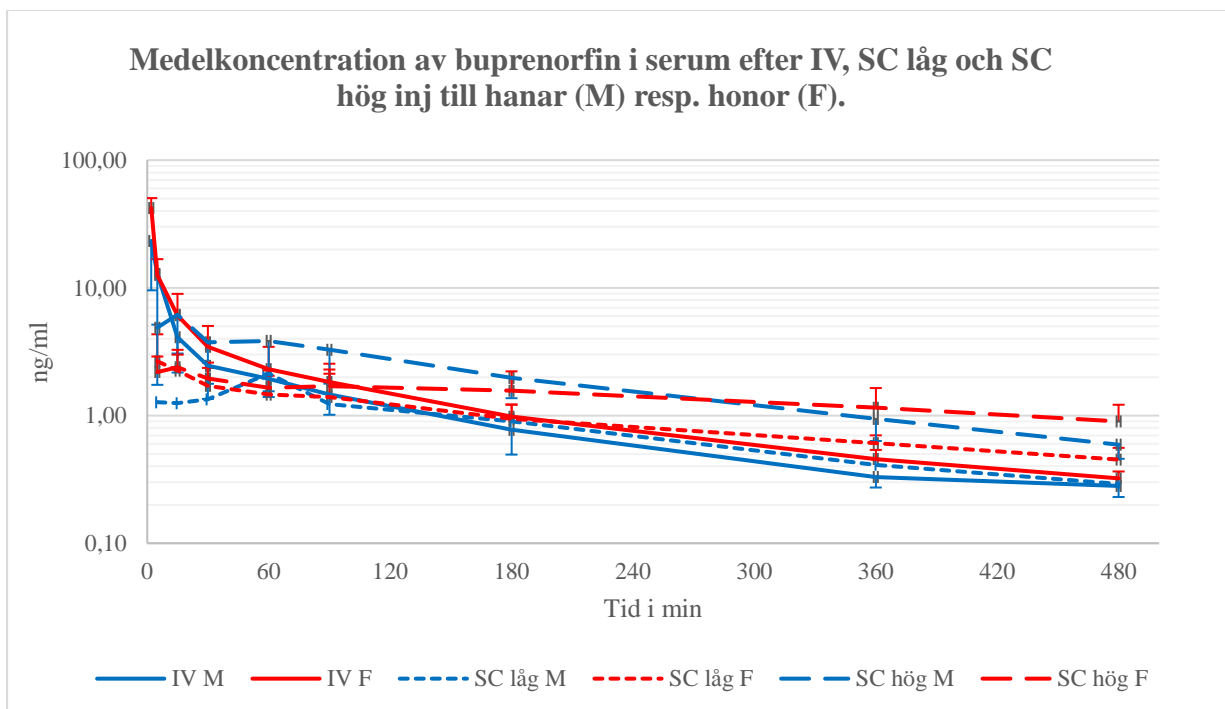
Figur 3. Buprenorfinkoncentration i ng/ml i serum efter SC injektion av 0,05 mg buprenorfin. Kanin nr 3 uteslöts ur beräkningar pga kraftigt avvikande värden. Kanin 1–5 är hanar och 6–10 är honor.



Figur 4. Buprenorfinkoncentration i ng/ml i serum efter SC injektion av 0,1 mg buprenorfin. Kanin 1–5 är hanar och 6–10 är honor.



Figur 5. Medelvärden och standardavvikelser av buprenorfinkoncentrationer i ng/ml i serum efter SC injektion av 0,05 resp. 0,1 mg buprenorfin samt IV injektion av 0,05 mg buprenorfin till tio kaniner, fem honor och fem hanar, undantaget SC låg där fyra hanar användes.




Figur 6. Medelvärden och standardavvikelser av buprenorfinkoncentrationer i ng/ml i serum hos honor resp. hanar efter SC injektion av 0,05 resp. 0,1 mg buprenorfin samt IV injektion av 0,05 mg buprenorfin. Det ingår totalt tio kaniner, fem honor och fem hanar, undantaget SC låg där fyra hanar användes.

Farmakokinetiska parametrar


De farmakokinetiska parametrarna framgår av tabell 1 och 2 och figur 6 och 7.

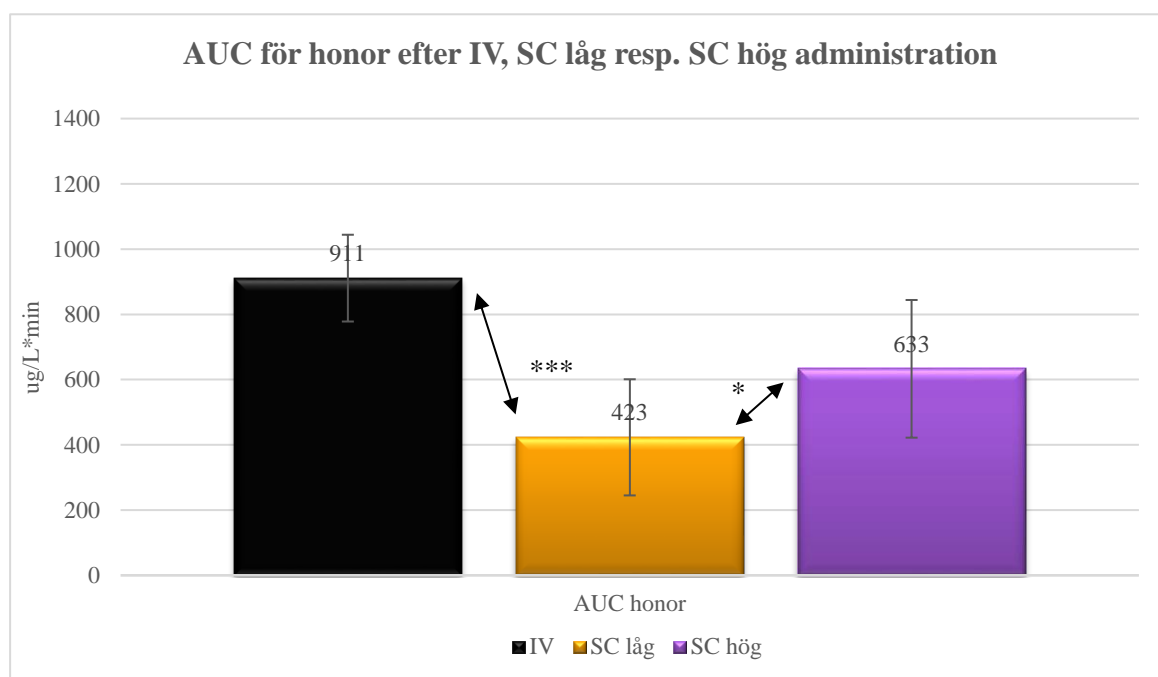
Administrationsvägen hade en signifikant effekt på alla parametrar, som varierade mellan kön. AUC var signifikant lägre för SC låg än för IV för honor (423 ± 149 resp. 911 ± 161 $\mu\text{g/L} \cdot \text{min}$, $p < 0,001$) och även för hanar (366 ± 178 resp. 667 ± 133 , $p = 0,01$). AUC för SC låg var även signifikant lägre än för SC hög för honor (633 ± 211 , $p = 0,015$) och hanar (958 ± 387 , $p < 0,001$). Biotillgängligheten var signifikant lägre för SC låg än för SC hög för hanar (53 ± 22 resp. 71 ± 23 %, $p = 0,008$) men inte för honor (48 ± 21 resp. 36 ± 14 %, $p = 0,6$). C_{max} var lägre för SC låg än för SC hög för hanar (2 ± 1 resp. 8 ± 3 ng/ml, $p < 0,001$) men inte för honor (3 ± 2 resp. 3 ± 1 ng/ml, $p = 0,15$). $T_{1/2}$ var signifikant lägre för IV än för SC låg för både honor (160 ± 30 resp. 315 ± 125 , $p < 0,001$) och hanar (123 ± 18 , resp. 129 ± 33 , $p = 0,004$).

Tabell 1. Medelvärden för farmakokinetiska parametrar för honor ($n=5$) efter administration av buprenorfin IV 0,05 mg/kg, SC 0,05 mg/kg (SC låg) och SC 0,1 mg/kg (SC hög). Biotillgänglighet (F) = $DOS_{IV} \times AUC_{SC} / DOS_{SC} \times AUC_{IV}$. Variationskoefficient (CV) = $(sd / \text{medelvärde}) \times 100$. Not applicable (n.a.)

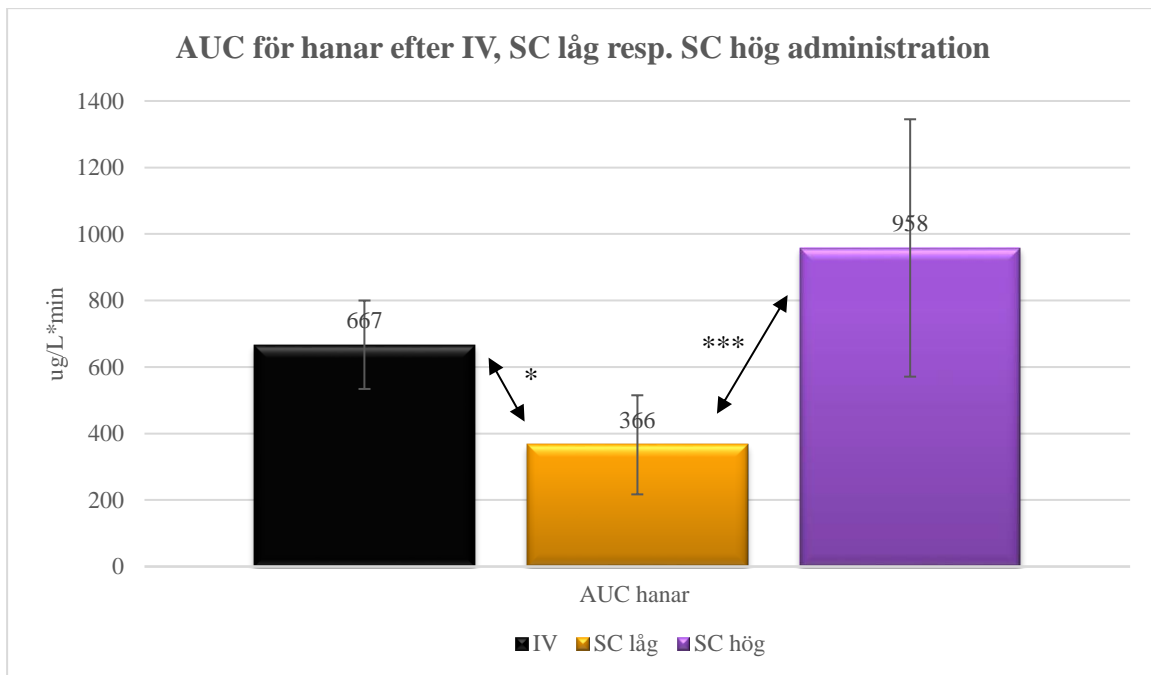
	IV	SC låg	SC hög	Enhet	P
	medel (SD)	medel (SD)	medel (SD)		
C_{max}	n.a.	3 (2)	3 (1)	ng/ml	
T_{max}	n.a.	10 (10)	44 (68)	min	
T_{1/2}	160 (30)*	315 (125)*	447 (143)	min	IV-SC L <0,001
AUC_{0-t}	911 (161)*	423 (149)*	633 (211)*	ng/ml*min	IV-SC L <0,001 SC H-SC L 0,02
F (AUC_{0-t})	n.a.	48 (21)	36 (14)	%	
CV (AUC_{0-t})	18	35	33	%	

Tabell 2. Medelvärden för farmakokinetiska parametrar för hanar (n=5) efter administration av buprenorfin IV 0,05 mg/kg, SC 0,05 mg/kg (SC låg) och SC 0,1 mg/kg (SC hög). Biotillgänglighet (F) = $DOS_{IV} \times AUC_{SC} / DOS_{SC} \times AUC_{IV}$. Variationskoefficient (CV) = $(sd / \text{medelvärde}) \times 100$. Not applicable (n.a.)

	IV	SC låg	SC hög	Enhet	P
	medel (SD)	medel (SD)	medel (SD)		
C_{max}	n.a.	2 (1)*	8 (3)*	ng/ml	<0,001
T_{max}	n.a.	76 (69)	32 (34)	min	
T_{1/2}	123 (18)*	192 (33)*	153 (22)	min	IV-SC L 0,004
AUC_{0-t}	667 (133)*	366 (178)*	958 (387)*	ng/ml*min	IV-SC L 0,01 SC H-SC L <0,001
F (AUC_{0-t})	n.a.	53 (22)*	71 (23)*	%	SC H-SC L 0,008
CV (AUC_{0-t})	20	49	40	%	



Figur 7. Medelvärden för AUC_{0-t} för fem kaninhonor efter IV, SC låg och SC hög administration av buprenorfin. * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$



Figur 8. Medelvärden för AUC_{0-t} för fyra kaninhanar efter IV, SC låg och SC hög administration av buprenorfin. $*$ = $p < 0,05$, $**$ = $p < 0,01$, $***$ = $p < 0,001$

DISKUSSION

Biotillgänglighet

Studien visar att biotillgängligheten efter subkutan administrering av buprenorfin till kanin varierar mellan 36 och 71 % beroende av kön och dos. Biotillgängligheten var lägre för honor och halveringstiden längre. Totalt resulterade det i en lägre AUC för honor efter SC än efter IV administrering av samma dos. Vikten hade inte någon effekt på serumkoncentrationerna, vilket tyder på att könsskillnaden inte beror på skillnad i vikt. Honorna har dock mer fett kring halsen, vilket kan ha påverkat upptaget.

Serumkoncentrationerna av buprenorfin varierade kraftigt mellan individer oavsett administrationsväg och dos. Administrering av samma dos buprenorfin gav lägre serumkoncentrationer efter SC än IV administrering under de första 90 min. En dubbelt så hög SC dos gav lägre serumkoncentrationer än IV under de första 15 min och dubbelt så hög efter 90 min.

I aktuell studie varierar T_{max} och $T_{1/2}$ kraftigt mellan kaninerna efter SC administrering, vilket gör det svårt att förutsäga hur snabbt önskad buprenorfinkoncentration uppnås i blodet och hur länge läkemedlet finns kvar i cirkulationen. Jämförbara resultat kan ses i studier på katt där SC administrering av 0,02 mg/kg buprenorfin gav ett mycket lägre upptag och lägre analgetisk effekt än IM och IV administrering av samma dos (Steagall *et al.*, 2013; Steagall *et al.*, 2007; Robertson *et al.*, 2003; 2005; Giordano *et al.*, 2010). Steagall *et al.* (2013) utförde en farmakokinetisk studie där SC administrering av buprenorfin 0,02 mg/kg gav så stora skillnader i plasmakoncentrationerna och oberäknelig absorption, med flera olika toppar, att en farmakokinetisk beräkning inte kunde utföras. I den aktuella studien utgick en av 10 kaniner vid beräkningen av $T_{1/2}$ efter SC hög eftersom den saknade eliminationsfas. Serumkoncentrationerna minskade från 15 till 180 min för att sedan öka igen. Detta fenomen brukar kallas ”flip flop”, absorptionen efter SC administration är så långsam att den påverkar $T_{1/2}$, i detta fall till den grad att den inte går att bestämma. Den ökande koncentrationen skulle kunna förklaras med att injektatet hamnat i en fettdepå och därifrån absorberats långsamt. Kaninen var den tyngsta av alla och kan ha haft tjockare underhudsfett i nacken där läkemedlet injicerades.

Förutom dosen buprenorfin, har även buprenorfinlösningens koncentration visats sig kunna påverka medlets smärtstillande effekt. I den aktuella studien användes Vetergesic®. I studien av Steagall *et al.* (2013) användes Temgesic® Bägge läkemedlen innehåller buprenorfinhydroklorid i en koncentration av 0.3 mg buprenorfin per ml.

Medel med högre koncentrationer utvärderades i en farmakokinetisk studie av SC administrering av buprenorfin av olika koncentrationer, upp till 1,2 mg/ml, till katt (Taylor *et al.*, 2016). Studien visade att en SC administrering av doserna 0,12 och 0,24 mg/kg bägge gav en minskad smärtekänslighet för värme från 1–30 h efter injektion. SC administration av 0,02 mg/kg till katt gav minskad smärtekänslighet för värme från 3–6 h efter injektion. Taylor *et al.* kom fram till att buprenorfinformuleringar med hög koncentration administrerade vid 0,12 eller 0,24 mg/kg kunde ha potential för klinisk användning hos katter, vilket ger långvarig antinocception i en enda subkutan injektion med minimal dosvolym.

I en senare studie av Doodnaught *et al.* (2017) användes ett sådant högkoncentrerat preparat, Simbadol®, innehållande buprenorfin i en koncentration av 1,8 mg/ml. En dos på 0,24 mg/kg administrerades SC till katt och visade då en biotillgänglighet på 94 %. Analgesi (vid nociceptiv värme) kunde påvisas i över 24 h efter SC administrering. Efter IV administrering av 0,12 mg/kg varade den ökade smärttåligheten i 8 h. Rekommenderad dos för Simbadol SC till katt ligger på 0,24 mg/kg, en gång per dygn i upp till tre dygn vilket kan jämföras med motsvarande rekommendationer i FASS för Vetergesic IV eller IM till katt (0,01 – 0,02 mg/kg).

När buprenorfin ges i en sex gånger högre koncentration och i en 12 gånger högre dos SC än standard till katt, uppnås alltså en mycket hög biotillgänglighet. I den föreliggande studien sågs en tendens till liknande doseffekt på hankaninerna; med dubbel dos ökade biotillgängligheten från 53 till 71 %.

Studierna av Doodnaught *et al.* (2017) och Taylor *et al.* (2016) har medfört att det till katt införts behandling med högre doser buprenorfin än vad som tidigare rekommenderades. Det skulle vara värdefullt att genomföra liknande studier på kanin för att utvärdera om motsvarande förhållanden även gäller för dem. Högre koncentration av buprenorfin har potential att kunna öka djurvälståndet för kaniner genom den mindre injektionsvolymen, om det kan visas ge samma eller bättre resultat. Studierna ovan antyder att man därvid även kan uppnå längre duration.

Anledningen till den lägre analgetiska effekten efter SC jämfört med IV administrering av samma dos, skulle kunna vara att SC administrering har ett långsamt upptag som initialt ger lägre nivåer i blodet och därmed inte leder till tillräcklig koncentration i CNS för att läkemedlet ska kunna binda så många opioidreceptorer som krävs för att ge fullgod effekt. En del av läkemedlet kan hinna metaboliseras i levern innan det tar sig över blod-hjärnbarriären, vilket också leder till lägre koncentration i CNS. Om däremot tillräckliga nivåer i CNS redan uppnåtts via en tidigare dosering IM eller IV kan troligen SC administrering räcka för att underhålla en analgetisk effekt. Vid administrationssätt med snabbt upptag som IV administrering fås initialt en hög koncentrationsgradient och läkemedlet kan snabbt diffundera över blod-hjärnbarriären och binda till opioidreceptorer i CNS, vilket ger en kortare tid till insättande av analgetisk effekt (Steagall *et al.*, 2013). Fördelar som däremot kan ses med SC administrering jämfört med IV är den ökade durationen som gör att läkemedlet kan ges med länge tidsintervall och även möjligheten att slippa de initiala höga nivåerna ex. till en patient som har befarat ökad känslighet för opioider.

En studie av Wootton *et al.* (1988) visade att SC injektion av buprenorfin 0.03 mg/kg till kanin gav analgesi i 8–10 h om en analgesiometer används för att framkalla smärta. I flera andra studier (Weaver *et al.*, 2010; Goldschlager *et al.*, 2013; DiVincenti Jr *et al.*, 2016) har en dosering på 0.02–0.03 mg/kg av SC administrerat buprenorfin använts för postoperativ smärtlindring med varierande effekt (se litteraturöversikt). I dessa studier jämfördes buprenorfin med andra läkemedel för postoperativ smärtlindring. I alla dessa studier visar kaninerna tecken på smärta efter operation i form av minskat foderintag, viktnedgång och ovilja att röra sig trots behandling med analgetika. Buprenorfin gavs i dessa studier var 12:e timme men borde förmodligen ha getts oftare, eftersom samma dos SC visat sig ha effekt i ca 8–10 h (Wootton *et al.*, 1988). Möjligen är dosen på 0.02–0.03 mg/kg för låg för att ge tillräcklig smärtlindring om

den ges SC efter operativa ingrepp. Detta bekräftas av studien av Hedenqvist *et al.* (2016), där kaniner smärtlindrades efter ortopedisk kirurgi med SC administrering av buprenorfin 0.05 mg/kg i kombination med carprofen 5 mg/kg SC, men fortfarande hade höga smärtpoäng. Inga mätningar av buprenorfin-koncentration i serum gjordes i dessa studier och fler studier behövs för att veta om dessa SC doser ger adekvat smärtlindring eller om de bör höjas precis som hos katt.

En studie av Ko *et al.* (2011) smärtlindrades hundar med buprenorfin efter ovariehysterektomi och det framgick att en plasmakoncentration över 0,6 ng/ml krävdes för fullgod analgetisk effekt. I en annan studie av Nunamaker *et al.* (2014), där också buprenorfin användes som analgetika, behövde 2 av 20 hundar extra smärtlindring efter ovariehysterektomi trots plasmanivåer över 2 ng/ml. Studien av Taylor *et al.* (2016) med SC administrering av högkoncentrerat buprenorfin till katt som utsattes för nociceptiv smärta visade att medelvärdet för plasmakoncentration av buprenorfin då den analgetiska effekten avtog var $2,3 \pm 2$ ng/ml. Utifrån ovanstående studier skulle en hypotetisk plasmanivå då god smärtlindring uppnås hos merparten av individerna kunna vara 2 ng/ml. I aktuell studie på kanin uppmättes hos bägge könen serumnivåer över 2 ng/ml i ca 60 min efter IV administration av 0,05 mg/kg. Efter administration av 0,05 mg/kg SC uppmättes hos bägge könen serumnivåer som bara precis översteg 2 ng/ml men ej varaktigt. Efter administration med 0,1 mg/kg SC uppmättes hos hanarna serumnivåer över 2 ng/ml i nästan 180 min och hos honorna i knappt 30 min. Detta kan relateras till studien av Hedenqvist *et al.* (2016), där SC administrering av buprenorfin 0.05 mg/kg i kombination med eller utan carprofen 5 mg/kg SC, efter ortopedisk kirurgi, fortfarande gav höga smärtpoäng (4,8 av 8).

Vad kan påverka biotillgängligheten vid en SC injektion?

I studien varierar de uppmätta nivåerna av buprenorfin i serum mycket mellan individer efter både IV och SC administrering, vilket också sågs i studien av Freijs (2016). En trolig orsak till skillnader efter SC administrering är hur bra läkemedlet tas upp i cirkulationen. När ett läkemedel injiceras subkutant sprider det sig i vävnaden enligt minsta motståndets lag och bildar därmed en icke sfärisk deposition, dvs. lösningen lägger sig inte som en rund ansamling utan sprider ut sig lokalt i vävnaden. (Jockel *et al.*, 2013). För att nå den systemiska cirkulationen måste lösningen tas upp i kapillärer eller lymfkärl via diffusion eller konvektivt flöde, en typ av värmetransport som uppstår då temperaturskillnader ger olika densitet och därmed skapar rörelse. Den subkutana vävnaden är uppbyggd i två lager; överst lucker bindväv och underst fettvävnad. Vävnaden genomkorsas av kapillärer för näringstillförsel och nervfibrer som innerverar huden, samt små lymfkärl. Enligt Kinnunen *et al.* (2014) styrs den subkutana vävnadens fysiologiska och kemiska egenskaper framförallt av dess extracellulära matrix (ECM), den interstitiella vätskan, vävnadens temperatur samt dess hydrostatiska och osmotiska tryck. ECM är ett tredimensionellt nätverk uppbyggt av kollagen, glukosaminoglykaner framförallt hyaluronsyra och kondroitinsulfat. Den interstitiella vätskan finns fri i vävnaden och är inte bunden i blod eller celler. Vätskans pH hålls runt 7,4. Vävnadens tryck styrs av det hydrostatiska trycket, det kolloidosmotiska trycket och lymfvätskeflödet. Det hydrostatiska trycket är det som uppstår av den begränsade volym som utgör den subkutana vävnaden och det kolloidosmotiska trycket är trycket från plasmaproteinerna i de semipermeabla kapillärerna. Experimentella stu-

dier (Levick. 1987) har visat att beståndsdelarna i ECM, kollagen, hyaluronsyra och kondroitinsulfat kan ge ökad resistens i vävnaden vilket kan bromsa injektatets flöde. Möjligt är att denna ökade resistens skulle kunna bromsa upptaget av buprenorfin efter SC administrering.

Kroppens lymfsystem har en viktig roll i transporten av läkemedel från injektionsplatsen till cirkulationen. Lymfsystemet består av små lymfkärl som filtreras i lymfknutor, går samman i större lymfkärl och tömmer sig i *Vena cava*. Lymfkärlen har lägre tryck och långsammare flöde än kapillärerna och påverkas av muskel och kroppsaktivitet. Lymfsystemet är mer utvecklat i den subkutana vävnaden än i muskulaturen därför sker upptag till lymfsystemet i större utsträckning vid en SC injektion än vid en IM (Kinnunen *et al.*, 2014).

Flera studier har visat att injektion av ett läkemedel i det subkutana fettet ger ett långsammare och lägre upptag än en IM injektion. Studier på människor med injektion av diazepam har visat att när läkemedlet deponerades i det subkutana fettet absorberas det långsammare än när det deponeras i muskeln (Dundee *et al.*, 1974). Diazepam är precis som buprenorfin lipofilt.

En annan studie (Modderman *et al.*, 1983b: se Zuidema *et al.*, 1988) med läkemedlet Dapson (antibiotikum, 0,2 kDa) IM i *gluteus maximus* visade att kvinnor hade ett fördröjt upptag av substansen, fick lägre maximala nivåer i plasma och plasmakoncentrationerna kvarstod under en längre tid än på män. Läkemedlet hade troligtvis hamnat i det subkutana fettlagret på kvinnorna. Det långsamma och ibland ofullkomliga upptaget efter intraadipös (IA) injektion kan bero på sämre vaskularisering och begränsat blodflöde i den subkutana fettvävnaden. Zuidema *et al.* (1988) diskuterar i sin artikel att det subkutana fettlagret troligen har liknande sammansättning och därmed jämförbara fysiskt bromsande element, lipidlöslighet och proteinbindning, som icke-keratiniserad slemhinna ex. munslemhinna och vaginalslemhinna. Studier har visat att mycket hydrofila läkemedel absorberas dåligt sublinguellt och vaginalt, måttligt hydrofila läkemedel i lösning absorberas snabbt medan lipofila läkemedel i lösning ger en depåeffekt och absorberas under några timmar. Zuidema *et al.* (1988) ger förklaringen att måttligt hydrofila läkemedel transporteras genom intracellulära vätskan drivna av en koncentrationsgradient, medan lipofila läkemedel bromsas av absorption och adsorption till lipidstrukturer. Samma samband sågs i en studie av Kadir, (1992) då beta-blockerande läkemedel injicerades IM eller IA på gris och absorptionshastigheten uppmättes. Upptaget visade sig påverkas av hur lipofilt läkemedlet var. De hydrofila läkemedlen absorberades fortast (6 timmar IM och 24 timmar IA). Fettvävnad har högre bromsande effekt på lipofila än hydrofila komponenter och hydrofila läkemedel antas framförallt transporteras paracellulärt och når fortare cirkulationen än lipofila läkemedel som framförallt transporteras transcellulärt.

Utifrån dessa studier på människa och gris kan slutsatsen dras att det finns två troliga huvudsakliga orsaker till att buprenorfin efter SC administration tas upp långsammare och därmed ger lägre serumkoncentration och har längre effekt än IM och IV administrering; buprenorfinets lipofilitet och det subkutana fettlagret. Buprenorfin är ett mycket lipofilt läkemedel och vid en SC injektion kan det deponeras i fettet och bromsas av adsorption till lipidstrukturer. Har djuret ett tjockt subkutant fettlager på den plats där buprenorfin administreras riskerar upptaget gå långsammare och ge en lägre koncentration i blodet. Lipofiliteten borde även göra att buprenorfin transporteras transcellulärt, vilket ger en relativt långsam transport, jämfört med om det hade varit ett hydrofilt ämne som transporteras extracellulärt.

Studiens resultat relaterat till doseringsrekommendationer

I den aktuella studien kontrolleras för kön och det ses en tydlig skillnad i serumhalten hos hanar jämfört med honor vid samma dos buprenorfin. Om detta resultat kan dupliceras bör det bifogas till doseringsrekommendationer för administrering av buprenorfin till kanin med rådet att dosering och doseringsintervall bör anpassas efter kön.

I studien ses en tendens att serumkoncentrationen efter SC administrering av 0,05 mg/kg buprenorfin ligger nära 50 % av den som uppnås efter IV administrering av samma dos. Om detta samband kan verifieras även för andra doseringar skulle en tumregel kunna upprättas för val av dos beroende på önskad duration och hur ofta readministrering kan utföras.

Metabolismen av buprenorfin kan antas vara starkt kopplad till fettprocenten, detta med anledning av buprenorfinets lipofila egenskaper. Hypotetiskt sett kan därför effektskillnaden mellan behandling av normalviktiga och obesa patienter troligen vara större efter SC än efter IV administration. Detta medför att doseringsrekommendationerna för SC administration inte kan bli lika precisa som vid IV administration för obesa patienter.

KONKLUSION

Om resultaten i aktuell studie kan dupliceras bör dosering och doseringsintervall specificeras efter administrationsväg och kön. SC administrering kan påverkas av fettdepåer så om säker smärtlindring vill uppnås är intravenös administrering att föredra. Det vore värdefullt att utvärdera intramuskulär administrering som ett alternativ.

POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Kaninen är ett populärt djur för sällskap och forskning och det är angeläget att ge bra smärtlindring i samband med kirurgi för att upprätthålla god djurvårld. För att lindra smärta efter operation är opioiden buprenorfin ett mycket vanligt läkemedel. Buprenorfin har långvarig smärtlindrande och lugnande verkan och ökar även effekten hos många andra centralstimulerande läkemedel. Buprenorfin fungerar genom att binda till opioidreceptorer i hjärnan och aktivera dem, vilket minskar upplevelsen av smärta och gör individen trött och dåsig. Det finns flera olika opioidreceptorer och buprenorfin aktiverar en receptor (μ) och blockerar en annan (κ). Buprenorfin binder väldigt hårt till dessa receptorer och det tar lång tid innan den lossnar vilket tros vara orsaken till att buprenorfinets smärtlindrande effekt varar längre än många andra opioiders, ex. morfin. Buprenorfin ges oftast med en injektion under huden (subcutan, SC) eftersom det är enklare än att ge direkt i blodet (intravenöst, IV) och gör troligen mindre ont än om det ges i en muskel (intramuskulärt, IM). I nuläget är rekommendationen att samma dos av buprenorfin skall ges oavsett om det ges SC, IV eller IM, detta trots att det inte finns några studier på kanin som visar hur bra buprenorfin tas upp efter SC injektion. Däremot finns studier som tyder på att SC injektion inte alltid ger tillräckligt bra smärtlindring. Studier på katt har bekräftat att upptaget efter SC administrering av buprenorfin är mycket lägre och att den smärtlindrande effekten är lägre än efter IM och IV administrering av samma dos. Studierna har även visat på stora individuella skillnader i buprenorfin koncentrationer i blodet efter SC injektion. Upptaget är så osäkert att vissa i dagsläget avråder helt från SC administration av buprenorfin till katt.

Syftet med denna studie var att ta reda på hur bra buprenorfin tas upp i kroppen på kanin efter SC injektion, s.k. biotillgänglighet för buprenorfin. I studien användes tio 4–5 mån gamla New Zealand White kaniner, fem av vardera kön. Kaninerna hölls i 3 m² stora boxar med spån, halm och ett hus att gömma sig i och sitta på. Honorna hölls i par eller trio och hanarna ensamma då de annars riskerar hamna i slagsmål. Kaninerna utfodrades med pellets och hade fri tillgång till hö och vatten. Innan studien inleddes fick kaninerna under två veckor vänja sig vid sin nya miljö och vid personal och forskare genom att de klappades och lyftes upp. I studien injicerades varje kanin med 0,05 mg/kg buprenorfin IV och SC (låg), samt 0,1 mg/kg SC (hög), på olika dagar och i olika ordning för varje kanin. IV gavs i en venkateter i ena örat och SC med en spruta under huden i nackskinnen. Studien tog sex veckor och varje kanin användes tre försöksdagar med två veckors mellanrum. Under försöksdagarna undersöktes och vägdes kaninen, pälsen rakades på öronen och bedövningskräm applicerades. När bedövningen verkat sattes en kateter i en öronartär och ett blodprov togs. På de kaniner som skulle ges en IV injektion sattes en likadan kateter i en ven i andra örat. Kaninerna fick sedan en plastkrage runt halsen för att inte klia av sig katetrarna. Kaninerna fick buprenorfin injicerat och placerades i burar. Blodprov togs ur artärkatetern efter 2 (endast IV-gruppen), 5, 10, 15, 30, 60, 90, 180, 360 och 480 min. När alla provtagningar var avslutade avlägsnades katetrarna och kaninerna fick smärtlindrande läkemedel innan de släpptes tillbaka till sina boxar.

Blodproverna centrifugerades och serum analyserades sedan på Sveriges veterinärmedicinska anstalt (SVA) för att beräkna koncentrationen av buprenorfin. Utifrån analysresultaten beräknades högsta koncentration (C_{max}), tid vid maximal koncentration (T_{max}), tid till att koncentrationen halverats ($T_{1/2}$) och area under koncentrationskurvan (AUC) för IV och SC låg respektive

hög. Det var stora individuella skillnader mellan kaninerna för buprenorfinkoncentrationer, precis som förväntat gav SC administrering initialt betydligt lägre serumkoncentrationer än IV administrering. Den höga SC-dosen gav lägre serumkoncentrationer än efter IV i början, men efter 60 min uppmättes högre koncentrationer som kvarstod i 480 min. En IV injektion av ett läkemedel görs direkt in i blodet, men vid en SC injektion ska läkemedlet tas upp från underhuden in i blodet via små blodkärl (kapillärer) eller lymfkärl. Risken med detta långsamma upptag är att med lägre koncentration i blodet blir den även lägre i hjärnan och buprenorfinet kommer inte binda in till lika många opioidreceptorer och därmed inte ge lika bra smärtlindrande effekt. Efter en IV eller IM injektion nås däremot snabbt en hög koncentration i blodet och i hjärnan och en inbindning sker till fler opioidreceptorer. Exakt vilka nivåer som krävs i blodet för att tillräckligt höga nivåer skall uppnås i hjärnan är ännu inte klarlagt hos kanin, mer forskning behövs.

Även för T_{max} och $T_{1/2}$ fanns stora individuella skillnader mellan kaninerna efter SC administrering. Detta gör det svårt att förutsäga vilken buprenorfinkoncentration som uppnås, hur snabbt det går och hur länge läkemedlet finns kvar i cirkulationen efter SC administration. För att få fram biotillgängligheten beräknades förhållandet mellan AUC mellan SC och IV administrering. Biotillgänglighet för SC administrering av buprenorfin varierade mellan 36 och 71 % beroende på kön och dos. Biotillgängligheten var lägre för honor och halveringstiden längre än för hanar. Totalt resulterade det i en lägre AUC för honor efter SC än efter IV administrering av samma dos. Vikten hade inte någon effekt på serumkoncentrationerna, vilket tyder på att könsskillnaden inte beror på skillnad i vikt. Honorna hade dock mer fett kring halsen, vilket kan ha påverkat upptaget.

Slutsatsen som kan dras av denna studie är att det är svårt att ge en rekommendation om SC dos av buprenorfin till kanin eftersom effekten av dos varierar beroende på kön, men om resultaten i denna studie kan bekräftas i andra studier bör dosering och doseringsintervall anpassas efter administrationsväg och kön. Troligt är att en injektion under huden (SC) påverkas av fettdepåer. Därför är en injektion direkt i en ven (IV) ett bättre alternativ. Det skulle vara värdefullt att utvärdera om injektion i muskel (IM) skulle vara ett annat bra alternativ.

TACK TILL

Stort tack till min handledare Patricia Hedenqvist och biträdande handledare Lena Olsén för allt stöd och hjälp under både den kliniska delen av studien och under själva skrivandet. Det har verkligen varit en lärorik tid.

This work was supported by Grants for Laboratory Animal Science (GLAS) from the American Association for Laboratory Animal Science.

REFERENSER

- Barter, L. S. (2011). Rabbit analgesia. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practise*, 14:93–104.
- Boas, R. A. & Villiger, J. W. (1985). Clinical actions of fentanyl and buprenorphine. The significance of receptor binding. *British Journal of Anaesthesia*, 57:192-196.
- 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 Veterinary Medical Association*, 48:279–285.
- Deflers, H., Gandar, F., Bolen, G., Farnir, F. & Marlier, D. (2018). Influence of a single dose of buprenorphine on rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) gastrointestinal motility. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 45(4):510–519.
- DiVincenti, L. Jr, Mirelles, L.A. & 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*, 248:795–801
- Doodnaught, G.M., Monteiro, B.P., Benito, J., Edge, D., Beaudry, F., Pelligand, L. & Steagall, P. (2017). Pharmacokinetic and pharmacodynamic modelling after subcutaneous, intravenous and buccal administration of a highconcentration formulation of buprenorphine in conscious cats. *PLOS ONE* (April 2017).
- Dundee J.W., Gamble, J.A.S. & Assaf, R.A.E. (1974). Plasma diazepam levels following intramuscular injection by nurses and doctors. *Lancet*, 2(7894):1461.
- Dum, J.E. & Herz, A. (1981). In vivo receptor binding of the opiate partial agonist, buprenorphine, correlated with its agonistic and antagonistic actions. *British Journal of Pharmacology*, 74:627-633
- 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):24–29.
- 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).
- Goldschlager, G.B., Gillespie, V.L., Palme, R., & Baxter, M.G. (2013) Effects of multimodal analgesia with low-dose 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):571–576.
- Giordano, T., Steagall, P.V.M., Ferreira, T.H., Minto, B.W., Rodolfo de Sa Lorena, S.E., Brondani, J. & Luna, S.P.L. (2010) Postoperative analgesic effects of intravenous, intramuscular, subcutaneous or oral transmucosal buprenorphine administered to cats undergoing ovariohysterectomy. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 37:357–366.
- Hedenqvist, P., Trbakovic, A., Thor, A., Ley, C., Ekman, S. & Jensen-Waern, M. (2016). Carprofen neither reduces postoperative facial expression scores in rabbits treated with buprenorphine nor alters long term bone formation after maxillary sinus grafting. *Research in Veterinary Science*, 107:123–131.
- Jockel, J.P., Roebrock, P. & Shergold, O.A. (2013) Insulin depot formation in subcutaneous tissue. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 7:227–237.

- Kadir, F. (1992). Intramuscular and subcutaneous drug delivery: encapsulation in liposomes and other methods to manipulate drug availability. *Pharmacy World & Science*, 15(2):173–175.
- 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. *PLOS ONE*, 9e44437.
- Kinnunen, H.M. & Randall, J.M. (2014). Improving the outcomes of biopharmaceutical delivery via the subcutaneous route by understanding the chemical, physical and physiological properties of the subcutaneous injection site. *Journal of Controlled Release*, 182:22–32.
- 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*, 238:318–328.
- Levick, J.R. (1987). Flow through interstitium and other fibrous matrices, *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, 72:409–437.
- Martin-Flores, M., Singh, B., Walsh, C.A., Brooks, E.P., Taylor, L.C. & Mitchell, L.M. (2017). Effects of buprenorphine, methylnaltrexone, and their combination on gastrointestinal transit in healthy New Zealand white rabbits. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 56:155–159.
- Nunamaker, E.A, Stolarik, D.F., Ma, J., Wilsey, A.S., Jenkins, G.J. & Medina, C.L. (2024). Clinical efficacy of sustained-release buprenorphine with meloxicam for postoperative analgesia in Beagle dogs undergoing ovariohysterectomy. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 53(5):494–501.
- Park, I., Kim, D., Song, J., In, C.H., Jeong, S.W., Lee, S.H., Min, B., Lee, D. & Kim, S.O. (2008). Bupredermi, a new transdermal delivery system of buprenorphine: pharmacokinetic, efficacy and skin irritancy studies. *Pharmaceutical Research*, 25(5):1052–1062.
- Pick, C.G., Peter, Y., Schreiber, S. & Weizman, R. (1997). Pharmacological characterization of buprenorphine, a mixed agonist-antagonist with $\kappa 3$ analgesia. *Brain Research*, 744:41–46.
- Robertson, S.A., Taylor, P.M., Lascelles, B.D., & Dixon, M. J. (2003). Changes in thermal threshold response in eight cats after administration of buprenorphine, butorphanol and morphine. *Veterinary Record*, 153: 462–465.
- Robertson, S.A., Taylor, P.M. & Sear, J.W. (2005). PK-PD modelling of buprenorphine in cats: intravenous and oral transmucosal administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 28:453–460.
- Rothman, R.B., Ni, Q. & Xu, H. (1995). Buprenorphine: a review of the binding literature. In: Cowan, A. & Lewis, J.W., editors. *Buprenorphine: combatting drug abuse with a unique opioid*. New York: Wiley-Liss Press ss. 21.
- Roughan. J.V. & Flecknell. P.A. (2002). Buprenorphine: a reappraisal of its antinociceptive effects and therapeutic use in alleviating post-operative pain in animals. *Laboratory Animals*, 36:322–343.
- Shafford, H. L. & Schadt, J. C. (2008). Respiratory and cardiovascular effects of buprenorphine in conscious rabbits. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 35(4):326–332.
- Sittl, R., Grissinger, N. & Likar, R. (2003). Analgesic efficacy and tolerability of transdermal buprenorphine in patients with inadequately controlled chronic pain related to cancer and

- other disorders. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clinical Therapeutics*, 150–168.
- Steagall, P.V.M., Carnicelli, P., Taylor, P.M., Luna, S.P.L., Dixon, M. & Ferreira, T.H. (2006). Effects of subcutaneous methadone, morphine, buprenorphine or saline on thermal and pressure thresholds in cats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 29:531–537.
- Steagall, P.V.M., Taylor, P.M., Brondani, J.T. (2007). The effects of buprenorphine, carprofen and saline on thermal and mechanical nociceptive thresholds in cats. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 34:344–350.
- Steagall, P.V.M., Pellegand, 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):83–95.
- 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):290–302.
- Thern, E. (2018). *Plasmahalter av buprenorfin efter peroral och intravenös administrering till kanin*. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet (Examensarbete 2018:52)
- Weaver, L.A., Blaze, C.A., Linder, D.E., Andrutis, K.A. & Karas, A.Z. (2010). A model for clinical evaluation of perioperative analgesia in rabbits. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 49:845–851.
- Wootton, R., Cross, G. & West, C.D. (1988). An analgesiometry system for use in rabbits with some preliminary data on the effects of buprenorphine and lofentanil. *Laboratory Animals*, 22:217–222.
- Yu, S., Zang, X., Sun, Y., Peng, Y., Johnson, J., Mandrell, T., Shukla, A.J. & Laizure, S.C., (2006). Pharmacokinetics of buprenorphine after intravenous administration in the mouse. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 45(3):12–16.
- Zuidema, J., Pieters, F.A.J.M. & Duchateau, G.S.M.J.E. (1988). Release and absorption rate aspects of intramuscularly injected pharmaceuticals. *International Journal of Pharmaceutics*. Elsevier, 47:1–12.