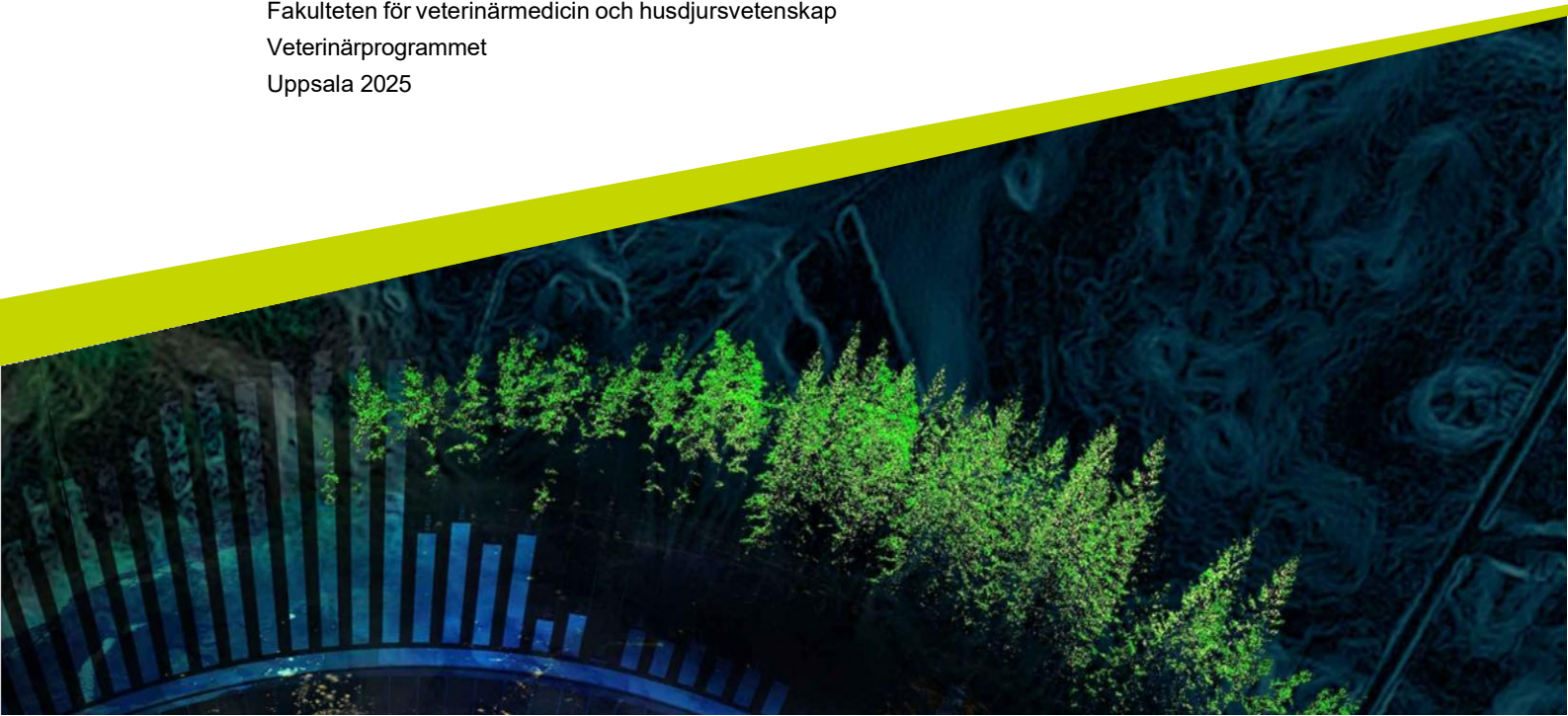




Effekt av frivilligt intag av premedicinering före inhalationsnarkos på Wistarråttor

Towa Pettersson Dynesius

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet
Uppsala 2025



Effekt av frivilligt intag av premedicinering före inhalationsnarkos på Wistarråttor

Efficacy of voluntary oral premedication before inhalation anaesthesia in Wistar rats

Towa Pettersson Dynesius

Handledare:	Patricia Hedenqvist, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper
Bitr. handledare:	Vanessa Bettembourg, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper
Examinator:	Carl Ekstrand, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens biovetenskaper
Omfattning:	30 hp
Nivå och fördjupning:	Avancerad nivå, A2E
Kurstitel:	Självständigt arbete i veterinärmedicin
Kurskod:	EX1003
Program/utbildning:	Veterinärprogrammet
Kursansvarig inst.:	Institutionen för kliniska vetenskaper
Utgivningsort:	Uppsala
Utgivningsår:	2025
Upphovsrätt:	Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.
Nyckelord:	premedicinering, anestesi, isofluran, råtta, acepromazin, buprenorfin, midazolam, tasipimidin, beteende, kortikosteron, Nutella™

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Premedicinering med sederande läkemedel används flitigt inom veterinärmedicinen för att minska stress vid anestesi-induktion, men är mindre vanligt på små gnagare i forskningssammanhang. Små gnagare som vakna tvingas inhalera isofluran i induktionskammare kan uppvisa aversiva reaktioner och stressrelaterade beteenden. Även premedicinering genom injektion kan vara stressande för dessa djur, som ofta är ovana vid hantering. Därför undersöktes i denna studie om råttor frivilligt intar vanligt använda sedativa läkemedel utblandade i smaklig vehikel (Nutella™) oralt och vilken effekt detta har på vakenhetsgrad, beteende och fysiologisk respons vid induktion och uppvakning efter isoflurananestesi.

Tjugofem Wistarråttor, indelade i fem grupper, erbjöds Nutella™ med acepromazin, buprenorfin, midazolam, tasipimidin respektive vatten (kontroll). Premedicineringens sederande effekt observerades och scorades var femte minut fram till induktion med isofluran. Induktion och uppvakning filmades för bedömning av kvalité med hjälp av en visuell analog skala (VAS) samt beteendeanalys med hjälp av etogram. ELISA-analys av kortikosteron i plasma genomfördes från blodprov taget 10 minuter efter induktion. Även induktionstid och tid till vaket tillstånd registrerades och jämfördes mellan behandlingsgrupperna.

Samtliga råttor lärde sig att inta Nutella™ från spruta på fyra dagar. Resultaten visade att acepromazin i en koncentration av 3,20 mg/ml Nutella™ kraftigt minskade och fördröjde intaget, medan övriga läkemedelsbehandlingar intogs inom några få minuter. Endast intag av midazolam gav upphov till signifikant sedering och lägre nivå av kortikosteron i plasma efter induktion jämfört med kontrollgruppen. En tendens till bättre kvalité av induktionen sågs av alla läkemedel jämfört med kontroll.

Nyckelord: premedicinering, anestesi, isofluran, råttor, acepromazin, buprenorfin, midazolam, tasipimidin, beteende, kortikosteron, Nutella™

Abstract

Premedication with sedative drugs is widely used to reduce stress during anaesthesia induction in veterinary medicine, but this method is less common in laboratory rodents. Rodents forced to inhale isoflurane can show aversive reactions and stress-related behaviors. Premedication through injection can also be stressful for these animals, which are often not used to handling. Because of that, this study investigates if rats voluntarily consume commonly used sedatives mixed with a palatable vehicle (Nutella™) orally and what effects this has on behavior and physiologic response during induction and recovery from isoflurane anaesthesia.

Twenty-five Wistar rats, divided into 5 groups, were offered Nutella™ mixed with acepromazine, buprenorphine, midazolam, tasipimidine or water (control). The sedative effects of the premedication on behavior were observed and scored every five minutes until induction with isoflurane. Induction and recovery phases were recorded for quality assessment using a Visual analogue scale (VAS) and behavioral analysis using an ethogram. Plasma corticosterone levels were analysed with ELISA from blood collected 10 minutes after induction. Time for induction and recovery were noted and compared between the treatment groups.

All rats learned to consume Nutella™ from a syringe within four days. Results showed that acepromazine in a concentration of 3,20 mg/ml Nutella™ markedly reduced and delayed consumption, while other drug treatments were consumed within a few minutes. Only intake of midazolam resulted in significant sedation and also lower plasma corticosterone levels after induction compared to the control group. A tendency toward better quality of induction was observed with all drug treatments compared to the control.

Keywords: premedication, anaesthesia, isoflurane, rat, acepromazine, buprenorphine, midazolam, tasipimidine, behavior, corticosterone, Nutella™

Innehållsförteckning

1.	Inledning.....	9
1.1	Syfte och frågeställning	10
2.	Litteraturoversikt	11
2.1	Anestesi av laboratoriedjur	11
2.2	Aversiva beteenden vid isofluranexponering	12
2.3	Fysiologin bakom den akuta stressresponsen.....	13
2.4	Premedicinering inför anestesi	14
2.5	Oral administrering	14
2.6	Aktuella premedikament	16
2.6.1	Acepromazin	16
2.6.2	Buprenorfin.....	17
2.6.3	Midazolam	17
2.6.4	Tasipimidin	18
3.	Material och metoder	19
3.1	Djur.....	19
3.2	Nutellaträning	19
3.3	Premedicinering och sövning	19
3.4	Subjektiv bedömning av induktion och uppvak.....	22
3.5	Beteendeanalys med BORIS.....	23
3.6	Kortikosteronanalys med ELISA.....	24
3.7	Datahantering och statistisk analys	25
4.	Resultat	27
4.1	Intag av premedicinering	27
4.2	Premedicinering.....	27
4.3	Beteende vid induktion	28
4.3.1	Duration av beteende vid induktion	28
4.3.2	Frekvens av beteenden vid induktion	29
4.3.3	Urinering och defekering vid induktion	30
4.4	Beteende vid uppvakning	30
4.4.1	Duration av beteende vid uppvakning	31
4.4.2	Frekvens av beteenden vid uppvakning	31
4.4.3	Urinering och defekering vid uppvakning	32
4.5	Kortikosteron efter induktion	32
4.6	Kvalité induktion och uppvak	34
5.	Diskussion	38
	Referenser	43
	Populärvetenskaplig sammanfattning	48

1. Inledning

Råttan (*Rattus norvegicus*) är ett av de mest använda däggdjuren inom forskning både idag och historiskt sett (Djurförsök.info 2022). Då dess anatomi och fysiologi är väl studerade samt tack vare råtans sociala och lättlärd natur väljer gärna forskare att använda sig av detta djurslag. I syfte att förbättra försöksdjurens välfärd har EU upprättat direktiv kring hållning och hantering av dessa djur enligt 3R-principen; Reduce, Replace och Refine (Europaparlamentets och rådets direktiv 2010/63). "Refine" innebär att sträva efter att förfinas djurförsök, med andra ord ska åtgärder vidtas i syfte att minska djurens upplevda stress och lidande under försökets gång (Jordbruksverket 2024).

I försök som innebär att djuren utsätts för smärtsamma kirurgiska ingrepp är anestesi ett värdefullt hjälpmedel. Genom att försätta djuren i ett tillstånd med upphörd sensorisk perception och motoriska reaktioner minskar behovet av fixering (Turner *et al.* 2011), även potentiell stress och smärta kan reduceras under de invasiva ingreppen (Remie 2016). Däremot har flertalet studier visat att volatila gaser såsom isofluran ger upphov till aversiva reaktioner hos råttor vid exponering (Leach *et al.* 2002; Makowska & Weary 2009; Wong *et al.* 2013; Boulanger Bertolus *et al.* 2015; Frost *et al.* 2020). Genom att injicera midazolam och butorphanol via intraperitoneal injektion minskade aversiva beteenden vid isofluranexponering (Tsukamoto *et al.* 2016). Premedicinering inför induktion rekommenderas bland sällskapsdjur i syfte att bland annat minska stress och oro och ges normalt intramuskulärt eller subkutant (Grim *et al.* 2015). Däremot innebär den fixering som ofta behövs för säkra injektioner även uppkomst av akut stress hos gnagare i försök (Abelson *et al.* 2012; Flecknell 2009).

Val av administreringsväg har lyfts som en viktig aspekt i planering av försök i syfte att förbättra djurvälståndet (Miguelena Chamorro *et al.* 2023). Flera forskare har visat att råttor är lätta att träna till att inta läkemedel utblandat med smaklig föda (Goldkuhl *et al.* 2008; Abelson *et al.* 2012). Till följd av små gnagares snabba metabolism och oförmåga till vomering behöver inte detta djurslag fastas innan induktion (Flecknell 2009). Frivilligt intag av premedicinering före induktion med volatila gaser skulle därför kunna vara ett sätt att förfinas försök, utan risk för aspiration. I denna studie jämförs effekten av oralt intag av olika premedicineringsprotokoll och om detta påverkar induktion och uppvakning vid isoflurananestesi. Försöket utgjorde en pilotstudie i ett större projekt där syftet är att undersöka om premedicinering kan minska stress vid anestesiinduktion med inhalationsgas.

1.1 Syfte och frågeställning

Syftet med denna studie är att undersöka om råttor frivilligt intar några vanligt förekommande sederande och ångestdämpande läkemedel inom veterinärmedicinen utblandade med NutellaTM och hur detta påverkar deras vakenhetsgrad före induktion med isofluran i induktionskammare. I studien undersöks också om kvalité och beteende vid induktion och uppvak i samband med isoflurananestesi påverkas av frivilligt intag av preanestetiskt läkemedel, samt om nivåerna av stresshormonet kortikosteron i plasma efter induktion påverkas av föregående premedicinering.

2. Litteraturöversikt

2.1 Anestesi av laboratoriedjur

Anestesins generella principer

Ordet anestesi kommer från grekiskans *an* som betyder utan, samt *aestesi* som betyder känsel; sammantaget kan begreppet anestesi översättas som 'utan känsel' (Dugdale 2010). Det finns 3 huvudsakliga typer av anestesi; lokal, regional och generell anestesi (Pascoe & Steffey 2018). Lokal anestesi syftar till ett läkemedelsframkallat bortfall av känsel i en liten region av kroppen, medan regional anestesi innebär ett läkemedelsframkallat bortfall av känsel i en kroppsdel genom att injicera anestetiska läkemedel kring en eller flera nerver (Flecknell 2009; Pascoe & Steffey 2018). Generell anestesi refereras ofta som ett farmakologiskt framkallat och reversibelt tillstånd med depression av det centrala nervsystemet (CNS) (Pascoe & Steffey 2018). Vilken typ av approach som anses lämplig beror i mångt och mycket på planerad åtgärd (Flecknell 2009), men generell anestesi är att föredra under kirurgi för att förhindra nociceptiv stimulering samt öka teknisk effektivitet (Pascoe & Steffey 2018).

Generell anestesi är som innan beskrivet ett farmakologiskt framkallat tillstånd som består av 3 huvudmål; medvetslöshet, bortfall av reflexer och analgesi (Dugdale 2010). Detta kan uppnås med ett enda läkemedel med CNS-depressiv effekt i tillräckligt hög dos, alternativt via en multimodal approach där en kombination av flera läkemedel kompletterar varandras effekt så de tre huvudmålen kan uppnås med lägre dosering (Dugdale 2010; Pascoe & Steffey 2018). Däremot har CNS-hämmande läkemedel ofta även negativ effekt på andra livsviktiga organsystem i kroppen (Pascoe & Steffey 2018). Därför skulle en multimodal approach som kräver lägre dosering av varje läkemedel innebära att också biverkningarna minskar. Som exempel ger låga doser av hypnotiska läkemedel i första hand upphov till ett sömnliknande tillstånd men ingen analgesi, utan behöver därför kombineras med analgetiska läkemedel för att uppnå triaden av generell anestesi (Flecknell 2009).

Graden av generell anestesi delas traditionellt upp i 4 olika stadier beroende på hur väl läkemedelsprotokollet lyckats nedreglera hjärnstammens och hjärnans kortikala funktion (Pascoe & Steffey 2018). Under stadie 1 ses sedation; individen visar tecken på letargi och dåsighet. Stadie 2 kallas för excitationfasen; individen kan under medvetslöshet uppvisa okoordinerade rörelser (Dugdale 2010). Därefter kommer stadie 3 som i sin tur delas upp i 4 plan baserat på vilka neurologiska reflexer som kvarstår. Stadie 3, plan 4 är optimalt för samtidigt invasiva kirurgiska ingrepp då samtliga reflexer är nedreglerade. Stadie 4 refereras som ett tillstånd med extrem CNS-hämning och utan ingripande orsakar död till följd av

cirkulatorisk och respiratorisk kollaps (Grimm 2015). Vid induktion behöver individen alltså passera stadie 1 och 2 innan kirurgisk anestesi är uppnådd (Dugdale 2010). Detta innebär att en förlängd induktion ökar tiden som djuret befinner sig i stadie 2, vilket också ökar skaderisken och därför är en snabb induktion optimalt. På samma sätt som vid induktion, måste individen passera samtliga stadier för att åter bli alert, därför önskas även en snabb uppvakning för att minska skaderisken (Flecknell 2023). Ett snabbt, men lugnt, uppvak är även önskvärt för att djuret fort ska återfå förmågan att reglera kroppstemperatur och normal kardiovaskulär funktion.

Det finns flera anestetiska läkemedel med stark negativ påverkan på CNS lämpliga för induktion av generell anestesi, vanligtvis via injektion eller inhalation (Pascoe & Steffey 2018). Det finns 3 olika typer av inhalerbara anestetiska läkemedel: inerta gaser (exempelvis xenon), oorganiska (exempelvis kväve) och organiska (exempelvis isofluran). Inhalerbara anestetiska läkemedel är lipofila och tros därför påverka cellmembranet i ryggmärgens ventrala horn för att på så sätt orsaka immobilitet. Induktion av generell anestesi är lämpligast att genomföra genom injektion; intravenöst eller intramuskulärt.

Generell anestesi av små gnagare i forskning

Induktion av anestesi på små gnagare sker ofta via inhalation eller injektion, medan underhåll ofta sker via inhalation (Flecknell 2009). Små gnagare induceras fördelaktigt med gas i induktionskammare för minimering av fixeringsrelaterad stress. Detta kräver en tillräckligt liten kammare för att luftutrymmet snabbt ska fyllas med inhalationsgas, vilket möjliggör en snabb och säker induktion.

Isofluranets snabba onset och offset med samtidig låg metaboliseringsgrad i levern gör det till ett gängse läkemedelsval för induktion och underhåll i forskningssammanhang. Däremot har isofluran en stark andningsdepressiv effekt och därför bör bärgasen kombineras med syre. Inhalationsgasen bör fylla induktionskammaren från botten då dess densitet är högre än luft, därmed bör lämpligt utsug ske från induktionskammarens topp.

Vid bruk av inhalationsläkemedel för underhåll kan öppen mask användas så tillförsel av inhalationsgas säkerställs med minimalt spill; endotrakeal intubering på så små djur är ovanligare (Flecknell 2023). Öppen mask ställer dock vissa arbetsmiljörelaterade krav på utsug i och med att utandningsluft samt gas från narkosapparaten läcker ut längs maskens kanter och ökar personalens exponering för narkosgas.

2.2 Aversiva beteenden vid isofluranexponering

Trots isofluranets många fördelar så leder den inte bara till måttlig respiratorisk och kardiovaskulär depression, utan också till beteenden som tyder på att exponering upplevs som stressande av råttor (Tsukamoto *et al.* 2016). Isofluran bedöms som

mindre aversivt än gaser som exempelvis koldioxid (CO₂) (Kulkarni & Hickman 2020), dock visar studier att råttor undviker isofluranexponering trots belöning (Makowska & Weary 2009).

Stressrelaterade beteenden uppvisade vid isofluranexponering är bland annat defekering, urinering och huvudskakningar, samtliga beteenden visade en lägre förekomst om råttor behandlats med injicerbara sedativa och analgetiska läkemedel före exponering (Tsukamoto *et al.* 2016). Även beteenden som "rear" (stå på bakbenen), ansiktsputsning och hopp har studerats i syfte att evaluera stress i samband med inhalering av isofluran bland möss (Mckinney *et al.* 2022). Det verkar också som att råttor som utsätts för isofluran två gånger upplever den andra exponeringen som mer aversiv, vilket kan tyda på att individerna lär sig att associera inandning av isofluran med obehag (Wong *et al.* 2013; Boulanger Bertolus *et al.* 2015; Kulkarni & Hickman 2020).

2.3 Fysiologin bakom den akuta stressresponsen

Vid akut stress har det autonoma nervsystemet och det endokrina systemet i kroppen tillsammans den huvudsakliga uppgiften att skapa inre förutsättningar för att öka individens överlevnadschanser (Smith & Vale 2006; Sjaastad *et al.* 2016). Begreppet 'stress' kan refereras som yttre eller inre faktorer som potentiellt kan påverka kroppens interna miljö och där har hypothalamus en viktig kommunikativ roll mellan den information av stresstimuli som kommer med det centrala nervsystemet samt det agerande endokrina och sympatiska nervsystemet (Sjaastad *et al.* 2016).

Vid stimuli av stressorer frisätts neurohormoner såsom corticotropin releasing factor (CRF) från hypothalamus till hypofysens främre lob, också kallad adeno-hypofysen (Sjaastad *et al.* 2016). Adenohypofysen utsöndrar i sin tur adreno-corticotropic hormone (ACTH) till blodcirkulationen. Fritt ACTH i blodet binder och aktiverar därefter G-protein-kopplade membranreceptorer på parenkymala celler i binjurebarkens zona fasciculata, vilket resulterar i syntetisering och sekretion av glukokortikoider (Smith & Vale 2006; Sjaastad *et al.* 2016). Kortikosteron är den dominerande glukokortikoiden bland gnagare och kan därför användas som biologisk stressmarkör minuter (min) efter stimulering (Sjaastad *et al.* 2016). Glukokortikoider är också det hormon som har stor påverkan på vilket stressbeteende som en individ uppvisar. Samspelet mellan hypothalamus, hypofys och binjure beskrivet ovan är känd som den så kallade hypothalamus-hypofys-binjure-axeln (HPA-axeln) (Smith & Vale 2006).

CRF reglerar även det sympatiska nervsystemet som har en viktig roll när det kommer till djurens respons på stress, så kallad "*fright, fight or flight reaction*" (Sjaastad *et al.* 2016). Stimulering av det sympatiska nervsystemet tillsammans med ökade nivåer av glukokortikoider underlättar alltså djurets beteende under de tre stadierna av fright-, fight- eller flight-reaktionen genom ökad kardiovaskulär

ton, vasodilatation i skelettmuskulatur, bronkodilatation, ökad andningsfrekvens samt ökad glukoneogenes i syfte att förse skelettmuskulatur med energi- och syrerikt blod för optimal prestation (Smith & Vale 2006; Sjaastad *et al.* 2016). Dessutom förbättrar adrenerga nervfibrer i hjärnstammen den retikulära formationen, vilket i sin tur leder till ökad uppmärksamhet och fokus hos djuret (Sjaastad *et al.* 2016).

2.4 Premedicinering inför anestesi

Att premedicinera inför induktion av anestesi är vanligt på både små och stora djur i den kliniska miljön. Inom försöksdjursmedicinen är det vanligt med sedation av stora djur i syfte att minimera fixeringsbehovet vid induktion (Flecknell 2009). Detta är dock ännu ej allmänt applicerat på små djur i forskning. Premedicinering inför narkos sker ofta genom att injicera ett eller flera läkemedel cirka (ca) 15–45 min innan induktion, där sedativa och analgetiska läkemedel ofta kombineras för att dels minska behovet av anestetiska läkemedel samt för att uppnå en snabb och säker induktion, minska oro, tillföra profylaktisk smärtlindring och minska komplikationer under uppvaket (Pascoe & Steffey 2018). Genom att minska dosen av anestetiskt läkemedel minskar också den negativa inverkan på det respiratoriska systemet och djuret får på grund av premedicineringen också ett stabilare tillstånd under anestesiens gång (Tsukamoto *et al.* 2016). Sammantaget leder adekvat premedicinering att säkerheten och välfärden för djuret förbättras. Tsukamoto *et al.* (2016) menar även att induktion/uppvak med hög grad fysiologisk stress kan påverka forskningsdata negativt.

Anledningen varför inte små gnagare vanligtvis premedicineras med sedativa inför induktion inom forskningen idag är de negativa effekterna som fixering innebär för djuret i fråga (Turner *et al.* 2011). Djur som inte tränats till att acceptera fixering kan uppleva detta moment som mest aversivt under ett helt forskningsprojekt.

2.5 Oral administrering

Det finns många viktiga aspekter att ta hänsyn till vid val av administreringsväg för önskad effekt. Oral giva av läkemedel är ett ekonomiskt, bekvämt och relativt säkert sätt att ge läkemedel på och små gnagare kan lätt tränas för att underlätta proceduren (Turner *et al.* 2011).

I regel är det den fria koncentrationen av läkemedel i blodet som avgör om den givna dosen av en substans blir terapeutisk, eftersom den representerar målvävnadernas läkemedelskoncentration (Riviere 2018). Innan substansen når plasma behöver det passera biologiska membran oavsett extravasal

administrering. Vid oral administrering sker läkemedelsupptaget från magtarmkanalen och denna process kan anses komplex då flera komponenter hos både läkemedlet samt djurets anatomi och fysiologi avgör hur väl substanser kan passera biologiska membran. Läkemedlets fysiokemiska egenskaper (lipofilitet, pK_a , molekylstorlek och laddning) avgör inte bara absorption och distribution till målvävnader, men också från vilken del av digestionskanalen upptag sker (om alls). Skillnader mellan djurslag i digestionsorganens fysiologi påverkar även substansens absorption.

Hur stor andel av den givna orala dosen som når plasman i det stora blodomloppet styrs även av hur substansen hanteras av levern (Riviere 2018). Läkemedel som absorberas via magtarmkanalen (med undantag av munslemhinnan och rektum) når i första hand portasystemet som leder blodet vidare till levern där en första-passage-metabolism sker. För läkemedel som framför allt elimineras via levern är denna process avgörande för deras biotillgänglighet vid oral administrering.

Beroende på djurart behöver hänsyn tas till djurets kronobiologi och cirkadiska rytm vid administrering av läkemedel; metabolismen påverkar den effekt och duration som erhålls av ett administrerat läkemedel (Turner *et al.* 2011). Råttor med tydlig cirkadisk rytm påverkas av detta då det observerats att hypnotiska läkemedel administrerade under tidig aktiv fas gav längre duration på anestesi än vid administrering under tidiga inaktiva fasen.

Mängden läkemedel i förhållande till kroppsstorlek blir också en viktig faktor att anpassa sig efter vid oral administrering till små djur (Turner *et al.* 2011). Smärta och stress till följd av onormal dilatation av magsäcken kan uppkomma om stora mängder läkemedel administreras via oro-/nasogastriskt gavage. En begränsande faktor för oral administrering är också hur mycket ett djur är kapabelt att äta via frivilligt intag av läkemedel. Turner *et al.* (2011) rekommenderar att en maxvolym på 5 ml/kg kan administreras oralt till de flesta djurslag.

Oral administrering av läkemedel som ej utblandas i foder eller vatten kräver ofta viss form av fixering, som i sig kan stressa upp djuret om det inte hanterings-tränas inför det (Turner *et al.* 2011). I en studie där frivilligt oralt intag via mikropipettguidad läkemedelsadministrering (MDA) med fixering jämförts med intraperitoneal (IP) injektion konstaterades att kortikosteronnivåerna hos möss var lägre efter MDA (Schalbetter *et al.* 2021).

Vid oral medicinering kommer det alltid finnas en risk att läkemedlet absorberas buccalt eller sublinguallt, vilket i sin tur kan påverka läkemedlets farmakokinetik (Turner *et al.* 2011).

2.6 Aktuella premedikament

2.6.1 Acepromazin

Acepromazin är en vanlig komponent som en del av premedicinering inför anestesi inom både smådjurspraktiken och hästpraktiken (Plumbs 2008). Acepromazin är en phenothiazin (Posner 2018) som ger upphov till en mentalt lugnande effekt men begränsad sedation vid normala doser (Flecknell 2009; Dugdale 2010). Molekylens inhiberande inverkan på bland annat adrenerga, dopaminerga och histamin-receptorer ger upphov till effekter som hypotermi till följd av vasodilatation och nedsatt kroppstemperaturreglering, antiemetisk effekt, antiarytmisk effekt samt antihistamineffekt (Dugdale 2010). Men acepromazinets egenskap att potentiera andra CNS-hämmande och analgetiska läkemedel är också en önskad effekt av administreringen (Flecknell 2009).

Bieffekter av acepromazin är vanligtvis hypotension sekundärt till vasodilatation, samt nedsatt termoreglering, vilket kan leda till en sänkt kroppstemperatur (Flecknell 2009; Dugdale 2010). Dessa oönskade effekter är relativt opproblematiske hos friska individer men kan vara kritiska hos individer som redan lider av någon form av vätskebrist till följd av dehydrering eller blodförlust då risken för synkope ökar. Doxapram har presenterats som en antidot mot phenothiazin-effekten på CNS (Dugdale 2010).

Phenothiaziner metaboliseras i huvudsak i levern och genomgår därmed en första-passage-metabolism efter enteral giva (Dugdale 2010). Acepromazin har en relativt lång latenstid, effekt efter intravenös (IV) injektion kan ses upp till 30–40 min efter administrering. Vid oral giva har studier på hundar visat ca 20 % biotillgänglighet (Hashem *et al.* 1992), samt ca 55 % biotillgänglighet hos hästar (Hashem & Keller 1993). Bland små gnagare i försök används sällan acepromazin ensamt, istället i kombination med andra läkemedel med hypnotisk och/eller starkt sederande effekt (Adami *et al.* 2023).

Oralt intag av acepromazin bland råttor har undersökts av Hackbarth *et al.* (2000) där 7 milligram (mg) acepromazin per djur intagits och gett signifikant lägre nivåer av kortikosteron i serum jämfört med råttor som injicerats med pentobarbital IP efter induktion med CO₂. Baserat på en uppskattad vikt på 250–300 gram (g) per råtta skulle denna doseringen motsvara en giva på 23,3–28,0 mg/kilogram (kg) (författarens egna beräkningar). Utifrån studien genomförd av Hackbarth *et al.* (2000) framgår det ej tydligt om den signifikanta skillnaden i kortikosteron mellan de olika behandlingsgrupperna beror på valt läkemedel eller administreringsväg. Däremot visar studien att acepromazin i hackat kött intas frivilligt av råttor.

2.6.2 Buprenorfin

Buprenorfin är en opioid som verkar i huvudsak som en partiell agonist på μ -receptorn samt antagonistiskt på κ -receptorn (Dugdale 2010). Stimulering av μ -receptorn kan resultera i analgesi, sedering/narkos, eufori/ökad lokomotion, men även illamående/kräkning/förstoppning till följd av minskad tarmmotilitet. Effekterna är dosberoende och generellt används opioider i huvudsak för deras analgetiska egenskaper och inte för dess sedativa effekt. Opioider kan verka sederande vid höga doser, vilket i sin tur ökar risken för biverkningar.

Excitation kan förekomma efter administrering av opioider till friska individer där framför allt katter och hästar är några känsliga djurarter (Dugdale 2010). Generellt har opioider en låg kardiovaskulär påverkan, det är inte förrän vid doser kring 3-5 mg/kg som en lindrig negativ inotropisk effekt kan uppstå.

Buprenorfin har en hög lipofilitet och har därför god absorption från digestionskanalen (Marquet 2002), men trots detta är biotillgängligheten vid oral administrering låg till följd av omfattande första-passage-metabolism i levern (Brewster *et al.* 1981). Hos råttor är biotillgängligheten vid upptag från tunntarm ca 10 %, jämfört med 13 % biotillgänglighet vid sublingual administrering. Även hos människa har stora skillnader i biotillgänglighet observerats beroende på om upptaget skett i digestionskanalen (<20 %) (Marquet 2002) eller sublingualt (ca 51 %) (Kuhlman *et al.* 1996). Hos hund har en oral biotillgänglighet på 3–6 % observerats (Garrett & Chandran 1990) samt ca 40 % biotillgänglighet vid sublingual administrering (Enmoto *et al.* 2022).

Buprenorfinets effekt på råttor är välstuderat och är ett vanligt förekommande analgetikum inom försöksdjursmedicinen (Goldkuhl *et al.* 2008). För en tillräcklig analgesi av oralt given buprenorfin för behandling av moderat smärta rekommenderas en dos på 0,4 mg/kg kroppsvikt för råttor (Abelson *et al.* 2012).

2.6.3 Midazolam

Midazolam tillhör läkemedelskategorin benzodiazepiner och effekterna efter administrering kan variera mycket mellan djurarter (Pascoe & Steffey 2018). Benzodiazepiner används framför allt för deras sedativa egenskaper på smådjur men även bland gnagare och dess effekt kan reverseras med flumazenil (Flecknell 2009). Benzodiazepiner är fördelaktiga i ett premedikationsprotokoll då dessa ger upphov till god muskelrelaxation och potentierar anestetiska och opioida läkemedel likt acepromazin. Effekten utövas genom selektiv aktivering av GABA_A-receptorer och därmed inhiberar intrasynaptiska transmissioner i CNS (Adami *et al.* 2023).

Likt många andra CNS-deprimerande läkemedel har också benzodiazepiner vissa oönskade biverkningar, såsom desorientering och excitation hos framför allt friska hundar och katter (Flecknell 2009). Diazepam är en vanligt förekommande benzodiazepin inom försöksdjursmedicinen. Till skillnad från diazepam har

midazolam en kortare duration och är dessutom hydrofil och kan därför blandas ut med andra läkemedel i högre grad.

Midazolam metaboliseras i levern och utsöndras i hög grad via urin (Adami *et al.* 2023). Biotillgängligheten efter oral administrering av midazolam tycks variera beroende på interna och externa faktorer. Wistar-råttor med fri tillgång till foder som erbjöds midazolam oralt uppvisade en biotillgänglighet på ca 45 % (Mandema *et al.* 1991) medan albinoråttor av Holtzman-stam (Sprague-Dawley bakgrund) som fastats före administrering uppvisade en biotillgänglighet på 6 % (Lau *et al.* 1996). Maximal midazolamkoncentration i serum observerades inom 5–15 min efter oral administrering (Mandema *et al.* 1991).

2.6.4 Tasipimidin

Tasipimidin är en selektiv alfa-2-adrenoreceptoragonist som administreras oralt till hundar inom veterinärmedicinen i syfte att dämpa oro och rädslor inför ångestrelaterade situationer (Fass 2021). Alfa-2-adrenoreceptoragonister ger mild-måttlig analgesi men används framför allt som premedikament till följd av dess sedativa egenskaper (Flecknell 2009). Genom dess påverkan på alfa-2-adrenoreceptorn ger tasipimidin upphov till minskat blodtryck och hjärtfrekvens samt minskad vakenhet, rädsla och oro (Nguyen *et al.* 2017). Tillsammans med ett potent analgetiskt läkemedel utgör de en användbar och vanligt förekommande läkemedelskombination inför anestesiinduktion hos flera olika djurslag. Biverkningar som kan ses vid administrering av alfa-2-adrenerga läkemedel är bland annat bradykardi, vasokonstriktion och ökad diures (Posner 2018).

Tasipimidin genomgår första-passage-metabolism och biotillgängligheten hos hund efter oral administrering har rapporteras vara upp till 60 % och ger en maximal plasmakoncentration efter 0,5–1,5 h (Fass 2021). I en studie gjord på Wistar-råttor observerades en lägre biotillgänglighet efter oral administrering än hos hund; 2,2 % efter att ha gett dosen 5–15 mg/kg (Lensen *et al.* 2021).

3. Material och metoder

3.1 Djur

I studien användes initialt 29 råttor av typen Wistar varav 15 honor och 14 hanar, huserade i grupper om 2–5 i IVC DD 1800 på laboratoriedjursavdelningen på SLU, Ultuna. Samtliga råttor var uppfödda på avdelningen i syfte att användas i utbildning och hade innan studien påbörjades inte ingått i något annat projekt eller hanteringstränats. Alla råttor hölls i samma rum under hela studietiden med en ljuscykel på 12 timmar (h) (ljus på 06:00–18:00), luftfuktighet på 50–55 % och temperatur på 20–23 grader Celsius (°C). Samtliga råttor fodrades ad libitum (Ssniff Rat/Mouse Maintenance Fortified) och hade fri tillgång till kranvatten i vattenflaskor. I burarna fanns träspån samt berikning i form av en röd tunnel samt en träbit. Daglig tillsyn samt byte av burar en gång i veckan sköttes av personal på plats. Alla råttorna var mellan 3–6 månader gamla och vägde 174–252 g bland honor samt 308–422 g bland hanar.

3.2 Nutellaträning

Innan start av nutellaträningen vägdes och märktes samtliga råttor med nummer 1–29 med en tuschpenna på svansen. Totalt tränades 29 råttor att frivilligt inta ca 4 milliliter (ml) Nutella™ per kg kroppsvikt via en 2 ml-spruta. Samtliga råttor tränades vid totalt 9 tillfällen under 5 dagar. Träningen skedde i hemburen utan direkt hantering av djuren av en och samma person.

3.3 Premedicinering och sövning

All premedicinering och sövning av råttor genomfördes mellan klockan 08:00–13:00 på dagen för att minska påverkan av cirkadisk rytm på insamlad data.

Premedicinering

De 25 råttor (varav 13 honor och 12 hanar) som var närmast i ålder av de initialt 29 valdes ut för studien. Dessa randomiserades med hänsyn till ålder, bur och kön till 5 grupper om 5 råttor vardera. Varje grupp blev randomiserat tilldelad en behandling av följande; acepromazin (A), buprenorfin (B), midazolam (M), tasipimidin (T) och kontroll (K).

Beredning av blandning genomfördes manuellt av författaren genom att blanda dubbel volym läkemedel eller vatten med dubbel volym Nutella™, rätt mängd mixtur placerades därefter i en 2 ml-spruta. Doser som gavs av varje läkemedel var; acepromazin 15,00 mg/kg, buprenorfin 0,50 mg/kg, midazolam 7,50 mg/kg och tasipimidin 0,60 mg/kg. Kontrollgruppen fick kranvatten i volymen 1,75

ml/kg kroppsvikt. Den totala volymen läkemedel och Nutella™ som varje råtta förväntades konsumera sattes till 4,00 ml/kg.

Ett tidtagarur användes för att mäta och registrera hur snabbt varje individ åt upp respektive Nutella™-blandning (hädanefter kallad blandning). Varje råtta fick maximalt 10 min på sig att äta upp den erbjudna mixturen. Endast en råtta i taget premedicerades. I syfte att evaluera läkemedlets sederande effekt på beteendet poängsattes rättans tillstånd (hädanefter kallad premedikationsscore, PS) var femte minut efter giva av blandning enligt modifierad skala framtagen på hund från studie av Carter *et al.* 2013;

0: Fullt vaken individ

1: Står/sitter med huvudet i en lägre position än innan administrering

2: Står/sitter obalanserat, tecken på muskelsvaghet och vill ej ligga ned

3: Ligger på bröstet men är responsiv

4: Ligger på sidan men är responsiv

5: Ligger på sidan, är ej responsiv

För att avgöra om rättor som låg på bröstet eller på sidan var responsiva initierade bedömaren (författaren) interaktion genom att öppna en mindre lucka i locket på buren.

Observationstiden efter oralt intag baserades på läkemedlens förväntade anslagstid. För rättor som premedicerats med acepromazin och buprenorfin evaluerades beteendet var femte minut fram till och med 30 min efter giva, för resterande grupper evaluerades beteendet var femte minut fram till och med 15 min efter giva.

Materialuppsättning

Efter premedicinering och evaluering transporterades varje råtta enskilt i en transparent kammare till ett operationsrum för anestesi. Transportkammaren täcktes med handduk för att minska ljusintyck. I operationsrummet var luftfuktigheten ca 40 % och temperaturen ca 20 °C.

All form av arbete före, under och efter anestesi skedde på dragbord med utsug av arbetsmiljömässiga skäl. Preoxygenering, induktion och uppvak skedde i en transparent bur av plast med en pappershandduk fasttejpade på botten för underlättad detektion av urinering. Induktion samt uppvak för varje råtta filmades med kamera för senare beteendeanalys. En separat induktionsbur samt uppvaksbur användes, båda placerade på förvärmad värmedyna för att förhindra hypotermi under respektive fas samt svart plast fäst till respektive burs ena utsida för bättre kontrast mot de vita rättorna under filmtagning. Varje bur märktes även med respektive rättas identifikationsnummer för att underlätta identifiering.

Induktionsburens lock var av transparent plast med två öppningar avsedda för

införsel respektive utförsel av gas där slangen som var kopplad till locket för gasutförsel ledde ut till dragbordet. Locket till uppvakningsburen bestod av ett metallgaller för att förhindra eventuella rymningsförsök samt tillåta luftombyte.

Under anesthesiunderhåll användes en värmelampa och CODA Monitor med tillhörande värmedyna och rektaltermometer för att monitorera råttans kroppstemperatur efter induktion (se figur 1). MouseSTAT Jr med tillhörande pulsoximeter framtagen för mus användes för monitorering av syremättnad och hjärtfrekvens. Data samlades i skrift och noterades på separat papper för varje råtta.



Figur 1. Wistarråtta placerad på mask under isoflurantillförsel under försökets anestesidel. Bilden visar uppställningen med mask, narkosapparat, induktionsbur, uppvaksbur, kamera samt övervakningsutrustning. Foto av författaren.

Induktion

Varje råtta preoxygenerades i minst 30 sekunder (s) i induktionsburen före induktion med 5 % isofluran och 4 l (liter)/min av syre. Induktionstiden noterades, det vill säga tiden från induktionsstart med isofluran till Loss of Righting Reflex (LORR). Rättningsreflexen undersöktes genom att vicka försiktigt på induktions-kammaren när råttan misstänktes ha förlorat medvetandet. När varje råtta hade en andningsfrekvens på ca 60 andetag per minut plockades råttan ut från induktionsboxen och lades på mask för underhåll av anestesi samt övervakning. Eventuell defekering och urinering noterades separat.

Underhåll, blodprovstagnning, uppvak och postoperativ period

Efter induktion underhölls narkosen med isofluran i ca 15 min. Under denna tid applicerades Viscotears i båda ögonen för att undvika uttorkning av cornea, samt genomfördes en regelbunden övervakning och notering av andningsfrekvens, blinkreflex, hjärtfrekvens, syremättnad, kroppstemperatur, syrgasflöde samt isoflurankoncentration. Blodprov togs genom punktering av *Vena saphena* ca 10 min efter avslutad induktion. Upp till 200 mikroliter (μ l) blod samlades i heparinlithium rör för senare analys av kortikosteronnivåer. Fram till centrifugering för separation av plasma förvarades blodprovet i 8 °C.

Efter avslutad narkos vägdes varje råtta före placering i uppvaksburen och vikten noterades. Uppvaket filmades under 10 min med start från avslutad isoflurantillförsel. Tid från avslutad narkos till Return Of Righting Reflex (RORR) noterades. När varje råtta vaknat och rörde sig normalt fördes de tillbaka till respektive hembur i transportkammaren övertäckt med en handduk. Varje råtta vägdes ca 24 h efter induktion för notering av eventuell viktförändring samt bedömning av allmäntillståndet.

3.4 Subjektiv bedömning av induktion och uppvak

Handledare och biträdande handledare, båda med god erfarenhet av anestesi på råttor, bedömde från filmerna subjektivt kvalitén på varje induktion och uppvakning i en randomiserad ordning med hänsyn till bur, kön och behandlingsgrupp. På filmen framgick rättans identifikationsnummer men inte vilken grupp den tillhörde. Kvalitén på induktion och uppvak baserat på rättans beteende innan LORR respektive vid/efter RORR poängsattes enligt en visuell analog skala (VAS) bestående av en 10 centimeter (cm) lång linje (se Figur 2 och Figur 3). Medelvärdet av antal millimeter (mm) från vänster kant fram till markering beräknades för bedömning av kvalitén av respektive händelse.



Figur 2. Visuell analog skala (VAS) använd för subjektiv bedömning av induktionskvalité under induktion med isofluran hos Wistarråttor efter oral premedicinering. Bedömningen baserades på videoinspelningar av varje induktion.



Figur 3. Visuell analog skala (VAS) använd för subjektiv bedömning av uppvakskvalité under induktion med isofluran hos Wistarråttor efter oral premedicinering. Bedömningen baserades på videoinspelningar av varje uppvak.

3.5 Beteendeanalys med BORIS

För analys av beteende under induktion och uppvak användes ett program för beteendestudier kallat BORIS (Friard & Gamba 2016). De beteenden som registrerades är nämnda i ett redigerat etogram baserat på observerade beteenden från studier gjorda av Burkholder *et al.* (2010) och Niel & Weary (2006) (se tabell 1). För varje beteende och råtta mättes total duration och frekvens under induktion respektive uppvak. Under induktionen analyserades beteendet från och med start av isofluran fram till LORR. Beteende under uppvak mättes under 2 min och 45 s från och med första rörelsen. Detta tidsintervall bestämdes utifrån den råtta som hade kortast tid från första rörelsen till avslutad inspelning. Tid från avslutad anestesi fram till första rörelsen under uppvaket samt till RORR noterades. Beteenden analyserades av författaren vid ett enda tillfälle i en randomiserad ordning med hänsyn till bur, läkemedelsbehandling och kön. Beteendeanalyserna genomfördes ej helt blindat då författaren både administrerat premedicinering samt medverkat vid sövning av samtliga råttor och därmed kände igen enstaka identifikationsnummer markerat på induktions- och uppvaksburen. Defekering och urinering ingår ej i följande etogram utan noterades i realtid.

Tabell 1. Tabell med sammanställning av de beteenden som analyserades vid induktion respektive uppvak av Wistorråttor i samband med isoflurananestesi enligt ett modifierat etogram efter Burkholder et al. (2010) och Niel et al. (2006). Varje beteende registrerades med avseende på total duration och frekvens baserat på videoinspelningar från varje råtta.

Beteende	Definition
Går	Förflyttning av kroppen med tassarna i kontakt med golvet
Kryper	Förflyttning av kroppen med tassar och buk i kontakt med golvet
Ligger ner	Håller kroppen stilla med ben och buk i kontakt med golvet
Freeze	Immobilitet med en stel kroppshållning
Skakar huvud eller kropp	Snabb rotation av huvudet eller kroppen runt dess axel
Putsar ansikte	Placering av en eller flera tassar för att putsa/klia i ansiktet
Putsar kroppen	Placering av en eller flera tassar för att putsa/klia kroppen
Flyktförsök	Nosen och/eller framtassar i kontakt med burlocket
Rear	Höjer överkroppen ståendes på baktassarna. Inkluderar stöttning mot burväggen. Utförande av rear under samtidigt tvätt av ansikte räknas ej in.
Gräver	En snabb rörelse av framtassarna mot golvet
Luktar	Rytmsk rörelse av nos och huvud med samtidig snabb andning och rörelser av morrhår
Exciterar	Okoordinerade och spastiska rörelser av kropp och ben

3.6 Kortikosteronanalys med ELISA

Plasma från blodprov tagna i samband med sövning förvarades i -80 °C innan analys av kortikosteron genomfördes med Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Mätningen genomfördes med ett kommersiellt ELISA-kit för kortikosteronmätning hos mus, råtta och människa (Tecan RE52211, IBL International GmbH, Tyskland) enligt tillverkarens instruktioner.

Totalt analyserades 1 låg kontroll, 1 hög kontroll och 7 standarder tillsammans med 25 prover bestående av plasma. Inledningsvis tilläts alla ingående komponenter till analysen att uppnå rumstemperatur innan blandning av enzymkonjugat, tvättlösning och spädning av varje prov genomfördes.

Samtliga prover genomgick totalt två spädningssteg för att uppnå en spädningskoefficient på 1:50. Inledningsvis späddes 10 µl plasma med 90 µl *Standard 0*. För att uppnå en spädningsfaktor på 1:50 blandades 12,5 µl av 1:10-spädningen med 50 µl *Standard 0*. Koncentrerat enzymkonjugat späddes med *Conjugate Diluent* genom att blanda 60 µl koncentrerat enzymkonjugat med 14 940 µl *Conjugate Diluent*. Varje lösning blandades grundligt med hjälp av en Vortex innan pipettering. Tvättlösningen blandades genom att späda ut 20 ml *Wash Solution* med 780 ml destillerat vatten för att uppnå en spädning på 1:40.

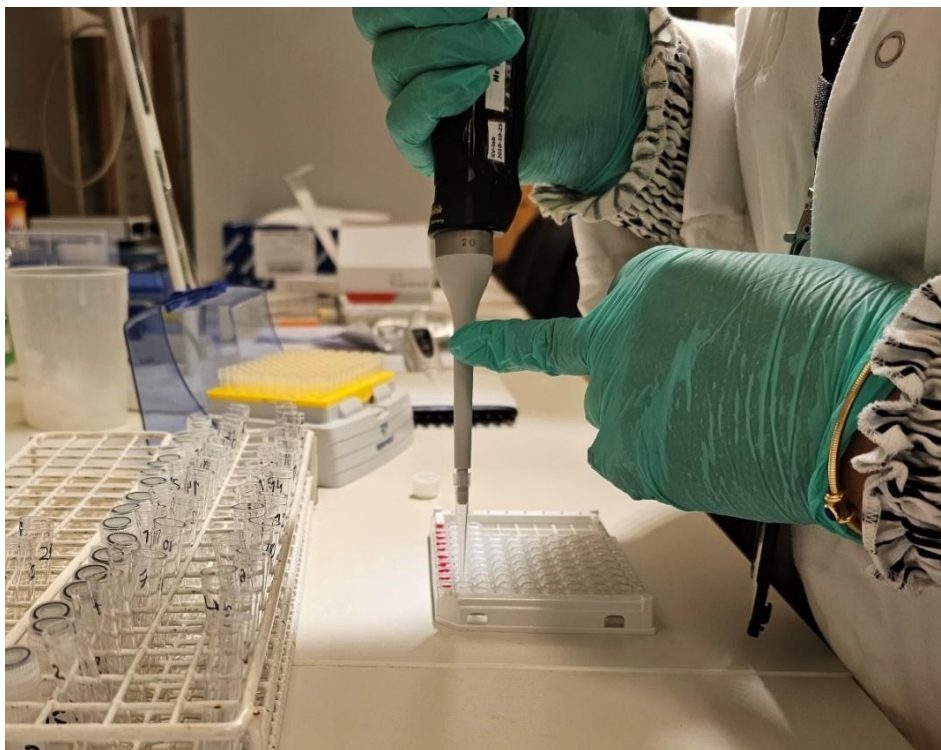
Analysproceduren inleddes med att placera 20 µl av kontroller, standarder och provmaterial med spädning 1:50 i respektive brunn på ELISA-plattan utan att vidröra brunnarnas botten med pipettspetsen (se figur 4). Därefter tillsattes 200 µl *Enzym Conjugate* till varje brunn. Innehållet i brunnarna blandades sedan maskinellt under 10 s innan inkubation i rumstemperatur av plattan under 60 min för att tillåta antikroppsbindning av kortikosteron i brunnarnas botten.

Efter 60 min tvättades samtliga brunnar maskinellt i Thermo Scientific Well-wash. Varje brunn tvättades med 400 µl *Wash Solution* under totalt tre cykler. Eventuellt kvarbliven *Wash Solution* i brunnarna extraherades genom att slå plattan mot pappershanddukar.

100 µl *Substrate Solution* tillsattes till varje brunn, plattan inkuberades därefter i mörkt utrymme i rumstemperatur under 15 min för att tillåta substratet att binda till antikroppsbundet kortikosteron. Efter 15 min tillsattes 50 µl *Stop Solution* till varje brunn för att stoppa ny bindning av substrat till kortikosteron.

Absorbansen i varje brunn mättes med Thermo Labsystems Multiscan EX inom 10 min efter tillsatt *Stop Solution*. Resultatet sammanställdes i Microsoft Excel.

De prover som under den första analysen erhöll en CV % på >20 (alltså över 20 % differens i absorbans mellan varje provs två brunnar) analyserades ytterligare en gång.



Figur 4. Nivåerna av kortikosteron i plasma från Wistarråttor 10 minuter efter induktion med isofluran analyserades med Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Bilden visar placering av 20 µl kontroller, standarder och provmaterial i respektive brunn som ett steg i ELISA-analysen. Foto av författaren.

3.7 Datahantering och statistisk analys

Data samlades in på protokoll i pappersformat och sammanställdes i Microsoft Excel (version 2410). Microsoft Excel användes även för att identifiera median och range för respektive behandlingsgrupp för intag av blandning, beteende under induktion (duration och frekvens), beteende under uppvakning (duration och frekvens), plasma-kortikosteron (P-kortikosteron) samt värdet för kvalité av induktion och uppvak (tid till LORR, tid till RORR, tid till första rörelsen och subjektiv bedömning induktion/uppvakning). Medelvärden för de tre sista PS innan induktion beräknades i Microsoft Excel, median och range sammanställdes därefter per grupp utifrån medelvärden.

Statistisk analys genomfördes i programmet InVivoStat (version 4.10, Bate & Clark 2014). Gräns för statistisk signifikans bestämdes till $p < 0,05$. Värden för intag av blandning, PS, beteende induktion/uppvak (duration och frekvens), P-kortikosteron samt kvalité av induktion/uppvak analyserades med Steel's test. Förekomst av urinering/defekering vid induktion och uppvak analyserades med Chi-Square test. Jämförelse av p-kortikosteron mellan könen genomfördes med One-Way ANOVA.

Resultatet presenteras med diagram och tabeller framtagna med Microsoft Excel och InVivoStat. Resultat i skriftlig form presenteras som median (range) om inget annat anges.

4. Resultat

4.1 Intag av premedicinering

Samtliga råttor lärde sig att inta Nutella™ inom 4 dagar, vilket motsvarade totalt sju träningstillfällen.

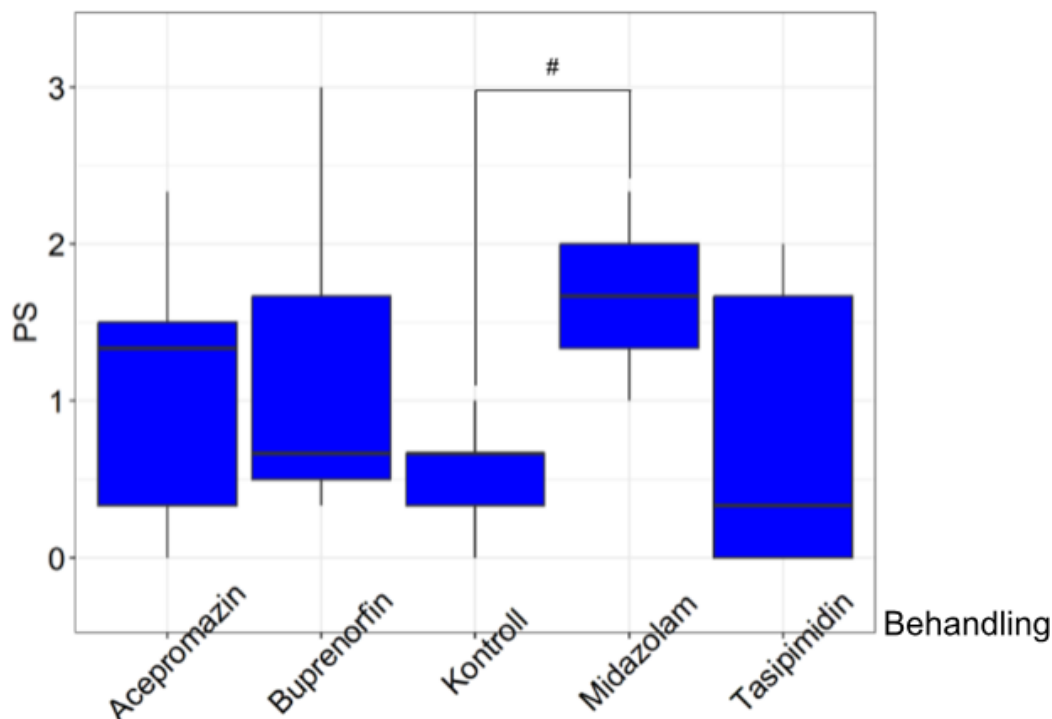
Alla råttor i grupp T åt upp hela blandningen på 36 s (29–56 s). I grupp B och K hamnade en liten del av blandningen i pälsen på en råtta i varje grupp, spillet slickades upp och därmed uppskattas dessa råttor att ha intagit minst 90 % av erbjuden blandning. Övriga råttor i grupp B och K intog hela blandningen utan spill, totalt som grupp åt B och K blandningen på 40 s (32–113 s) respektive 39 s (15–59 s). I grupp M var det en råtta som uppskattningsvis fick i sig minst 67 % av erbjuden blandning då resten hamnade i päls/på inredning vid administrering. Spillet slickades upp av både den premedicerade rättan samt burkamrater. Övriga råttor i grupp M intog hela blandningen utan spill och gruppen åt blandningen på 50 s (29–78 s).

I grupp A var det två råttor som frivilligt intog uppskattningsvis 70 % respektive >90 % av erbjuden blandning på 600 s. En råtta erbjöds en blandning innehållande 25 % mer Nutella™-volym i syfte att undersöka om denna åtgärd skulle öka smakligheten och minska tiden för intag av hela blandningen innehållande 15,00 mg/kg acepromazin; denna råtta åt uppskattningsvis 65 % av erbjuden dos på 600 s. De två sista rättorna i grupp A erbjöds en blandning på 11,25 mg/kg acepromazin med bibehållen totalvolym, dessa råttor åt upp all erbjuden blandning på 30 s respektive 40 s. Baserat på uppskattad intagen volym och förutsatt att blandningen var optimalt mixad intog samtliga råttor en dosering motsvarande 9,75–13,5 mg/kg acepromazin på maximalt 10 min.

4.2 Premedicinering

Ingen råtta fick PS på 5 eller 4, maximalt erhöll minst en råtta i varje grupp en PS på 3. Som lägst erhöll minst en råtta i varje grupp en PS på 0. Två råttor som administrerats midazolam uppvisade tydlig ataxi i hemburen så tidigt som 5–10 min efter avslutad administrering. PS 30 min efter administrering fattades för en råtta i grupp B och en råtta i grupp A.

I grupp A var medianen av PS 1,33 (0,00–2,33), 0,67 (0,33–3,00) i grupp B, 1,67 (1,00–2,33) i grupp M, 0,33 (0,00–2,00) i grupp T och 0,67 (0,00–1,00) i grupp K (se figur 5). Medianen av PS i grupp M var signifikant högre jämfört med grupp K ($p=0,04$). Övriga grupper visade ingen signifikant skillnad i PS jämfört med grupp K ($p>0,05$).



Figur 5. Score av beteende efter oral premedicinering av Wistarråttor med olika läkemedel. Låddiagram som visar median och range från de tre sista premedikations-score (PS) per behandlingsgrupp (n=5). Jämförelsen genomfördes mellan varje behandlingsgrupp och kontroll med den icke-parametriska Steel's test, #=statistisk signifikant skillnad ($p < 0.05$).

4.3 Beteende vid induktion

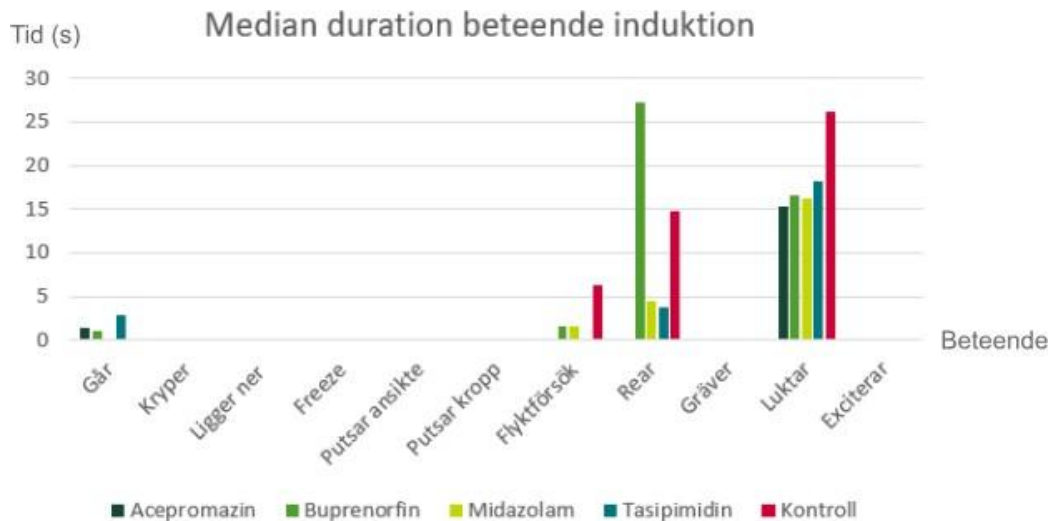
Ingen råtta uppvisade beteenden som "gräva", "krypa" eller "putsa kropp" under induktionen med isofluran. Två råttor, en från grupp T respektive B, uppvisade beteendet "putsa ansikte" och en råtta i grupp A uppvisade beteendet "excitation". En råtta från grupp T uppvisade beteendet "freeze" och två råttor, en från grupp M respektive T, uppvisade beteendet "ligger ner". Samtliga råttor uppvisade beteendet "lukta" minst en gång.

Data med beteende från induktionen fattas för en av råttorna i grupp B till följd av att kameran tippade under 15 s efter induktionens start. Om urinering och defekering skedde för denna råtta registrerades detta och presenteras nedan.

4.3.1 Duration av beteende vid induktion

Råttor från grupp B tenderade att utföra beteendet "rear" under längre tid än övriga grupper, men skillnaden visade sig ej vara signifikant jämfört med grupp K ($p 0,74$). Även beteendet "luktar" tenderade att ske under en längre duration i grupp K men visade sig ej vara signifikant jämfört med övriga grupper ($p 0,96-1,00$). Beteenden som "går" och "flyktförsök" visade sig inte heller ha en signifikant skillnad i duration mellan samtliga läkemedelsgrupper i jämförelse

med grupp K ($p=0,97-1,00$ respektive $p=0,23-0,88$). Medianen av varje registrerat beteendes duration från samtliga behandlingsgrupper under induktionen presenteras i figur 6.

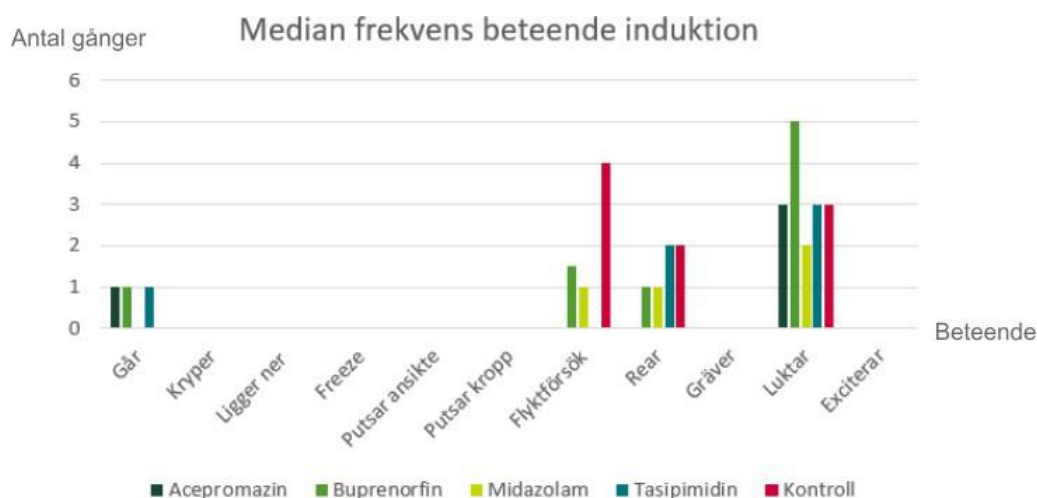


Figur 6. Registrerade beteenden hos Wistarråttor under induktion efter oral premedicinering med olika läkemedel. Stapeldiagram som visar median och duration i sekunder (s) av registrerade beteenden enligt modifierat etogram efter Burkholder et al. (2010) och Niel et al. (2006). De olika behandlingsgruppernas ($n=5$) resultat presenteras med olika färgkoder för varje analyserat beteende.

4.3.2 Frekvens av beteenden vid induktion

Flest antal beteenden som klassades som "flyktförsök" och "rear" (14 respektive 12 gånger) genomfördes av en råtta i grupp A som intog hela blandningen med 11,25 mg/kg acepromazin. Det var också endast denna råtta som uppvisade beteendet "excitation" under induktionen.

Ingen signifikant skillnad mellan frekvens av utförda beteenden som "går", "flyktförsök", "rear" och "luktat" kunde fastställas mellan någon läkemedelsgrupp och grupp K ($p=0,97-1,00$, $p=0,11-0,88$, $p=0,39-0,67$ respektive $p=0,28-0,97$). Medianen av varje registrerat beteendes frekvens från samtliga behandlingsgrupper under induktionen presenteras i figur 7.



Figur 7. Registrerade beteenden hos Wistarråttor under induktion efter oral premedicinering med olika läkemedel. Stapeldiagram som visar frekvens av registrerade beteenden enligt modifierat etogram efter Burkholder et al. (2010) och Niel et al. (2006). De olika behandlingsgruppernas (n=5) resultat presenteras med olika färgkoder för varje analyserat beteende.

4.3.3 Urinering och defekering vid induktion

Minst en råtta i varje behandlingsgrupp urinerade minst en gång under induktionen. Defekering registrerades endast hos råttor från grupp K. Även om förekomst av defekering tenderar att förekomma i högre grad bland råttor i grupp K kunde ingen signifikant skillnad ses mellan de olika behandlingsgrupperna vad gäller förekomst av vare sig urinering eller defekering under induktionen ($p=0,43-1,00$). Frekvens av urinering samt defekering i samtliga behandlingsgrupper under induktionen presenteras i tabell 2.

Tabell 2. Incidens av urinering och defekering under induktion med isofluran hos Wistarråttor premedicerade med olika läkemedel. Värdena anger antal råttor per behandlingsgrupp (n=5), där varje individ kunde registreras för högst ett tillfälle av urinering respektive defekering. Totalt ingick 5 individer i varje behandlingsgrupp.

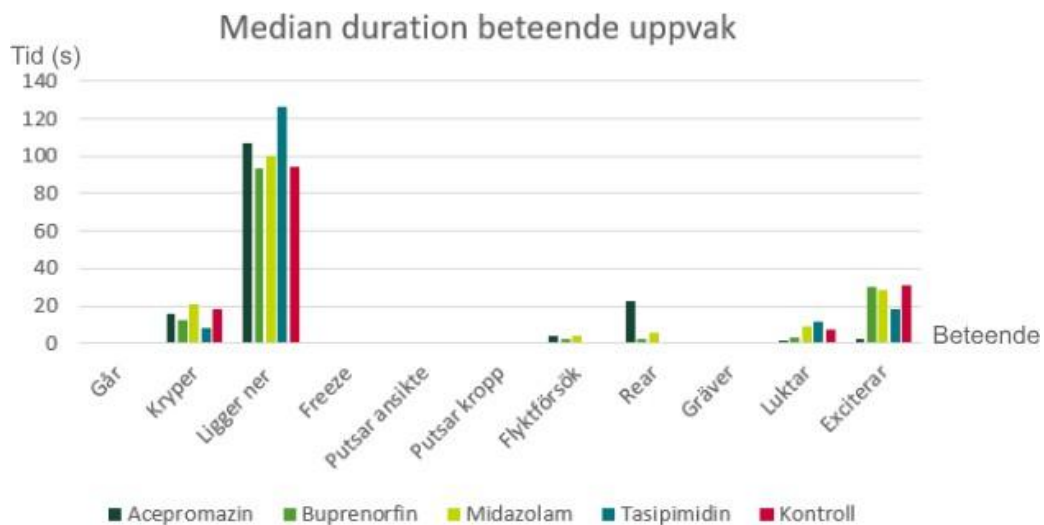
	Acepromazin	Buprenorfin	Midazolam	Tasipimidin	Kontroll
Urinering	3	3	1	2	2
Defekering	0	0	0	0	2

4.4 Beteende vid uppvakning

Under uppvakningen utförde samtliga råttor beteendet "ligger ner" under minst ett tillfälle i alla behandlingsgrupper. Endast två råttor utförde beteendet "går" och ingen råtta utförde beteenden såsom "freeze", "putsar ansikte", "putsar kropp" samt "gräva". En råtta från grupp A låg ner under hela den analyserade videoinspelningen, detta var ej samma råtta som uppvisade beteendet "excitation" under induktionen.

4.4.1 Duration av beteende vid uppvakning

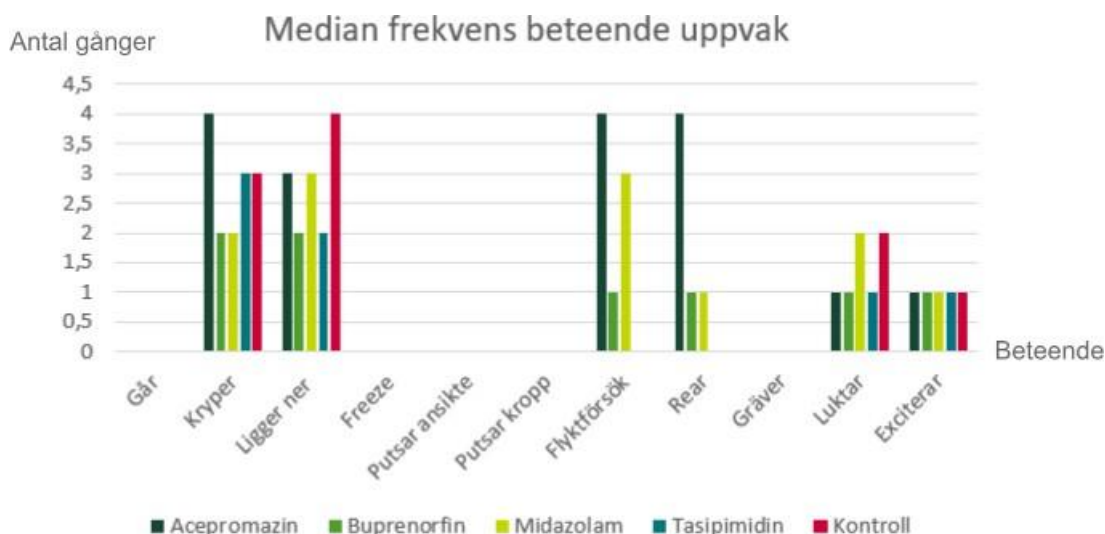
I jämförelse med grupp K uppvisade ingen läkemedelsgrupp en signifikant skillnad i duration av beteende "kryper", "ligger ner", "flyktförsök", "rear", "luktar" och "exciterar" ($p=0,88-1,00$, $p=0,96-1,00$, $p=0,67-1,00$, $p=0,37-1,00$, $p=0,96-1,00$ respektive $p=0,22-1,00$). Medianen av varje registrerat beteendes duration under uppvakningen presenteras i figur 8.



Figur 8. Registrerade beteenden under uppvak efter isoflurananestesi hos Wistarråttor som givits oral premedicinering med olika läkemedel. Stapeldiagram som visar median och duration i sekunder (s) av registrerade beteenden enligt modifierat etogram efter Burkholder et al. (2010) och Niel et al. (2006). De olika behandlingsgruppernas ($n=5$) resultat presenteras med olika färgkoder för varje analyserat beteende.

4.4.2 Frekvens av beteenden vid uppvakning

I jämförelse med grupp K uppvisade ingen läkemedelsgrupp en signifikant skillnad i frekvens av beteende "kryper", "ligger ner", "flyktförsök", "rear", "luktar" och "exciterar" ($p=0,88-1,00$, $p=0,11-0,99$, $p=0,52-1,00$, $p=0,44-1,00$, $p=0,92-0,99$ respektive $p=0,75-0,96$). Medianen av varje beteendes frekvens under uppvakningen presenteras i figur 9.



Figur 9. Registrerade beteenden under uppvak efter isoflurananestesi hos Wistarråttor som givits oral premedicinering med olika läkemedel. Stapeldiagram som visar frekvens av registrerade beteenden enligt modifierat etogram efter Burkholder et al. (2010) och Niel et al. (2006). De olika behandlingsgruppernas (n=5) resultat presenteras med olika färgkoder för varje analyserat beteende.

4.4.3 Urinering och defekering vid uppvakning

Minst en råtta från samtliga behandlingsgrupper urinerade under uppvakningen. Två råttor, en från grupp A och K, defekerade. Ingen signifikant skillnad i urinering eller defekering kunde ses mellan respektive läkemedelsgrupp och grupp K ($p=0,78-1,00$). Frekvens av urinering och defekering i samtliga behandlingsgrupper under uppvakningen presenteras i tabell 3.

Tabell 3. Incidens av urinering och defekering under uppvak efter isoflurananestesi hos Wistarråttor oralt premedicerade med olika läkemedel. Värdena anger antal råttor per behandlingsgrupp (n=5), där varje individ kunde registreras för högst ett tillfälle av urinering respektive defekering. Totalt ingick 5 individer i varje behandlingsgrupp.

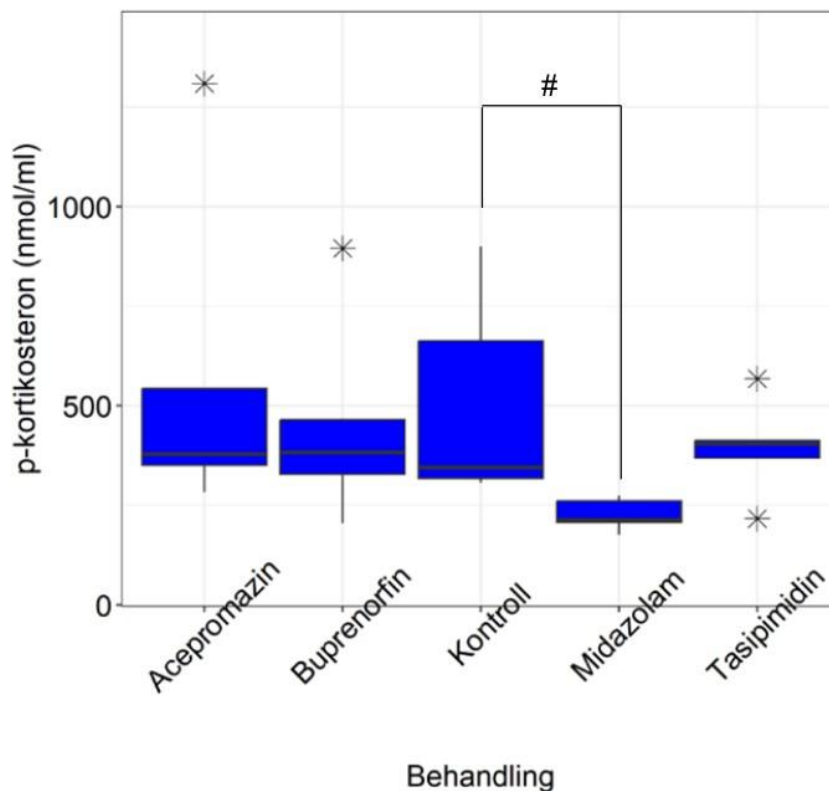
	Acephromazin	Buprenorfin	Midazolam	Tasipimidin	Kontroll
Urinering	1	2	2	3	3
Defekering	0	0	1	0	1

4.5 Kortikosteron efter induktion

Samtliga plasmaprover erhöll en absorbans med CV % <20. 5 av 25 prover fick en absorbans mellan standard 1 och standard 2, ett prov fick en absorbans mellan standard 4 och standard 5 medan absorbansen från resterande prover mättes mellan standard 2 och standard 3. Den högsta nivån av P-kortikosteron mättes hos en av råttorna i A-gruppen som intog >90 % av den erbjudna blandningen innehållande 15 mg/kg acepromazin.

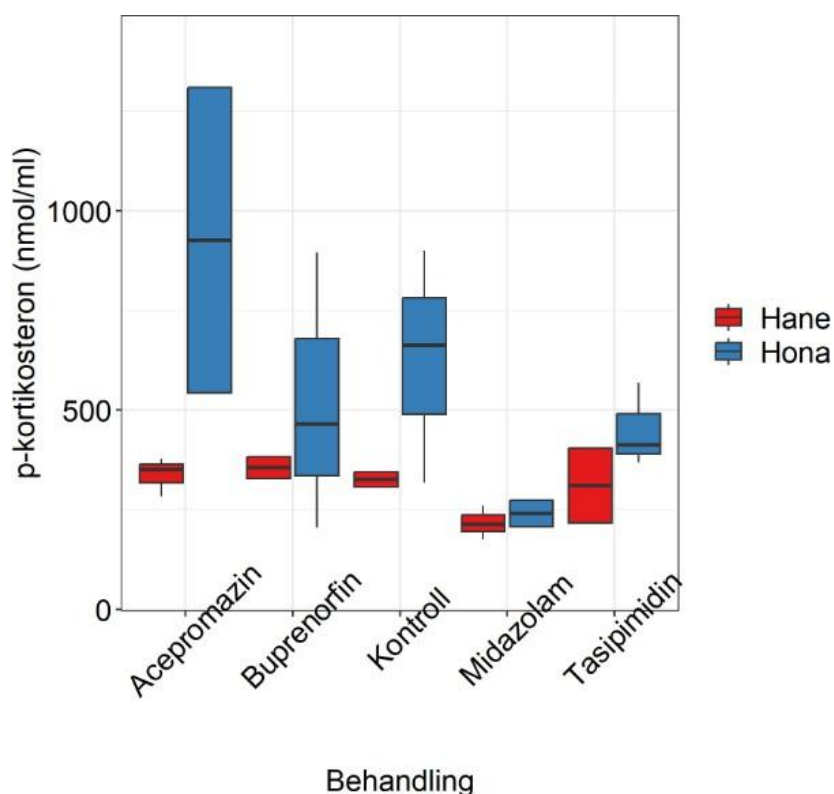
Nivåerna av P-kortikosteron mättes till 378 nanomol (nmol)/ml (282–1309 nmol/ml) i grupp A, 384 nmol/ml (205–895 nmol/ml) i grupp B, 214 nmol/ml (177–273 nmol/ml) i grupp M, 405 nmol/ml (217–568 nmol/ml) i grupp T och slutligen 345 nmol/ml (308–901 nmol/ml) i grupp K (se figur 10).

Kortikosteronnivåerna i plasma var signifikant lägre bland råttor i grupp M jämfört med råttor i grupp K ($p=0,03$). Övriga läkemedelsgrupper uppvisade ingen signifikant skillnad i kortikosteronnivåer jämfört med grupp K ($p=0,99–1,00$).



Figur 10. Nivåer av kortikosteron i plasma 10 minuter efter induktion med isofluran hos Wistarråttor oralt premedicerade med olika läkemedel. Låddiagram som visar median och range av plasmakortikosteron (p-kortikosteron) i nanomol per ml (nmol/ml) per behandlingsgrupp ($n=5$). Jämförelsen genomförde mellan varje behandlingsgrupp och kontroll med den icke-parametriska Steel's test, #=statistisk signifikant skillnad ($p<0,05$). *=outliers

När p-kortikosteron jämfördes mellan könen kunde statistiskt signifikanta skillnader ses. Honliga råttor hade signifikant högre p-kortikosteron efter jämförelse med hanliga råttor ($p=0,03$) (se figur 11).



Figur 11. Nivåer av kortikosteron i plasma 10 minuter efter induktion med isofluran hos Wistarråttor oralt premedicerade med olika läkemedel. Låddiagram som visar median och range av plasmakortikosteron (p-kortikosteron) i nanomol per ml (nmol/ml) per behandlingsgrupp (n=5) och kön. Jämförelsen genomförde mellan varje behandlingsgrupp och kontroll med den icke-parametriska Steel's test.

4.6 Kvalité induktion och uppvak

Induktionstid

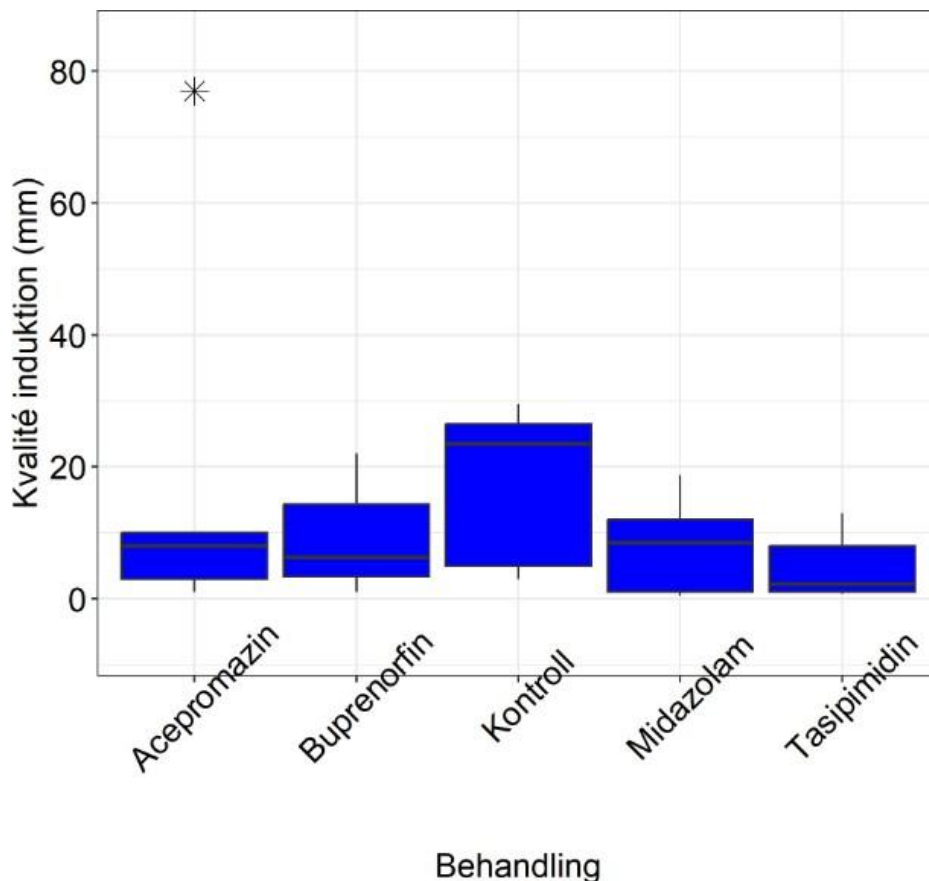
Induktionstiden uppmättes till 120 s (90–150 s) för grupp A, 98 s (74–145 s) för grupp B, 104 s (60–120 s) för grupp M, 80 s (75–144 s) för grupp T och 80 s (80–150 s) för grupp K. Ingen läkemedelsgrupp uppvisade en signifikant skillnad i induktionstid i jämförelse med kontrollgruppen ($p=0,81-0,98$).

Subjektiv bedömning av induktion

Likt för beteende under induktion, fattades data för subjektiv bedömning av induktionskvalitén hos en råtta i grupp B till följd av misslyckad filminspelning. En av bedömarna satte betyget 0,00 mm på totalt 12 råttor, den andra bedömaren satte det lägsta betyget 1,00 mm på totalt två råttor. Som högst satte bedömarna värdet 73,00 respektive 81,00 mm på en och samma råtta från grupp A.

Medianen uppmättes till 8 mm (1,00–77,00 mm) i grupp A, 6,25 mm (1,00–22,00 mm) i grupp B, 8,50 mm (0,50–18,75 mm) i grupp M, 2,25 mm (0,75–13,00 mm) i grupp T samt 23,50 mm (3,00–29,50 mm) i grupp K (se figur 12).

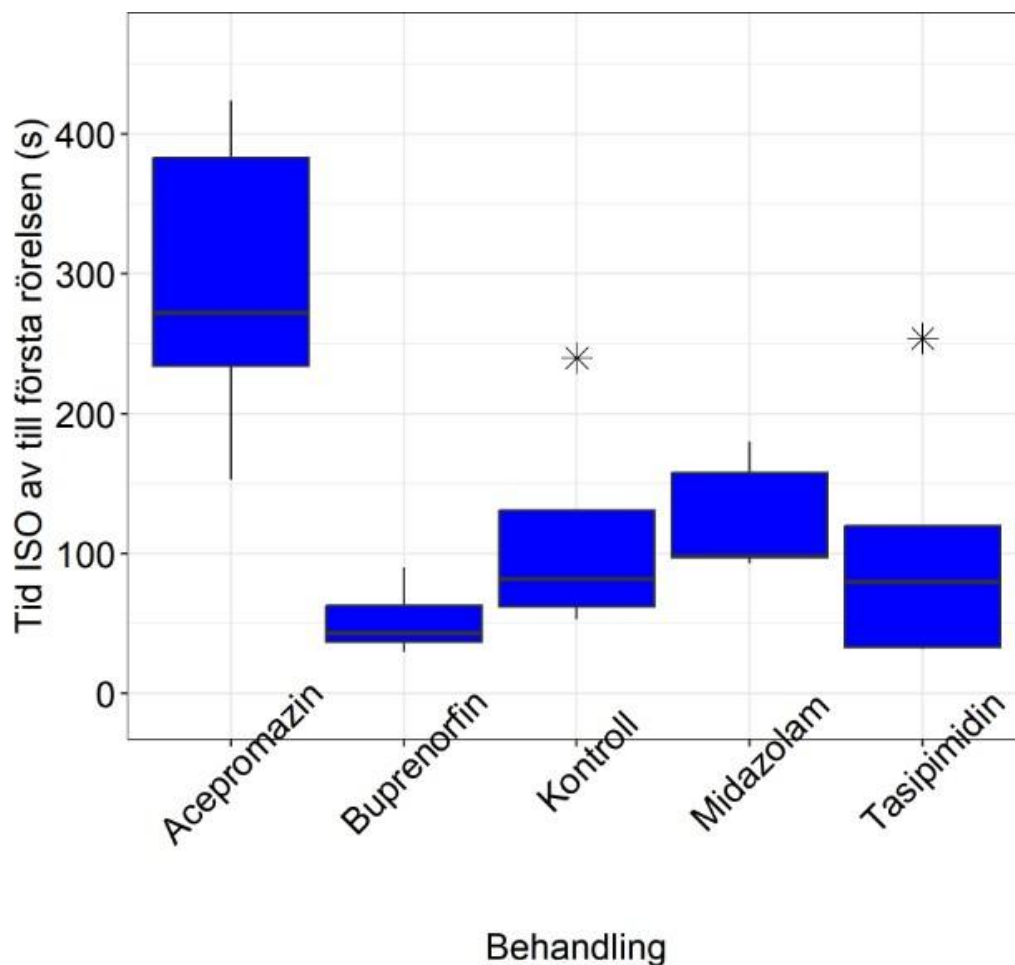
Ingen läkemedelsgrupp uppvisade en signifikant skillnad av den subjektiva bedömningen i jämförelse med grupp K (p 0,23–0,93).



Figur 12. Score av induktionskvalité med isofluran hos Wistarråttor oralt pre-medicinerade med olika läkemedel. Låddiagram som visar antal millimeter (mm) baserat på visuell analog skala (VAS) av subjektiv bedömning per behandlingsgrupp ($n=5$). Jämförelsen genomfördes mellan varje behandlingsgrupp och kontroll med den icke-parametriska Steel's test. *=outliers

Tid till första rörelsen

Råttor tillhörande grupp A tenderade att ta längre tid på sig att utföra första rörelsen (median 272 s, range 153–424s) efter avslutad isoflurantillförsel i jämförelse med grupp K (p 0,10). Längst tid till första rörelsen registrerades hos en av råttorna i grupp A. Denna råtta uppvisade heller inte RORR inom 10 min efter avslutad isoflurantillförsel. I grupp B uppvisade råttorna första rörelsen efter 43 s (30–90 s), 98 s (93–180 s) för grupp M, 80 s (32–254 s) för grupp T samt 82 s (53–240 s) för grupp K. Behandlingsgrupperna B, M och T uppvisade ingen signifikant skillnad i tid till första rörelsen i jämförelse med grupp K ($p=0,34$ –0,96). Resultatet i låddiagram presenteras i figur 13.



Figur 13. Tid till första rörelsen under uppvak efter isoflurananestesi hos Wistarråttor oralt premedicerade med olika läkemedel. Låddiagram som visar tid i sekunder (s) till första rörelsen efter att tillförsel av isofluran (ISO) avbrutits per behandlingsgrupp ($n=5$). Jämförelsen genomfördes mellan varje behandlingsgrupp och kontroll med den icke-parametriska Steel's test. *=outliers

Tid till RORR

Alla råttor från samtliga behandlingsgrupper utom en råtta från grupp A uppvisade RORR inom 10 min efter avslutad isoflurantillförsel; denna råtta erhöll därför värdet 600 s inom denna kategori. Det var även denna råtta som erhöll det högsta värdet p-kortikosteron av samtliga råttor. I grupp A uppvisade rättorna RORR på 302 s (165–600 s), 76 s (56–92 s) för grupp B, 121 s (114–193 s) för grupp M, 98 s (62–256 s) i grupp T samt 96 s (81–262 s) i grupp K. Ingen läkemedelsgrupp uppvisade en signifikant skillnad i tid till RORR i jämförelse med grupp K ($p=0,10-0,96$).

Subjektiv bedömning av uppvak

I den subjektiva bedömningen av uppvaket var ena bedömarens lägsta score 4,50 mm på en rätta, den andra bedömarens lägsta betyg var 1,00 mm på en annan rätta. Det högsta betyget av ena bedömarens var 88,00 mm på en rätta, den andra bedömarens högsta betyg var 96,00 mm på en annan rätta.

Sammantaget uppmättes medianen i grupp A till 28,75 mm (12,50–66,25 mm), 30,50 mm (17,50–81,25 mm) i grupp B, 35,00 mm (3,50–75,25 mm) i grupp M, 24,75 mm (22,25–90,00 mm) i grupp T samt 28,25 mm (9,25–69,25 mm) i grupp K. Ingen läkemedelsgrupp uppvisade en signifikant skillnad i medelvärde av den subjektiva bedömningen i jämförelse med grupp K ($p=0,89-1,00$).

5. Diskussion

Denna studie syftade till att undersöka vilka vanliga anxiolytiska läkemedel som råttor intar utblandade med Nutella™, vilken effekt detta intag har på vakenhetsgrad efter administrering samt beteende, kvalité och fysiologisk respons under induktion av och uppvakning efter isoflurananestesi.

Premedicinering och vakenhetsgrad

Ett tydligt resultat är att acepromazin vid koncentrationen 3,20 mg/ml blandning verkade minska smakligheten då råttor tvekade intag. I koncentration av 2,80 mg/ml intogs istället hela dosen acepromazin tillsammans med Nutella™ inom 1–2 minuter, vilket motsvarar en dosering på 11,25 mg/kg. Troligtvis hade råttorna intagit studiens måldos på 15,00 mg/kg acepromazin om blandningen erhöll en koncentration på 2,80 mg/ml istället för 3,20 mg/ml. Enligt doseringsrekommendationer av acepromazin till råttor sammanställt av Bennett & Lewis (2022) anges att acepromazin kan administreras intramuskulärt eller subkutant i doser om 0,50–2,50 mg/kg. Då den enterala biotillgängligheten av läkemedel ofta är lägre än vid parenteral administrering behövs ofta 10 gånger så stor dos av acepromazin för oralt bruk jämfört med injektion på bland annat hund (Fass 2023; Fass 2022). Samtliga råttor i grupp A intog alltså en oral dos acepromazin på >10 gånger det lägre intervallet av subkutana/intramuskulära dosrekommendationen utan synbar effekt på vakenhetsgraden. Ännu finns få studier som undersöker vilken oral dosering acepromazin som ger synbart sederande effekt bland råttor.

Flertalet studier har genomförts där intag av buprenorfin i granulatformat skett frivilligt tillsammans med Nutella™ (Abelson *et al.* 2012) och flytande med smaksatt jello (Flecknell *et al.* 1999), vilket denna studie visar vara möjligt även med flytande buprenorfinlösning i Nutella™. Midazolam i koncentration av ca 1,88 mg/ml verkade ej påverka smakligheten på blandningen jämfört med kontrollgruppen. Nutella™ tycks därför maskera den låga smakligheten som rapporterats från injicerbara midazolamlösningar (Salem *et al.* 2015).

Enligt litteraturen är beteendeförändringarna milda hos friska djur som behandlats enbart med midazolam (Posner 2018). I vår studie kunde däremot signifikanta beteendeförändringar med tydlig ataxi hos två av fem råttor efter premedikation observeras hos kliniskt friska individer efter midazolamgiva. Dessa resultat överensstämmer med Franco-Quino *et al.* (2021), som även noterade en sederande effekt på kliniskt friska möss efter oral administrering. Däremot är det viktigt att notera att bedömning av vakenhetsgrad i denna studie ej genomfördes blindat, vilket kan ha introducerat observationsbias och påverkat bedömningen av samtliga behandlingsgrupper.

För framtida studier rekommenderas vissa justeringar av metodiken i syfte att öka tillförlitligheten. Bedömning av vakenhetsgrad skulle förslagsvis kunna utföras av en oberoende bedömare omedveten om administrerat läkemedel. Bedömning skulle också underlättas om individuell kamerainspelning i separat bur användes för att inte missa viktig information. Råttorna som ingick i studien la sig gärna i grupp och vilade på varandra, vilket gjorde att den premedicinerade råttan emellanåt hamnade underst och därför blev svår att beteendeevaluera. Därför skulle beteendet av en ensam råtta inte påverkas i lika stor grad av burkamrater som när denna befinner sig i grupp. Däremot skulle syftet med minskad stressrelaterad hantering i studien ha gått förlorat om behandlad råtta separerats från hemburen vilket potentiellt skulle ha påverkat studiens övriga mätningar. I vissa fall premedicinerades endast en råtta i en grupp om fem individer och trängsel av samtliga råttor försvårade både administrering av blandning samt möjlighet att utföra beteenden i hemburen. Optimalt vore om det enbart förekom grupper om max två eller tre individer vid premedicinering.

P-kortikosteron

Samtliga plasmaprover analyserade för kortikosteron uppvisade en godtagbar CV % <20, vilket innebär att differensen i uppmätt absorption ej översteg 20 % mellan de två provbrunnarna. Några prov behövde analyseras två gånger då dessa inte hade en godtagbar CV% från första analysen. Enligt tillverkarna påverkas analysens sensitivitet till hög grad av att tvätt av brunnar sker korrekt och därför valdes maskinell tvättning före manuell tvättning. Sker inte tvättningen likadant i samtliga brunnar leder det till olika absorptionsvärden mellan brunnparen och därför lades extra noggrannhet under den upprepade analysen att samtliga brunnar var tillräckligt rena efter den maskinella rengöringen genom att slå ut eventuell kvarvarande substratlösning flertalet gånger. Ojämn brunntvätt skulle alltså möjligtvis kunna vara en felkälla till första analysens resultat.

I enstaka plasmaprover uppmättes en absorptions mellan standard 1 och standard 2, vilket innebär att dessa värden är extrapolerade från en standardkurva. Extrapolerade värden representerar inte det faktiska värdet helt och anses därför ej som godtagbara resultat vid diagnostiska mätningar. I denna studie syftade analysen till att jämföra eventuella skillnader i kortikosteronnivåer mellan olika behandlingsgrupper och därför ligger inte lika mycket värde vid att få ut exakta värden. Dessutom fanns endast en ELISA-platta att tillgå och begränsat antal brunnar, därav reanalyserades inte samtliga prov inom detta standardintervall. Ett sätt att i framtida studier förhindra att detta sker igen är att minska spädningen på plasmaproverna så att värdena hamnar mellan högre standarder.

Signifikanta skillnader i p-kortikosteron mellan könen kunde i vår studie observeras där honorna erhöll högre plasmanivåer. Honliga råttor har ofta högre nivåer av kortikosteron i blodet jämfört med hanliga råttor både innan och efter

stresstimulering (Atkinson & Waddell 1997). Green & McCormick (2016) har i sin reviewartikel undersökt vilka faktorer som kan ligga bakom dessa skillnader. Könshormoner såsom östrogen och aldosteron har stimulerande respektive hämmande effekter på HPA-aktivering, vilket skulle förklara den signifikanta skillnaden som vi i vår studie kan iaktta. För att minska variansen inom en behandlingsgrupp bör endast ett kön användas i framtida studier.

Analysen resulterade i signifikant lägre nivåer av p-kortikosteron bland råttor premedicerade med midazolam jämfört med kontrollgruppen och var också den behandlingsgrupp som erhöll lägst median av samtliga behandlingsgrupper. Däremot kunde förhöjda nivåer av p-kortikosteron ses hos alla behandlingsgrupper jämfört med ej stresstimulerade Wistarråttor (Djordjevic *et al.* 2007), vilket tyder på att någon form av fysiologisk stressstimulering skedde innan blodprovet togs. Utifrån denna studiedesign går det inte att avgöra huruvida de förhöjda p-kortikosteronnivåerna kommer från isofluranexponering, förflyttning till induktionskammare eller den hantering som krävdes för att möjliggöra transport till operationsrummet. Därför går det ej att dra slutsatsen att oral administrering av midazolam förhindrat fysiologisk stressrespons helt, däremot indikerar resultatet att den givna dosen midazolam kan ha haft viss hämmande effekt på HPA-axelns aktivering vid stresstimuli.

Absorptionen av midazolam tillsammans med smaklig vehikel påverkas till stor grad av vehikelns egenskaper, vilket inte tycks ha förhindrats av NutellansTM sammansättning i och med signifikanta resultat. pH kan vara en begränsande faktor till biotillgänglighet av midazolam efter oral administrering med vehikel och ett sänkt pH tenderar att minska upptaget och därmed också läkemedlets effekt hos både möss och hundar (Zang *et al.* 2002; Franco-Quino *et al.* 2021). Vilken inverkan NutellaTM har på upptaget av midazolam är fortfarande okänt.

Beteende och kvalité av induktion

Inget specifikt beteende utfördes signifikant längre eller oftare i någon av de olika grupperna. Under induktionen utförde alla råttor beteendet ”lukta”, vilket kan indikera en medvetenhet för doftförändringar i deras närmiljö. En råtta från grupp A uppvisade tecken på excitation under uppvaket, vilket eventuellt kan bero på extra nervös individ alternativt oönskad effekt av acepromazingivan då samtliga råttor inducerades med samma isoflurankoncentration och färskgasflöde.

Studier som undersökt små gnagares aversiva reaktioner på inhalationsgas har genomförts i öppna kammare där individen har haft flyktmöjligheter vid exponering (Leach *et al.* 2002; Boulanger Bertolus *et al.* 2015), vilket råttorna i vår studie inte hade. Istället utfördes beteendet ”flyktförsök” som ett sätt att undvika exponering, vilket tenderade utföras oftare av råttor i kontrollgruppen trots att ingen signifikant skillnad kunde detekteras. Därför kan det antas att kontrollgruppen kan ha upplevt exponeringen som mer aversiv än övriga grupper

men inga slutsatser om detta påstående kan dras från studieresultatet. Kulkarni & Hickman (2020) kunde notera en ökad aktivitet av råttor som utsätts för aversiva inhalationsgaser jämfört med kontrollgrupp. Beteenden som "rear" och "flyktförsök" var i vår studie de mest utförda beteendena under induktionen och tenderade att uppvisas i liknande omfattning då lyft av råttans överkropp var nödvändig för att nå upp till locket med nos/framtassar. Baserat på observation från Kulkarni & Hickman (2020) skulle utförandet av "rear" och "flyktförsök" alltså indikera på ökad aktivitet och därmed också ökad stressrelaterad upplevelse.

Sammantaget resulterade den subjektiva bedömningen i att endast en induktion fick VAS-score >50,00 mm, alltså var övriga råttors induktioner i samtliga behandlingsgrupper av bra kvalitet. Trots att ingen signifikant skillnad i bedömningen förelåg mellan behandlingsgrupperna tenderade kontrollgruppen att erhålla en sämre induktionskvalité i jämförelse med övriga grupper, vilket skulle kunna indikera att premedicinering med samtliga läkemedel hade en viss förbättrande effekt på induktion med isofluran.

Beteende och kvalitet av uppvakning

Inte heller under uppvaket kunde några statistiskt signifikanta skillnader i beteende påträffas, men sammantaget tenderade uppvakningarna ha en sämre kvalitet jämfört med induktionen, baserat på den subjektiva bedömningen. 19 av totalt 25 råttor uppvisade tecken på excitering, vilket är ett stadie som bör undvikas hos alla djurslag i syfte att minska skaderisken som det innebär när djuret utför icke frivilliga rörelser.

Risken för att individen hamnar i fas 2 (excitation) under uppvakning ökar om de anestetiska läkemedelseffekterna på CNS avtar långsamt. Chemali *et al.* (2015) menar att förlängd uppvakning kan kopplas till ökad ålder på råttor på grund av ökad känslighet för anestetikum. I denna studie sövdes råttor i åldrarna 24–26 månader respektive 6–8 månader med isofluran under 40 min och de äldre råttorna tog där längre tid på sig att återfå medvetandet. Råttor som deltog i vår studie var mellan 3–6 månader gamla och bör enligt Chemali *et al.* (2015) räknas som "unga" och ska därför inte associeras med förlängd uppvakning kopplat till enbart ålder. Cascella *et al.* (2020) menar att förlängd uppvakning även kan bero på bland annat felaktig dosering av benzodiazepiner och opioider i kombination med metabola brister på människor. Ingen skillnad kunde dock ses i frekvens eller duration av excitation under uppvaket kopplat till föregående premedicinering hos råttorna i vår studie.

Konklusion

Baserat på resultat från denna studie, har midazolam utblandat med NutellaTM visat sig ha potential som en smaklig oral premedicering till råttor vid isoflurananestesi med minimal hantering i syfte att minska fysiologiskt

stresspåslag i samband med induktion. Oralt intag av midazolam visade sig både ge upphov till signifikant lägre nivåer av p-kortikosteron efter induktion samt tydlig sederande effekt.

Ökad induktionskvalité tenderade att förekomma i alla grupper som premedicinerats oralt. Ytterligare studier med fler djur och flera olika doser av olika premedicineringsprotokoll, samt helt oberoende bedömare krävs för att säkerställa om frivilligt oralt intag av premedicinering kan vara användbart för att minska stress i samband med isoflurananestesi.

Ingen statistiskt signifikant skillnad i beteende eller kvalité kunde ses mellan de olika behandlingsgrupperna under uppvaket. Hög förekomst av excitation förekom under uppvakning från isoflurananestesi, som enligt vår studies resultat ej kan kopplas till specifikt premedikament. Ytterligare studier på faktorer till postanestetisk excitation och förlängt uppvak på råttor är motiverat för ökad förståelse och förbättrad djurvälstånd.

Referenser

- Abelson, K.S.P., Jacobsen, K.R., Sundbom, R., Kalliokoski, O. & Hau, J. (2012). Voluntary ingestion of nut paste for administration of buprenorphine in rats and mice. *Laboratory Animals*, 46 (4), 349–351. <https://doi.org/10.1258/la.2012.012028>
- Adami, C., Bergadano, A. & Casoni, D. (2023). Chapter 5 - Tranquilizers, sedatives, local anaesthetics and antimuscarinic agents. I: Dyson, M.C., Jirkof, P., Lofgren, J., Nunamaker, E.A., & Pang, D. (red.) *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals*. 3rd ed., Academic Press. 87–107. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822215-7.00029-9>
- Atkinson, H.C. & Waddell, B.J. (1997). Circadian variation in basal plasma corticosterone and adrenocorticotropin in the rat: Sexual dimorphism and changes across the estrous cycle. *Endocrinology*, 138 (9), 3842–8. <https://doi.org/10.1210/endo.138.9.5395>
- Bate, S.T. & Clark, R.A. (2014). *InVivoStat (4.10)*. [Programvara] Cambridge University Press. <https://invivostat.co.uk> [2024-10-29]
- Bennett, K. & Lewis, K. (2022). Sedation and anesthesia in rodents. *The Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice*, 25 (1), 211–255. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2021.08.013>
- Boulanger Bertolus, J., Nemeth, G., Makowska, I.J. & Weary, D.M. (2015). Rat aversion to sevoflurane and isoflurane. *Applied Animal Behaviour Science*, 164, 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.12.013>
- Brewster, D., Humphrey, M.J. & Mcleavy, M.A. (1981). The systemic bioavailability of buprenorphine by various routes of administration. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 33 (1), 500–506. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1981.tb13848.x>
- Burkholder, T.H., Niel, L., Weed, J.L., Brinster, L.R., Bacher, J.D. & Foltz, C.J. (2010). Comparison of carbon dioxide and argon euthanasia: effects on behavior, heart rate, and respiratory lesions in rats. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS*, 49 (4), 448–453
- Carter, J.E., Lewis, C. & Beths, T. (2013). Onset and quality of sedation after intramuscular administration of dexmedetomidine and hydromorphone in various muscle groups in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243 (11), 1569–1572. <https://doi.org/10.2460/javma.243.11.1569>
- Cascella, M., Bimonte, S. & Di Napoli, R. (2020). Delayed emergence from anesthesia: What we know and how we act. *Local and Regional Anesthesia*, 13, 195–206. <https://doi.org/10.2147/LRA.S230728>
- Chemali, J.J., Kenny, J.D., Olutola, O., Taylor, N.E., Kimchi, E.Y., Purdon, P.L., Brown, E.N. & Solt, K. (2015). Ageing delays emergence from general anaesthesia in rats by increasing anaesthetic sensitivity in the brain†. *BJA: British Journal of Anaesthesia*, 115 (suppl_1), i58–i65. <https://doi.org/10.1093/bja/aev112>

- Djurförsök.info (2022). *Råtta - Djurförsök*. <https://djurforsok.info/djuren/vilka-djur/sa-anvands-olika-djurslag/ratta> [2024-10-30]
- Djordjevic, J., Vuckovic, T., Jasnic, N. & Cvijic, G. (2007). Effect of various stressors on the blood ACTH and corticosterone concentration in normotensive Wistar and spontaneously hypertensive Wistar-Kyoto rats. *General and Comparative Endocrinology*, 153 (1), 217–220. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2007.02.004>
- Dugdale, A. (2010). *Veterinary Anaesthesia: Principles to Practice*. 1st ed., Blackwell Pub.
- Enomoto, H., Love, L., Madsen, M., Wallace, A. & Messenger, K.M. (2022). Pharmacokinetics of intravenous, oral transmucosal, and intranasal buprenorphine in healthy male dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 45 (4), 358–365. <https://doi.org/10.1111/jvp.13056>
- Europaparlamentets och rådets direktiv (EU) 2010/63 av den 22 september 2010 om skydd av djur som används för vetenskapliga ändamål (EUT L 276, 20.10.2010, s. 33-79). <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj/eng> [2024-10-30]
- Fass (2021). *Tessie*. <https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20191129000027> [2024-11-07]
- Fass (2022). *Promased*. <https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20220107000046> [2024-12-09]
- Fass (2023). *Plegicil® vet*. <https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=19571206000029> [2024-12-09]
- Flecknell, P. (2009). *Laboratory Animal Anaesthesia*. 3rd ed. Elsevier Science & Technology. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-369376-1.X0001-9>
- Flecknell, P.A. (2023). *Laboratory Animal Anaesthesia and Analgesia*. 5th edition. Academic Press.
- 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), 169–174. <https://doi.org/10.1258/002367799780578381>
- Franco-Quino, C., Chavez-Rimache, L., Aponte-Laban, A., Borda-Mendoza, E., Gonzales-Camacho, C., Chumpitaz-Cerrate, V. & Herrera-Calderon, O. (2021). Sedative effect of midazolam in different vehicles for oral administration. *Indian Journal of Dental Research: Official Publication of Indian Society for Dental Research*, 32 (4), 438–442. https://doi.org/10.4103/ijdr.IJDR_977_20
- Friard, O. & Gamba, M. (2016). BORIS: a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods in Ecology and Evolution*, 7 (11), 1325-1330. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12584>

- Frost, K., Shah, M., Leung, V.S.Y. & Pang, D.S.J. (2020). Aversion to desflurane and isoflurane in Sprague-Dawley rats (*Rattus norvegicus*). *Animals*, 10 (6), 950. <https://doi.org/10.3390/ani10060950>
- Garrett, E.R. & Chandran, V.R. (1990). Pharmacokinetics of morphine and its surrogates. X: Analyses and pharmacokinetics of buprenorphine in dogs. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 11 (4), 311–350. <https://doi.org/10.1002/bdd.2510110403>
- Goldkuhl, R., Carlsson, H.-E., Hau, J. & Abelson, K.S.P. (2008). Effect of subcutaneous injection and oral voluntary ingestion of buprenorphine on post-operative serum corticosterone levels in male rats. *European Surgical Research. Europäische Chirurgische Forschung. Recherches Chirurgicales Europeennes*, 41 (3), 272–278. <https://doi.org/10.1159/000142372>
- Green, M.R. & McCormick, C.M. (2016). Sex and stress steroids in adolescence: Gonadal regulation of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in the rat. *General and Comparative Endocrinology*, 234, 110–116. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.02.004>
- Grimm, K.A. (2015). *Veterinary Anesthesia and Analgesia: The Fifth Edition of Lumb and Jones*. Wiley Blackwell.
- Hackbarth, H., Küppers, N. & Bohnet, W. (2000). Euthanasia of rats with carbon dioxide-animal welfare aspects. *Laboratory Animals*, 34 (1), 91–96. <https://doi.org/10.1258/002367700780578055>
- Hashem, A. & Keller, H. (1993). Disposition, bioavailability and clinical efficacy of orally administered acepromazine in the horse. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 16 (3), 359–368. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.1993.tb00183.x>
- Hashem, A., Kietzmann, M. & Scherkl, R. (1992). [The pharmacokinetics and bioavailability of acepromazine in the plasma of dogs]. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, 99 (10), 396–398
- Jordbruksverket (2024). *Det här är 3R*. <https://jordbruksverket.se/djur/ovriga-djur/forsoksdjur-och-djurforsok/sveriges-3r-center/det-har-ar-3r> [2024-10-30]
- Kuhlman, J.J., Lalani, S., Magluilo, J., Levine, B., Darwin, W.D., Johnson, R.E. & Cone, E.J. (1996). Human pharmacokinetics of intravenous, sublingual, and buccal buprenorphine. *Journal of Analytical Toxicology*, 20 (6), 369–378. <https://doi.org/10.1093/jat/20.6.369>
- Kulkarni, S. & Hickman, D. (2020). Isoflurane and carbon dioxide elicit similar behavioral responses in rats. *Animals: an open access journal from MDPI*, 10 (8), 1431. <https://doi.org/10.3390/ani10081431>
- Lau, C.E., Ma, F., Wang, Y. & Smith, C. (1996). Pharmacokinetics and bioavailability of midazolam after intravenous, subcutaneous, intraperitoneal and oral administration under a chronic food-limited regimen: relating DRL performance to pharmacokinetics. *Psychopharmacology*, 126 (3), 241–248. <https://doi.org/10.1007/BF02246454>

- Leach, M.C., Bowell, V.A., Allan, T.F. & Morton, D.B. (2002). Degrees of aversion shown by rats and mice to different concentrations of inhalational anaesthetics. *Veterinary Record*, 150 (26), 808–815. <https://doi.org/10.1136/vr.150.26.808>
- Lensen, J.F.M., Hyttilä-Hopponen, M., Karlsson, S., Kuosmanen, T., Lehtimäki, J. & Leino, T. (2021). Characterization of urothelial inclusions in male Wistar Han rats treated orally with the novel α 2a-adrenoceptor agonist tasipimidine. *Toxicologic Pathology*, 49 (7), 1232–1242. <https://doi.org/10.1177/01926233211027471>
- Makowska, I.J. & Weary, D.M. (2009). Rat aversion to induction with inhalant anaesthetics. *Applied Animal Behaviour Science*, 119 (3), 229–235. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2009.04.003>
- Mandema, J.W., Tukker, E. & Danhof, M. (1991). Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of the EEG effects of midazolam in individual rats: influence of rate and route of administration. *British Journal of Pharmacology*, 102 (3), 663–668. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1991.tb12230.x>
- Marquet, P. (2002). Pharmacology of High-Dose Buprenorphine. I: Kintz, P. & Marquet, P. (red.) *Buprenorphine Therapy of Opiate Addiction*. Humana Press. 1–11. https://doi.org/10.1007/978-1-59259-282-1_1
- McKinney, M.M., Dupont, W.D., Corson, K.J., Wallace, J.M. & Jones, C.P. (2022). Physiologic and behavioral effects in mice anesthetized with isoflurane in a red-tinted or a traditional translucent chamber. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS*, 61 (4), 322–332. <https://doi.org/10.30802/AALAS-JAALAS-22-000011>
- Miguelena Chamorro, B., Swaminathan, G., Mundt, E. & Paul, S. (2023). Towards more translatable research: Exploring alternatives to gavage as the oral administration route of vaccines in rodents for improved animal welfare and human relevance. *Lab Animal*, 52 (9), 195–197. <https://doi.org/10.1038/s41684-023-01232-y>
- Nguyen, V., Tiemann, D., Park, E. & Salehi, A. (2017). Alpha-2 agonists. *Anesthesiology Clinics*, 35 (2), 233–245. <https://doi.org/10.1016/j.anclin.2017.01.009>
- Niel, L. & Weary, D.M. (2006). Behavioural responses of rats to gradual-fill carbon dioxide euthanasia and reduced oxygen concentrations. *Applied Animal Behaviour Science*, 100 (3–4), 295–308. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2005.12.001>
- Pascoe, P.J. & Steffey, E.P. (2018). Introduction to Drugs Acting on the Central Nervous System and Principles of Anesthesiology. I: Riviere, J.E. & Papich, M.G. (red.) *Veterinary Pharmacology & Therapeutics*. John Wiley & Sons. 343–386.
- Plumb, D.C.. (2008). *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. 6th ed., Blackwell Publishing.
- Posner, L. P. (2018). Sedatives and Tranquilizers. I: Riviere, J.E. & Papich, M.G. (red.) *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. John Wiley & Sons. 611–679.
- Remie, R. (2016). Anaesthesia in Laboratory Animals. I: Andersen, M., Tufik, S. (red.) *Rodent Model as Tools in Ethical Biomedical Research*. Springer, Cham. 113–127. https://doi.org/10.1007/978-3-319-11578-8_9

- Riviere, J.E. (2018). Absorption, Distribution, Metabolism, and Elimination. I: Riviere, J.E. & Papich, M.G. (red.) *Veterinary Pharmacology & Therapeutics*. John Wiley & Sons. 84-143.
- Salem, K., Kamranzadeh, S., Kousha, M., Shaeghi, S. & AbdollahGorgi, F. (2015). Two oral midazolam preparations in pediatric dental patients: A prospective randomised clinical trial. *International Journal of Pediatrics*, 2015, 349795. <https://doi.org/10.1155/2015/349795>
- Schalbetter, S.M., Mueller, F.S., Scarborough, J., Richetto, J., Weber-Stadlbauer, U., Meyer, U. & Notter, T. (2021). Oral application of clozapine-N-oxide using the micropipette-guided drug administration (MDA) method in mouse DREADD systems. *Lab Animal*, 50 (3), 69–75. <https://doi.org/10.1038/s41684-021-00723-0>
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O. & Hove, K. (2016). *Physiology of Domestic Animals*. 3rd ed., Scandinavian Veterinary Press.
- Smith, S.M. & Vale, W.W. (2006). The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 8 (4), 383–395. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2006.8.4/ssmith>
- Tsukamoto, A., Uchida, K., Maesato, S., Sato, R., Kanai, E. & Inomata, T. (2016). Combining isoflurane anesthesia with midazolam and butorphanol in rats. *Experimental Animals*, 65 (3), 223–230. <https://doi.org/10.1538/expanim.15-0113>
- Turner, P.V., Brabb, T., Pekow, C. & Vasbinder, M.A. (2011). Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 50 (5)
- Wong, D., Makowska, I.J. & Weary, D.M. (2013). Rat aversion to isoflurane versus carbon dioxide. *Biology Letters*, 9 (1), 20121000. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2012.1000>
- Zhang, J., Niu, S., Zhang, H. & Streisand, J.B. (2002). Oral mucosal absorption of midazolam in dogs is strongly pH dependent. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 91 (4), 980–982. <https://doi.org/10.1002/jps.10079>

Populärvetenskaplig sammanfattning

Råttan är ett av de vanligaste djurslagen som används i forskningssammanhang. Forskare och personal som arbetar med djurförsök har en skyldighet enligt rådande EU-direktiv att förbättra studiedesign och hantering av djuren så att försöksprocessen för dessa blir så stressfri som möjligt. Ett vanligt moment inom flera olika typer av försök är att lägga djuret i narkos. Processen där djuret går från vaket tillstånd till medvetslöshet till följd av exponering för sövande läkemedel kallas för induktion, och där djuret går från medvetslöshet till vaket tillstånd kallas för uppvakning. Ett vanligt sätt att inducera narkos på små gnagare är att exponera dessa direkt för narkosgas i vaket tillstånd i en sluten kammare. En av de mest förekommande narkosgaserna som används inom human- och veterinärmedicinen är isofluran, vilken har en distinkt doft och kan upplevas som irriterande på luftvägarna vid inandning. Studier har visat att små gnagare som exponeras för isofluran undviker utrymmen där gasen förekommer. I de studier där små gnagare inte kan fly undan isofluranexponering har dessa istället uppvisat stressrelaterade beteenden. Detta tyder på att små gnagare upplever induktion med isofluran som obehagligt och stressande.

Ett sätt att minska stress och oro vid exponering av isofluran är att medicinera djuret med lugnande och ångestdämpande läkemedel innan induktion. Denna metod kallas för premedicinering och används flitigt på veterinärkliniker, men inte i lika stor utsträckning inom forskning. Vanligtvis injiceras premedicineringen under huden eller i en muskel, eller vanligtvis i magen på råttor. Dock har det observerats att den fasthållning av små gnagare som krävs för att kunna injicera läkemedel i sig själv är stressande. På senare tid har det diskuterats huruvida medicinering via munnen, genom att blanda ut läkemedlet med smaklig föda, är ett lämpligt och stressfritt alternativ till injektion.

Då premedicinering utblandat i smaklig föda potentiellt sett skulle kunna minska stress bland små gnagare undersökte denna studie vilka vanliga lugnande och ångestdämpande läkemedel som råttor intar utblandat med Nutella™. I denna studie undersöktes även om intaget av dessa läkemedel via munnen har effekt på råttornas beteende och kvalité vid induktion och uppvakning efter isofluran-narkos. Blodprov togs från varje råtta efter induktion för att mäta hormonet kortikosteron som normalt stiger vid stress.

Totalt ingick 25 råttor i studien. Dessa delades upp i grupper om fem individer som premedicinerades med antingen acepromazin, buprenorfin, midazolam eller tasipimidin. Den femte gruppen behandlades enbart med Nutella™ utblandat med vatten i syfte att jämföra data från de övriga grupperna med denna kontrollgrupp. Acepromazin, buprenorfin, midazolam och tasipimidin verkar alla på nervsystemet på olika sätt. Acepromazin och midazolam används främst för deras ångestdämpande effekter, medan buprenorfin kan användas för att framkalla

potent smärtlindring samt har en lugnande effekt i höga doser. Tasipimidin används främst för dess lugnande effekt, men ger även lite smärtlindring. Efter att råttorna intagit Nutella™ och läkemedel/vatten betygsattes råttornas beteende 1–5 var femte minut fram till och med 15 min efter medicinering för råttor som fått midazolam, tasipimidin och bara Nutella™. Grupperna som medicinerats med acepromazin och buprenofin betygsattes var femte minut fram till och med 30 min efter medicinering då dessa läkemedel tar längre tid till effekt enligt litteraturen. Ju högre betyg desto tydligare lugnande effekt hade premedicineringen. Då råttorna evaluerades under olika lång tid efter premedicinering så jämfördes de tre sista beteendepoängen från varje råtta.

Varje induktion och uppvakning filminspelades för att i efterhand beteendeanalyseras enligt ett förbestämt beteendeschema som inkluderar vanliga stressrelaterade beteenden bland små gnagare. Även två oberoende bedömare med erfarenhet av narkos på små gnagare analyserade varje filminspelning för bedömning av kvalitet av både induktion och uppvakning. Varje råtta låg i narkos under cirka 15 minuter var och 10 minuter efter induktion togs blodprov från samtliga råttor. Tid till medvetslöshet, tid till första rörelsen under uppvakningen och tid till bröstläge under uppvakningen registrerades och jämfördes med övriga grupper.

Studien visade att acepromazin i koncentrationer om 3,2 mg/ml tenderade att vara osmaklig för råttor att inta tillsammans med Nutella™, medan övriga läkemedelsblandningar åts upp inom några få minuter. Endast premedikation med midazolam visade en tydlig lugnande effekt jämfört med kontrollgruppen. Ingen skillnad kunde ses i vare sig beteende eller kvalitet under induktion och uppvakning. Inte heller kunde någon tydlig skillnad ses mellan grupperna i tid till medvetslöshet, tid till första rörelsen eller tid till bröstläge. När nivåerna av stresshormonet kortikosteron jämfördes mellan grupperna kunde signifikant lägre nivåer ses hos de råttor som premedicerats med midazolam jämfört med kontrollgruppen.

Studiens resultat indikerar alltså att midazolam har potential som en smaklig oral premedicinering till råtta om detta intas tillsammans med Nutella™ innan anestesiinduktion. Fler studier som inkluderar fler djur och flera olika läkemedelsdoser behöver genomföras för att undersöka om oral premedicinering påverkar beteendet och kvalitet av induktion och uppvakning vid gasanestesi.

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU kan publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver i sådana fall godkänna publiceringen. I samband med att du godkänner publicering kommer SLU även att behandla dina personuppgifter (namn) för att göra arbetet sökbart på internet. Du kan närsomhelst återkalla ditt godkännande genom att kontakta biblioteket.

Även om du väljer att inte publicera arbetet eller återkallar ditt godkännande så kommer det arkiveras digitalt enligt arkivlagstiftningen.

Du hittar länkar till SLU:s publiceringsavtal och SLU:s behandling av personuppgifter och dina rättigheter på den här sidan:

- <https://libanswers.slu.se/sv/faq/228316>

☒ JA, jag har läst och godkänner avtalet för publicering samt den personuppgiftsbehandling som sker i samband med detta

☐ NEJ, jag ger inte min tillåtelse till att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.