

# Påverkar EAP sederingsgraden av detomidin hos häst?

*Frida Karlsson*



*Uppsala  
2015*

*Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet*

*ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2015:7*



# Påverkar EAP sederingsgraden av detomidin hos häst?

Does EAP affect the degree of sedation of detomidine in horses?

*Frida Karlsson*

*Handledare: Anna Edner, Institutionen för Kliniska Vetenskaper*

*Examinator: Görel Nyman, Institutionen för Kliniska Vetenskaper*

*Examensarbete i veterinärmedicin*

*Omfattning: 30 hp*

*Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E*

*Kurskod: EX0736*

*Utgivningsort: Uppsala*

*Utgivningsår: 2015*

*Delnummer i serie: Examensarbete 2015:7*

*ISSN: 1652-8697*

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

*Nyckelord: EAP, equine appeasing pheromone, detomidin, sederingsgrad, häst*

*Key words: EAP, equine appeasing pheromone, detomidine, degree of sedation, horse*

**Sveriges lantbruksuniversitet**  
**Swedish University of Agricultural Sciences**

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för Kliniska Vetenskaper



## **SAMMANFATTNING**

Equine appeasing pheromone (EAP) är ett feromon som avges vid juverområdet på ston under digivningsperioden. Detta feromon har framställts syntetiskt och ingår i produkten ConfidenceEQ som går att köpa receptfritt på apotek och kliniker. Produkten ska göra hästen avspänd och fokuserad och kan användas vid till exempel inläring och träning samt vid situationer där hästen visar tecken på oro.

Situationer där hästägaren själv kan välja att använda EAP är till exempel inför transport, veterinärbesök, hovslagarbesök eller tandundersökningar. Ibland kan detta vara situationer där veterinär sedan behöver sedera hästen för att det ska gå att genomföra vissa undersökningar och behandlingar. Det är därför intressant att undersöka om EAP påverkar sederingsgraden av detomidin, en vanligt förekommande substans för sedering av häst.

För att undersöka om EAP påverkar sederingsgraden med detomidin hos häst utfördes en trippelblindad, experimentell, prospektiv, crossover-studie där 8 hästar ingick. Hästarna behandlades med placebo-gel respektive EAP-gel som applicerades i nedre delen av nosborrharna 30 minuter innan sedering med 10 $\mu$ g/kg kroppsvikt detomidin intravenöst. För att bedöma sederingsgraden hos hästarna noterades huvudhöjd-över-golvet, allmän sederingsgrad, separering av läppar, kroppshållning, ataxi, reaktion på ljud och beröring, mekaniska nociceptiva tröskelvärden, hjärtfrekvens, andningsfrekvens och blodtryck. Värden registrerades innan (baseline) och 30 min efter administration av EAP, samt vid upprepade tillfällen upp till 90 minuter efter detomidin givits. Hypotesen var att hästarna som behandlats med EAP innan sedering med detomidin skulle uppvisa en högre grad och längre duration av sedering.

Ingen statistiskt signifikant skillnad mellan behandling med EAP eller placebo kunde påvisas för någon av variablerna. Slutsatsen blir att EAP inte påverkar sederingsgraden i så pass stor utsträckning att det är något man behöver ta i beaktande när hästar som nyligen behandlats med EAP ska sederas med detomidin.

## **SUMMARY**

Equine appeasing pheromone (EAP) is a pheromone produced in the area of the mare's udder during the foals suckling period. This pheromone is synthetically produced and is as such presented in the product ConfidenceEQ. A product you can buy without prescription at pharmacies and horse clinics. This product will make the horse relaxed and focused and can be used during learning and training as well as situations that make the horse uneasy.

Situations where the owner of the horse can choose to use EAP are for example during transportation, veterinary visits, farrier visits and oral examination. These are situations where a veterinarian also needs to sedate the horse to accomplish certain examinations and treatments. It's therefore interesting to examine whether EAP can affect the degree of sedation on a horse sedated with detomidine, a commonly used substance in sedation of horses.

A triple blind experimental prospective crossover study with 8 horses was done to examine whether EAP can affect the degree of sedation on a horse sedated with detomidine. The horses were treated with placebo gel or EAP gel, applicated at the rostral part of the nostrils, 30 minutes before sedation intravenously with 10µg/kg detomidine. To evaluate the horses degree of sedation the head height above the ground, sedation score, lip separation, posture, ataxia, reaction towards noise and touch, mechanical nociceptive thresholds, heart rate, respiratory rate and blood pressure where noted. Measurements were done before (base line) and 30 minutes after administration of EAP, and at different time points during 90 minutes after detomidine was given. The hypothesis for this study was that horses given EAP before sedation with detomidine would show a higher degree of sedation and have longer duration of sedation then horses given placebo.

No statistically significant difference between treatment with placebo or EAP could be detected for the registered variables. The conclusion is that treatment with EAP doesn't affect the degree of sedation in such a magnitude that it has to be considered whether the horse has newly been treated with EAP when it is to be sedated with detomidine.

## INNEHÅLL

Inledning.....	1
Bakgrund .....	1
Syfte .....	1
Litteraturoversikt.....	2
Feromoner .....	2
Vomeronasala organet.....	2
Studier med EAP hos häst.....	3
Studier med feromoner hos hund .....	4
Alfa 2-adrenoreceptoragonister .....	4
Detomidin.....	5
Interaktioner mellan substanser.....	5
Att studera sederingsgrad .....	6
Material och metoder.....	8
Studiedesign .....	8
Hästarna.....	8
Utförande.....	8
Mätmetoder .....	9
Huvudhöjd över golv: HHATG.....	9
Allmän sederingsgrad.....	9
Separation av läpparna .....	9
Kroppshållning.....	10
Ataxi .....	10
Klippmaskintest.....	10
Algometri .....	10
Hjärtfrekvens.....	11
Andningsfrekvens.....	11
Blodtryck.....	11
Beteende .....	12
Statistik.....	12
Resultat.....	13
Huvudhöjd över golv: HHATG.....	13
Allmän sederingsgrad.....	14
Separation av läppar .....	15
Kroppshållning.....	15
Ataxi .....	16
Klippmaskintest.....	17
Algometri .....	17
Hjärtfrekvens.....	18
Andningsfrekvens.....	19
Blodtryck.....	19
Diskussion .....	22
Konklusion och klinisk relevans .....	24

## FÖRKORTNINGAR

BL	base line
DAP	diastoliskt artärtryck
det5, 10, etc. 5, 10, etc.	minuter efter administration av detomidin
EAP	equine appeasing pheromone
EAP30	30 minuter efter administration av EAP
HHATG	head height above the ground
MAP	medelartärtryck
MNT	mechanical nociceptive treshold
SAP	systoliskt artärtryck
sDAP	syntetiskt dog appeasing pheromone
VNO	vomeronasalt organ



## **INLEDNING**

### **Bakgrund**

Equine appeasing pheromone är ett feromon som stoet avger i juverområdet under digivningsperioden. Feromonet tros hjälpa fölet att orientera sig och känna trygghet i närhet av sin mamma (Mills, 2005). Equine appeasing pheromone (EAP) är den aktiva substansen i produkten ConfidenceEQ (tidigare Equanimity, CEVA Animal Health, USA) och finns att köpa receptfritt på apotek och djurkliniker. Produktinnehavaren hävdar att hästar i alla åldrar fortsätter att känna igen EAP som en signal för trygghet. Produkten ska göra hästen avspänd och fokuserad och kan användas och administreras av djurägaren själv vid till exempel inlärning och träning samt vid situationer där hästen visar tecken på oro.

EAP rekommenderas vid bl.a. klippning, hovslagarbesök, veterinärbesök, tandundersökningar, transporter, avvänjning av föl och tillvänjning till nya miljöer vilket är situationer där hästägaren själv kan välja att använda EAP. I många fall kan dessa situationer också innebära att en veterinär behöver sedera hästen för att det ska gå att genomföra vissa undersökningar och behandlingar. Eftersom EAP enligt produktbladet gör hästen mer avspänd skulle detta möjligen kunna förstärka effekten av sedativa eller narkosmedel som tillförs efter EAP. Det är därför intressant att undersöka om EAP påverkar sederingsgraden av detomidin, en vanligt förekommande substans för sedering, hos häst. Om sederingsgraden påverkas bör detta i så fall tas i beaktande då veterinären bedömer vilken dos sederingsmedel som ska ges. Det kan annars finnas en risk att sederingsmedel överdoseras om EAP givits utan att detta meddelats veterinären. Risken med att överdosera sederingsmedel är att man får en vinglig häst som är svår och farlig att arbeta med, den kan bli så vinglig att den går omkull. Dessutom kan hästen få mer uttalad påverkan på cirkulationen med bl.a. ökad frekvens av atrioventrikulära-block.

I detta arbete gjordes en trippelblindad crossover-studie där 8 av SLUs undervisningshästar ingick. De behandlades en gång med EAP och en gång med placebo inför sedering med 10µg/kg detomidin. En rad parametrar studerades för att bedöma sederingsgraden hos hästarna och resultaten jämfördes mellan behandling med aktiv substans och med placebo. Hypotesen var att hästarna som behandlats med EAP innan sedering med detomidin skulle uppvisa en högre grad och längre duration av sedering.

### **Syfte**

Studera om EAP påverkar sederingsgraden hos häst som sederas med detomidin.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Feromoner

Ordet feromon kommer från de grekiska verben pherein (att bära) och horman (att stimulera). Feromon är kemiska signalmolekyler som utsöndras av körtlar på olika ställen i huden och för fram specifik information mellan djur framförallt inom samma art (Pageat and Gaultier, 2003).

Funktionen hos flera feromoner hos olika djur har undersökts. Det första feromonet som analyserades var galtens feromon som produceras av de submaxillära körtlarna. Det här feromonet har urindoft och stimulerar suggan/gyltan till sin ståreflex då hon är i östrus (Dorries *et al.*, 1997). Hos kanin frisätts ett feromon med mjölken som får nyfödda kaninungar att utföra ett karaktäristiskt sökande efter spene som gör att de snabbt hittar spenen för att kunna dia (Schaal *et al.*, 2003). I mushannars urin finns flera feromoner som bland annat snabbar på könsmognaden hos pre-pubertala mushonor (Novotny *et al.*, 1999) och inducerar östrus samt synkroniserar brunst hos könsmogna mushonor (Jemiolo *et al.*, 1986).

Feromoner stimulerar sin mottagare att öppna det vomeronasala organet (VNO) i gomtaket, det föreslås att det är feromonets doft som ger detta stimulus. Feromonet kan då komma åt att stimulera cellmembranreceptorer på de nervceller som finns i VNO (Pageat and Gaultier, 2003). Vomeronasala sensoriska neuron för receptorsignalerna vidare till accessory olfactory bulb (AOB) som sedan medierar signalen vidare via kortikomediala amygdala och stria terminalis till hypotalamus (Swanson and Petrovich, 1998, Brennan and Keverne, 2004). Det är visat att även om man förstör VNO så påverkas inte responset på det spensökeframkallande feromonet hos kanin (Schaal *et al.*, 2003). Det föreslås att respons på feromoner även kan medieras av luktsystemet (Brennan and Keverne, 2004). Verkningsmekanismen för feromoner är i nuläget inte helt kartlagd (Pageat and Gaultier, 2003).

Det har producerats syntetiska analoger av några av de upptäckta feromonerna vilka har börjat användas i beteendemedicin. De feromonprodukter som idag finns registrerade är (produktnamn följt av feromonanalogens namn i parentes): Adaptil<sup>®</sup> (dog appeasing hormone), AviZen<sup>®</sup> (mother hen uropygial secretion analogue), ConfidenceEQ<sup>®</sup> (equine appeasing pheromone), Felifriend<sup>®</sup> (F4 cat allomarin pheromone), Feliscratch<sup>®</sup> (feline interdigital semiochemical), Feliway<sup>®</sup> (F3 feline facial pheromone), NoReds<sup>®</sup> (duck dermanyssus repellent allomone), SoWell<sup>®</sup> (pig appeasing pheromone). (IRSEA, 2014).

Adaptil används för att ge hunden trygghet och motverka beteendeproblem kopplat till rädsla. AviZen ska minska stress hos slaktkycklingar och äggproducerande hönor. Felifriend ska få katter att lättare acceptera nya katter i sin närmaste omgivning. Feliscratch ska uppmuntra katten att klösa på lämpliga ställen, det vill säga på det ställe feromonet appliceras. Feliway används mot urinmarkeringar och stressrelaterade problem hos katt. NoReds används mot röda hönsloss på kycklingfarmar. SoWell används mot stressrelaterade problem hos grisar.

### Vomeronasala organet

Det vomeronasala organet består av två delar som sträcker sig längs med var sida om det nasala septumet i en liten fossa i gomtaket. Hos hund är vardera VNO ca 4 cm lång och hos häst ca 25 cm lång. De flesta vuxna människor saknar troligen ett fungerande VNO, men det är omtvistat (Meredith, 2001). VNO innerveras av tre nerver; *nervus nasopalatina*, *nervus vomeronaslae* och *nervus terminalis*. Nervcellernas axon sammanstrålar och bildar den vomeronasala nerven. VNO omges av vomeronasalt brosk som formar en tub som är stängd i den kaudala änden. Organets lumen har två sorters epitel, medialt är det tjockt och innehåller nervceller medan lateralt är epitelet tunt och består av respiratorisk slemhinna. På lateralsidan finns rikligt med blodkärl och mukusproducerande körtlar som är viktiga då feromonerna dras in i VNO. Flera djur flehmar då feromoner dras in i VNO. Hos

häst och hjortdjur består flehmen i att de sträcker upp huvud och hals och drar upp överläppen. Hundar och katter höjer på överläppen med halvöppen mun och rör på tungan. Flehmen hos många djur öppnar incisivgångarna som kommunicerar med de vomeronasala gångarna som i sin tur kommunicerar med VNO (Pageat and Gaultier, 2003). Enligt muntlig information från Patrick Pageat så behöver dock hästar inte flehna för att kunna reagera på EAP. Häst saknar incisivgångar då de inte andas genom munnen, deras VNO kommunicerar enbart med näshålan genom den nasopalatinska gången.

### **Studier med EAP hos häst**

För häst är det en syntetisk analog av feromonet EAP (equine appeasing pheromone) som finns tillgänglig att använda i produkten ConfidenceEQ. Feromonet ska enligt produkthavaren få hästen känna trygghet och hjälpa den att fokusera och koppla av i stressande situationer. Effekten kommer cirka 30 minuter efter administration och kvarstår sedan i 2-2,5 timmar. Det finns endast ett fåtal vetenskapliga studier gjorda för att studera effekten av EAP. Här nedan redovisas resultaten av dessa studier:

I en studie där 40 hästar skulle passera en fransad gardin, som tidigare inte funnits där, på vägen in i stallen, visades att hästar behandlade med EAP 20 minuter innan hade lägre hjärtfrekvens, tog kortare tid på sig att passera gardinen och visade mindre beteenden kopplade till rädsla än hästar behandlade med placebo (Falewee *et al.*, 2006). En annan studie där 23 hästar delades in i två grupper vilka behandlades med EAP respektive placebo inför transporter i hästsläp runt en standardiserad bana visade också på en sänkt hjärtfrekvens hos EAP-gruppen (Cozzi *et al.*, 2013).

Studenter på Hippologprogrammet vid Flyinge studerade effekten av EAP på hjärtfrekvensen vid lastning och därefter när de stod ensamma 10 minuter i hästrailer. Hästarna behandlades med EAP/placebo innan lastningen, hjärtfrekvensen mättes under hela proceduren och under 20 minuter efter hästen återvänt till sin box. Medelvärde av hjärtfrekvensen var lägre i gruppen behandlad med EAP (Jönsson Assmundson *et al.*, 2014).

I en kognitiv studie där 34 hästar ingick, fick hästarna lära sig att skilja på olika figurer och sedan prövades också hur väl de kom ihåg det de lärt sig senare samma dag, en vecka efter och två veckor efter inlärnings-sessionen. Hälften av hästarna behandlades med EAP och hälften med placebo 10 minuter innan försöket. Hästarna som behandlats med EAP gjorde färre fel och gjorde fler rätt samt visade beteenden relaterade till ökad uppmärksamhet och mindre influenser från stimuli i miljön (Mengoli *et al.*, 2014).

Föl som behandlats med EAP under avvänjningen har visats uppvisa signifikant mindre orosbeteenden jämfört med obehandlade föl (Van Sommeren and Van Dierendonck, 2010). En annan studie där EAP/placebo användes vid avvänjning av föl visade ingen skillnad i beteende mellan grupperna. Någon skillnad i kortisol-nivåer mellan grupperna kunde heller inte ses, däremot var nivåerna av IL-6 och TGF- $\beta$  högre i gruppen som behandlats med EAP. Författarna kunde inte förklara länken mellan EAP och aktiveringen av dessa cytokiner, de föreslog en immunrelaterad gentranskription aktiverad av den akuta stressen som avvänjning innebär. (Berger *et al.*, 2013).

Vid ett försök med klippning visade hästar i den grupp som var mest reaktiva vid klippningen en signifikant kortare duration av orosbeteende om de behandlats med EAP (Van Sommeren and Van Dierendonck, 2010).

Hittills har man studerat effekten av EAP i situationer som är stressande för hästar. Inga studier har gjorts i samband med sedering eller anestesi på häst.

## Studier med feromoner hos hund

För hund finns motsvarande feromon som för häst som utsöndras i juverområdet hos tiken efter valpning, sDAP (dog appeasing pheromone) som ingår i produkten Adaptil. Hos hund har effekten av sDAP (syntetic dog appeasing pheromone) på perioperativ stress studerats på 46 hundar som kastrerats. Där visade det sig att hundarna som exponerats för sDAP efter operationen var mer alerta och visade mer undersökande beteende (Siracusa *et al.*, 2010). Sänkningen av prolaktinnivåerna i serum som ett svar på perioperativ stress blev också mindre hos de hundar som hade exponerats för sDAP jämfört med placebo. DAP-halsband har visats minska tecken på rädsla vid introduktion av främmande människor i hemmet och vid promenader hos nyligen adopterade valpar (Gaultier *et al.*, 2009) samt associerats till mer avslappnade hundar vid klinisk undersökning (Mills *et al.*, 2006).

## Alfa 2-adrenoreceptoragonister

Alfa 2-adrenoreceptoragonister (nedan kallade  $\alpha_2$ -agonister) är en grupp läkemedelssubstanser som används för att ge sedering, analgesi och muskelrelaxation hos hästar och andra djurslag inför olika undersökningar och ingrepp (Moens *et al.*, 2003). De ger dessa effekter genom att binda till  $\alpha_2$ -adrenoreceptorer som finns i hjärnan, ryggmärgen och andra viktiga organ i kroppen. Det finns flera subtyper av  $\alpha_2$ -adrenoreceptorer;  $\alpha_2A$ ,  $\alpha_2B$ ,  $\alpha_2C$  och  $\alpha_2D$  (Scheinin *et al.*, 1994, Ruffolo *et al.*, 1994). Receptorerna är cellmembranbundna, G-proteinkopplade och medierar sina signaler till intracellulära effektormolekyler.

Olika djurarter är olika känsliga för  $\alpha_2$ -agonister då olika djurarter har olika sammansättning av  $\alpha_2$ -adrenoreceptorersubtyper i olika mängd och med olika lokalisation. Därav krävs olika doser för olika djurslag och djur kan också reagera olika på sedering. Den centrala effekten av  $\alpha_2$ -agonister ger sedering, analgesi och minskad sympatikuspåslag. De perifera effekterna är bland annat vasokonstriktion och minskad insulinfrisättning (Mason, 2004). De kliniska effekterna som syns hos häst är en sänkning av huvudet, att hästen står mer stilla och får en minskad respons mot beröring, ljud och visuella intryck (England *et al.*, 1992). Graden av sedering är dosberoende och ataxi uppstår typiskt vid högre doser (Mason, 2004).

I CNS finns  $\alpha_2$ -adrenoreceptorer presynaptiskt vid nervterminaler där de ingår i den inhiberande feedbackmekanismen för frisättning av noradrenalin. Det vill säga minskar frisättningen av noradrenalin i synapsen då  $\alpha_2$ -adrenoreceptorerna presynaptiskt stimuleras av en agonist. Noradrenalin är en exciterande/stimulerande/aktiverande signalsubstans i CNS. Det finns också  $\alpha_2$ -adrenoreceptorer postsynaptiskt som vid bindning till  $\alpha_2$ -agonister gör att nervcellen blir hyperpolariserad och inte reagerar på stimulans av noradrenalin eller andra cirkulerande katekolaminer (Mason, 2004). Stress, rädsla, upphetsning och smärta ger ökade nivåer av katekolaminer i kroppen och kan motverka den sederande effekten från  $\alpha_2$ -agonister. Det bör vara lugn, tyst och minimalt med stimuli i miljön för att få en optimal sedering (Mason, 2004).

Dagens  $\alpha_2$ -agonister har också affinitet till  $\alpha_1$ -receptorer. Stimulering av  $\alpha_1$ -receptorer ger upphetsning, rastlöshet, ökad rörelseaktiviteten och ökad uppmärksamhet (Puumala *et al.*, 1997). Stimulering av  $\alpha_1$ -receptorer hämmar den hypnotiska effekten av  $\alpha_2$ -agonister (Guo *et al.*, 1991). De  $\alpha_1$ -medierade effekterna kommer dominera vid toxiska doser av  $\alpha_2$ -agonister (Ansah *et al.*, 2000, Doze *et al.*, 1989). Selektiviteten för  $\alpha_2$ -receptorer avgör hur potent en sederande substans är. Selektiviteten för  $\alpha_2/\alpha_1$  är som följer; dexmedetomidin (1620/1), medetomidin (1620/1), detomidin (260/1), klonidin (220/1), xylazin (160/1).

Den analgetiska effekten av  $\alpha_2$ -agonister fås genom stimulering av receptorer på flera ställen i smärtledningsvägarna i hjärnan och ryggmärgen (Stenberg, 1989). Vid smärtmodulering sker en

interaktion mellan  $\alpha$ -adrenoreceptorer och opiatreceptorer i hjärnan (Savola, 1989) och ryggmärgen (Omote *et al.*, 1991, Ossipov *et al.*, 1989).

Xylazin, detomidin, medetomidin och romifidin ger alla initialt en arteriell hypertension som uppstår inom sekunder efter intravenös injektion (Yamashita *et al.*, 2000, Gasthuys *et al.*, 1990, Sarazan *et al.*, 1989). Hypertensionen orsakas av en direkt agonistisk effekt på perifera postsynaptiska  $\alpha_2$  och  $\alpha_1$ -receptorer som medierar vasokonstriktion och därmed ökad systemisk vaskulär resistans.

Hypertensionen skapar en baroreceptor-medierad reflex vilket ger sänkt hjärtfrekvens och utveckling av andra gradens atrioventrikulära block (Yamashita *et al.*, 2000, Gasthuys *et al.*, 1990, Sarazan *et al.*, 1989). Cardiac output minskar drastiskt (upp till 50 %) till följd av den sänkta hjärtfrekvensen och det ökade systemiska vaskulära resistansen (de Moraes and Muir, 1995, Schmeling *et al.*, 1991). Den minskade hjärtfrekvensen kvarstår på grund av minskad sympatikustonus medan den perifera vasokonstriktionen minskar med tiden vilket ofta leder till en efterföljande hypotensiv fas (Savola, 1989). Hur uttalad och hur lång duration den ökade systemiska perifera resistansen får beror på substansens selektivitet för  $\alpha_2$ -receptorer, vilken dos som givits och administrationssätt.

Hypertensionen följs av en hypotensiv fas inom några minuter för xylazin och medetomidin. För detomidin och högre doser av medetomidin är den hypertensiva fasen längre (Yamashita *et al.*, 2000).

Övriga effekter av  $\alpha_2$ -agonister är att glatt muskulatur i de distala andningsvägarna relaxerar (LeBlanc *et al.*, 1993), dock ökar andningsresistansen i de övre luftvägarna, vilket gör att den totala resistansen kan öka (Tomasic *et al.*, 1997). Den mukociliära clearance minskar också (Willoughby *et al.*, 1991). Den gastrointestinala motilitet minskar (Merritt *et al.*, 1989, Merritt *et al.*, 1998).  $\alpha_2$ -agonister kan inducera hyperglykemi och hypoinsulinemi genom minskad insulinfrisättning (Robertson *et al.*, 1990, Angel and Langer, 1988, Brockman, 1981). De ger även ökad miktions genom antagonistisk verkan på antidiuretiskt hormon. De ökar också det intrauterina trycket hos icke dräktiga ston (Schatzmann *et al.*, 1994).

Vid oavsiktlig överdosering kan hjärtarytmi, hypotoni, fördröjd återhämtning från sedering eller anestesi och allvarlig CNS- och andningsdepression uppträda. (FASS, 2009)

### **Detomidin**

Detomidin, som är den  $\alpha_2$ -agonist som används i denna studie, är registrerad i Sverige för användning till häst och nötkreatur. Den finns att tillgå som injektionslösning för intravenös och intramuskulär injektion (Cepesedan vet., Detonervin, Domodin vet., Domosedan® vet., Equisedan vet.) och som oral gel för upptag via munslemhinnan (Domosedan® vet.). Detomidin används för att ge sedering och analgesi vid olika undersökningar och behandlingssituationer, vid små kirurgiska ingrepp, vid transporträdsla och inför sövning av häst. Miljön bör vara lugn, tyst och minimalt med stimuli i miljön för att få en optimal sedering. Normaldos för häst är 10-80  $\mu\text{g}/\text{kg}$  kroppsvikt intramuskulärt eller intravenöst. Sedering erhålls snabbt efter intravenös injektion och maxeffekten nås efter 10-15 minuter. Dosen kan itereras efter 15 minuter. Halveringstiden är 1-2 timmar och substansen utsöndras i form av metaboliter urin och faeces. (FASS, 2009)

### **Interaktioner mellan substanser**

Substanser kan interagera med varandra i kroppen och påverka varandras effekt. De kan både potentiära varandra och ge en synergieffekt samt motverka varandra. Interaktioner mellan substanser kan ske på olika nivåer, de kan till exempel konkurrera om samma receptorer eller så kan de påverka enzymer (aktiverande eller inhiberande) som deltar i nedbrytningen av den ena substansen och på så sätt påverka dess elimination. (Rang *et al.*, 1999)

Många psykotropa farmaka som till exempel  $\alpha_2$ -agonister påverkar ascenderande formatio reticularis aktiveringscentrum (ARAS) som går mellan medulla oblongata och mellan hjärnan och reglerar vakenhetsgraden hos däggdjur. ARAS exciteras av noradrenalin och dopamin och inhiberas av GABA, melatonin och serotonin. Balansen mellan exciterande och inhiberande signaler styr vakenhetsgraden. Är djuret upphetsat krävs mer farmaka för att få den sederad än om den är lugn. Olika sederande och sövande substanser kan påverka ARAS via olika verkningsmekanismer och då potentiella varandras effekt. (Kaartinen *et al.*, 1991) Om tillförsel av EAP minskar mängden exciterande och ökar mängden hämmande transmittorsubstanser i ARAS krävs eventuellt en lägre dos sedativa för en viss grad av sedering.

### Att studera sederingsgrad

Den kliniska effekten av olika  $\alpha_2$ -agonister på häst har studerats i flera studier (l'Ami *et al.*, 2013, Love *et al.*, 2011b, Love *et al.*, 2011a, Mama *et al.*, 2009, Figueiredo *et al.*, 2005, Pestean *et al.*, 2010). De flesta måtten för att mäta sederingsgraden är subjektiva medan några få är objektiva. Ett objektiva mått är hur mycket hästen sänker huvudet och har använts av de ovan refererade studierna. De flesta har mätt avståndet mellan underläppen/hakan/nosborren ner till golvet med måttsticka, lös eller fastsatt på väggen. Figueiredo *et al.* (2005) använde sig av en potentiometer som fästes på huvudet och automatiskt mätte sänkningen av hästens huvud. Avståndet, head height above the ground (HHATG) kan sedan räknas om till procent av den individuella hästens normala huvudhöjd för att kompensera för att olika hästars storlek.

I de flesta studier används också flera subjektiva mått. Ett vanligt mått är ett allmänt ”sederings-score” för att bedöma djupet av sedering. Love *et al.* (2011 a-b) använder sig av en visuell analog skala 1-100 mm, l'Amis *et al.* (2013) och Figueiredo *et al.* (2005) använder istället en skala mellan 0-3 ( där 0=ingen sedering, 1=mild sedering, 2=måttlig sedering, 3=kraftig sedering).

Hur ataktisk hästen blir av sedering har bedömts på olika sätt. Love *et al.* (2011 a–b) och Pestean *et al.* (2010) har bedömt hästen stillastående på en skala mellan 0-3. I l'Amis *et al.* (2013) studie ledde de först hästen rakt fram, voltade sedan åt båda hållen och gick en gång till rakt fram och drog i svansen åt båda hållen. Graden av ataxi bedömdes av en ortopedisk kirurg på en skala mellan 0-5. Mama *et al.* (2009) bedömde hästarnas ataxi från 1 till 5 då de fick gå över en 10x10 cm tröskel.

För att bedöma sederingsgrad har också hästens kroppshållning (normal eller onormal), hängande öron, separerade läppar, ödem i ansiktet studerats (Figueiredo *et al.*, 2005). Dessa anges som 0 eller 1, så kallade dikotoma variabler.

Sederingsdjupet bedöms också utefter svaret i samband med ett bestämt yttre stimuli. För att bedöma reaktionen för yttre stimuli har många olika visuella, auditiva och sensoriska stimuli använts. Reaktionerna har bedömts objektiva på skalor från 0-3, 0-4 till 1-5. Exempel på visuella stimuli som använts är att vifta med en tygbit mot huvudet (Pestean *et al.*, 2010). Auditiva stimuli som använts är; handklapp (Love *et al.*, 2011b, Love *et al.*, 2011a, Pestean *et al.*, 2010), klippmaskin (l'Ami *et al.*, 2013), signalhorn och skaka stenar i en mugg (Mama *et al.*, 2009). Att klappa hästen (Love *et al.*, 2011b, Love *et al.*, 2011a, Pestean *et al.*, 2010) eller röra hästen med klippmaskin (l'Ami *et al.*, 2013) är exempel på sensoriska stimuli.

Det går att mäta reaktionerna på sensoriska stimuli mer objektiva. Mama *et al.* (2009) och l'Amis *et al.* (2013) har även mätt de mekaniska nociceptiva tröskelvärdena (MNTs) med hjälp av algometri för att följa detomidins analgetiska verkan. De har då använt en algometer med 1 cm i diameters tipp och mätt på olika punkter på kroppen med tre mätningar för varje tidpunkt. Trycket har släppts då hästen reagerat med en avvärjande manöver och värdet har registrerats. I en studie där hästar sederades med

romifidin mättes graden av analgesi genom att mäta tiden det tog för hästen att dra undan benet då det utsattes för en värmelampa (hoof withdrawal reflex latency) (Figueiredo *et al.*, 2005).

Andra parametrar som har följts är hjärtfrekvens med hjälp av auskultation (l'Ami *et al.*, 2013, Mama *et al.*, 2009, Pestean *et al.*, 2010) eller EKG (Figueiredo *et al.*, 2005, Love *et al.*, 2011b, Love *et al.*, 2011a), andningsfrekvens (Figueiredo *et al.*, 2005, Love *et al.*, 2011b, Love *et al.*, 2011a, Mama *et al.*, 2009), slemhinnefärg (Figueiredo *et al.*, 2005, Mama *et al.*, 2009), CRT (Mama *et al.*, 2009), gastrointestinal motilitet (auskultation) (Mama *et al.*, 2009), rektal temperatur (Figueiredo *et al.*, 2005, Mama *et al.*, 2009). Dessa parametrar säger dock inget om graden av sedering utan om övriga effekter av  $\alpha_2$ -agonister.

## MATERIAL OCH METODER

### Studiedesign

Åtta hästar ingick i studien som utfördes på Sveriges Lantbruksuniversitet i Uppsala under september och oktober 2014. Studien utfördes under det generella etiska tillstånd (Diarienummer är C 148/13) som finns för undervisning och forskning på försökshästarna.

Studien var en experimentell, prospektiv, crossover-studie där varje häst studerades två gånger och fungerade som sin egen kontroll. Alla hästar behandlades med placebo+detomidin alternativt EAP+detomidin i randomiserad ordning. Studien var trippelblindad så att varken den som administrerade produkten, den som studerade hästarna eller den som analyserade data och beräknade statistiken visste vad som var aktiv EAP och vad som var placebo. Blindningen bröts först då statistiken var färdigberäknad. Två hästar per dag studerades under fyra påföljande dagar. Efter två veckor studerades dessa hästar igen i samma ordning, två hästar per dag i fyra dagar.

Två av hästarnas ena omgångar kördes om i vecka 41 2014 då dessa omgångar inte blev tillförlitliga vad gäller resultatet då den ena hästen blev störd av skällande hundar och den andra hästen fick sin injektion av detomidin delvis perivaskulärt.

Endossprutor med gel innehållande placebo och EAP bereddades och tillhandahölls tillsammans med randomiseringslista av IRSEA (Institut de Recherche en Sémiologie et Ethologie Appliquée). Alla sprutor såg likadana ut och gick inte att skilja åt. Gelen luktade likadant och hade samma konsistens och färg i samtliga sprutor.

### Hästarna

De åtta hästar som ingick i studien var alla varmblodiga travare som tillhör Sveriges Lantbruksuniversitet och används till undervisning och forskning. Hästarna hade en medelålder på  $12,5 \pm 3,8$  år, två av hästarna var valacker och sex var ston. De hade en medelvikt på  $552 \pm 43$  kg och ett body condition score mellan 5,5 och 7 på en skala mellan 1 och 10 enligt Henneke (Henneke *et al.*, 1983). Hästarna var utan tecken på symtom på sjukdom från respiration och cirkulationssystemen. De hade inte fått någon behandling med sederande substanser inom två veckor.

### Utförande

På studiedagen togs två hästar in från hagen på morgonen och vägdes och togs sedan till ett oanvänt stall och ställdes i varsin box med tillgång på hösilage och vatten. En häst studerades på förmiddagen och en häst på eftermiddagen. Första hästen fick stå kvar i boxen minst i 30 minuter innan försöket startade.

Hästarna studerades uppbundna på gången med långa grimskafte på båda sidorna. Stallet hölls stängt och i ena boxen i stallet fanns som tidigare nämnts sällskap av en annan häst. Hästarna var uppkopplade på EKG (Televet100 Rösch & Associates) eller Polar-mätare samt blodtrycksmätare (Cardell® Veterinary Monitor 9402, Sharn Veterinary Inc. Tampa, Florida, USA) med manschett runt svansroten. Försöken filmades med digitalkamera för att kunna gå tillbaka och studera vissa parametrar.

Försöket utfördes enligt ett protokoll (se Appendix 1) som fylldes i under försökets gång. Först gjordes en base-line mätning (BL) av samtliga punkter i protokollet. Sedan applicerades gelen innehållande placebo eller EAP ventralt vid hästens båda nosborrar. Ny mätning gjordes 30 minuter efter appliceringen av gelen. Sedan sederades hästarna med  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  detomidin hydrochlorid (Cepesedan® vet. 10mg/ml ScanVet) intravenöst i vänster jugularven med en engångskanyl (BD Microlance™3, 23Gx1", 0,6mmx25mm) efter tvätt med en bomullstuss med 70 %-ig sprit. Mätningar gjordes sedan 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 75 och 90 minuter efter sedering. Mätningarna studerades i samma ordning vid varje mättillfälle. Först mättes huvudhöjd över golv (HHATG; head height above



the ground), sedan hjärtfrekvens, blodtryck, andningsfrekvens, separation av läpparna, kroppshållning, ataxi i stillastående, allmän sederingsgrad, algometri, klippmaskin (ljud och beröring), ataxi i rörelse (ett steg fram, ett steg bak).

## **Mätmetoder**

### ***Huvudhöjd över golv: HHATG***

Hästen huvudhöjd över golv mättes genom att underläppens lägsta punkt i centimeter noterades. Till hjälp fanns en mätsticka uppklistrad mot väggen (se bild 1) samt ett kvastskafthalsbånd med avståndsgradering. För varje häst beräknades sedan huvudets sänkning i procent mot individens ursprungliga huvudhöjd.



Bild 1.

### ***Allmän sederingsgrad***

Hästarna bedömdes subjektivt hur tungt sederade de var. Till detta användes en gradering 0-3, där: 0=osederad, 1=milt sederad, 2=måttligt sederad, 3=kraftigt/djupt sederad.

### ***Separation av läpparna***

Om hästens läppar var separerade eller inte bedömdes från 0-2, där: 0=läpparna ej separerade, 1=läpparna lite separerade, 2=läpparna mycket separerade.

### **Kroppshållning**

Hästens position när den stod bedömdes som normal=0 eller onormal=1. Ange exempel på vad som är onormal position, eller vad som anses som den normala positionen.

### **Ataxi**

Graden av ataxi bedömdes i stillastående från 0-3, där: 0=står i balans utan att svaja och utan ryckningar med huvudet, 1=stabil men står och svajar lite, 2=står och svajar, kompenserar med kroppsrörelser/hållning för att hålla balansen, 3=lutar sig mot väggen, faller.

Det gjordes också en bedömning av hur villig hästen var att ta ett steg fram och sedan ett steg bak enligt en skala på 0-3, där: 0=flyttar villigt, 1=flyttar med lite motstånd, 2=flyttar med mycket motstånd, 3=flyttar inte på sig.

### **Klippmaskintest**

Hur hästen reagerade på yttre stimuli i form av ljud och beröring bedömdes genom att en klippmaskin startades ca 1 meter ifrån hästens vänstra bog där först eventuell reaktion på ljudet studerades. Sedan fördes den i en klipp rörelse mot huden mitt på bringan och eventuell reaktion på beröringen studerades. Reaktionen bedömdes som 0= ingen reaktion eller 1= reaktion (flyttar på sig eller rörelse av kroppsdel).

### **Algometri**

Algometri utfördes på en punkt av *longissimus dorsi*, ca 5 cm från tornutskotten och vid  $\frac{3}{4}$  av längden mellan T4/T5 och tuber coxae (se bild 2). Mätpunkten märktes ut med spritpenna strax innan försökets början. Mätningen utfördes med en algometer (Algometer typ II S/N 560336, Somedic Production AB, Sollentuna, Sweden) med mätområde 0-2000 kilopascal (kPa) och felmarginal  $\pm 3$  % av uppmätt värde. Algometertippen var 1 cm i diameter. Algometern trycktes mot punkten tills hästen reagerade avvärijande med att kontrahera muskeln lite och då släpptes trycket omedelbart och mätvärdet avlästes. Algometri utfördes tre gånger vid varje mättillfälle för att få ett så rättvisande värde som möjligt. Mätvärdena fotograferades så att det skulle finnas möjlighet att gå tillbaka och kontrollera värdena för att minska risken för bias. Algometern kalibrerades i början av varje försöksvecka.



Bild 2.

### **Hjärtfrekvens**

För att studera hjärtfrekvensen kopplades hästarna upp på EKG som också spelades in. Till detta användes en telemetrisk EKG-utrustning, Televet100 (Rösch & Associates) och klisterelektroder (Kruuse). I protokollet antecknades den hjärtfrekvens som presenterades av EKG-utrustningen under försökets gång. Även den hjärtfrekvens som presenterades av blodtrycksmätaren (Cardell® Veterinary Monitor 9402, Sharn Veterinary Inc. Tampa, Florida, USA) antecknades i protokollet. I efterhand beräknades hjärtfrekvensen utifrån det inspelade EKG't och även antalet (0, 1 eller flera block/min) 2:a gradens atrioventrikulära-block noterades.

Tyvärr fanns ej tillgång till EKG-utrustningen till fyra av delförsöken. På en häst studerades då hjärtfrekvensen och antalet AV-block med hjälp av stetoskop. De tre andra hästarna kopplades till en pulsmätare (Polar) som mätte hjärtfrekvensen och antal AV-block undersöktes med stetoskop.

### **Andningsfrekvens**

Andningsfrekvensen räknades genom observation av hästens bukrörelser under en halv minut.

### **Blodtryck**

Blodtrycket mättes med hjälp av blodtrycksmätare (Cardell® Veterinary Monitor 9402, Sharn Veterinary Inc. Tampa, Florida, USA) med en blodtrycksmanschett runt svansroten. Manschetten satt på under hela försökets gång. Mätningarna gjordes enligt tidpunkterna i protokollet och Cardellen startades då manuellt. Värden för systoliskt artärtryck (SAP), diastoliskt artärtryck (DAP) och medelartärtrycket (MAP) noterades. För att kompensera för höjdskillnaden mellan hjärtat och svansroten där mätningen skedde så adderades 7,5 mmHg per 10 cm till dessa värden.

## **Beteende**

Beskrivs i ord, till exempel: står still i balans, frustar, rör sig, letar efter mat på golvet, gäspar, skrapar med hoven.

För varje häst gjorde författaren en gissning om hästen fått aktiv eller placebo substans. När data sedan summerades och gruppindelningen blev känd, men innan vetskap om vilken grupp som fått aktiv eller placebo substans gjorde författaren åter en gissning fast nu på gruppnivå.

## **Statistik**

Rådata processades först i Microsoft Excel där medelvärden och standardavvikelser beräknades samt diagram ritades. Sedan gjordes statistisk analys för att jämföra resultaten mellan hästar behandlade med EAP respektive placebo i programvaran Minitab. Kontinuerliga variabler (HR, RR, MAP, HHATG, algometri) analyserades med t-test (paired t-test) och icke kontinuerliga variabler (allmän sederingsgrad, separation av läpparna, kroppshållning, ataxi i stillastående, ataxi i rörelse, klippmaskintest (ljud och beröring)) analyserades statistiskt med teckentest (1-Sample sign). Statistisk signifikans beaktades vid p-värden  $<0,05$  med 95% konfidensintervall. I figurena presenteras medelvärden och standarddeviation (SD).

## RESULTAT

Samtliga hästar reagerade som förväntat på sederingen med detomidin genom att bli trötta, sänka huvudet och bli mindre uppmärksamma på omgivningen. Alla mätta parametrar påverkades under försöket men ingen statistisk signifikant skillnad kunde ses mellan grupperna som innan sedering med detomidin behandlats med EAP jämfört med placebo med avseende på samtliga de parametrar som mättes.

Det gick inte att spontant avgöra om hästarna behandlats med EAP eller placebo under försökets utförande då man inte såg någon tydlig effekt, även om några av hästarna upplevdes som de uppvisade en lugnare blick cirka 20-25 minuter efter applicering av EAP/placebo-gelen.

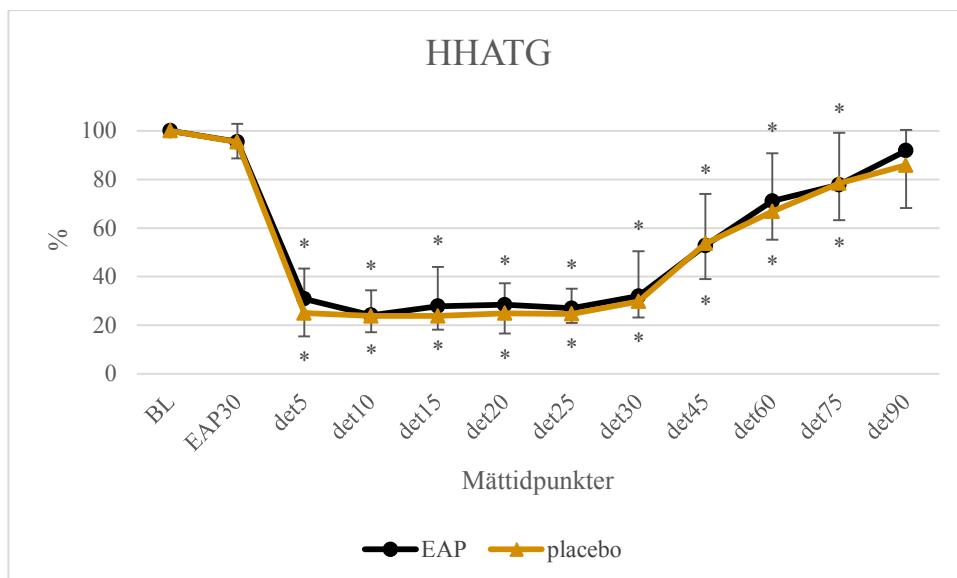
Resultatet av gissningsleken som nämndes ovan presenteras i tabell 1. På individnivå gissade författaren rätt 3 av 8 gånger i period 1 och 7 av 8 gånger i period 2. På gruppnivå gissade författaren att grupp A var den aktiva substansen EAP. När sedan blindningen bröts efter statistiken beräknats så visade det sig riktigt att behandling A var EAP.

Tabell 1. *Gissningslek*

Häst	Period 1		Period 2	
	Gissning	Facit	Gissning	Facit
1	EAP	Placebo	EAP	EAP
2	Placebo	EAP	Placebo	Placebo
3	Placebo	Placebo	EAP	EAP
4	EAP	EAP	Placebo	Placebo
5	EAP	Placebo	EAP	EAP
6	EAP	EAP	Placebo	Placebo
7	Placebo	EAP	EAP	Placebo
8	EAP	Placebo	EAP	EAP

### Huvudhöjd över golv: HHATG

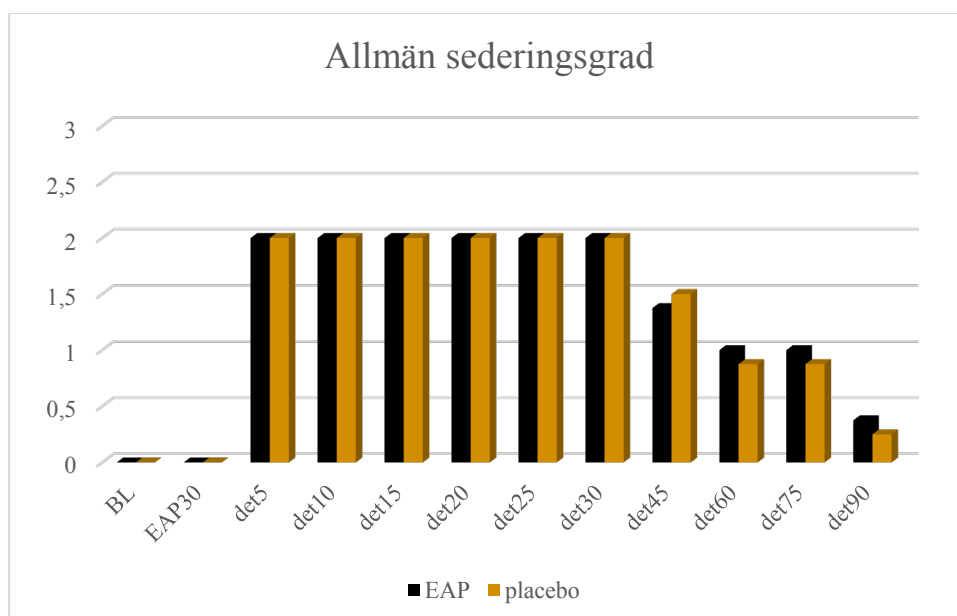
Samtliga hästar sänkte huvudet efter sedering med detomidin. Sänkningen var störst mellan 5 och 30 minuter efter sedering och därefter höjdes huvudet succesivt med tiden och var ej längre statistiskt signifikant skiljt från ursprungshöjden vid sista mätningen. Dock sågs som tidigare nämnt ingen statistiskt signifikant skillnad mellan grupperna. En häst sänkte huvudet i mindre utsträckning än övriga hästar, hon kompenserade sin trötthet till stor del genom att ställa sig i sågbocksställning istället. Denna häst uteslöts ur diagrammet nedan och de statistiska beräkningarna för HHATG. Se figur 1.



Figur 1. Hästens huvudhöjd över golv i % jämfört med baslinjemätning angivet som medelvärden  $\pm$ SD vid de olika mättidpunkterna för grupperna placebo och EAP. \*värdet är statistiskt signifikant skiljt från baseline-värdet.

### Allmän sederingsgrad

Samtliga hästar var måttligt sederade 5 minuter efter sedering med detomidin och låg kvar på samma nivå till och med mätningen 30 minuter efter detomidin. Hästarna övergick sedan med individuella variationer till att vara lätt sederade vid 45 eller 60 minuter och till osederade vid 60, 75 eller 90 minuter efter detomidin. Vid 90 minuter efter detomidin bedömdes de flesta hästarna vara osederade. Se figur 2. Ingen statistiskt signifikant skillnad mellan grupperna kunde ses.

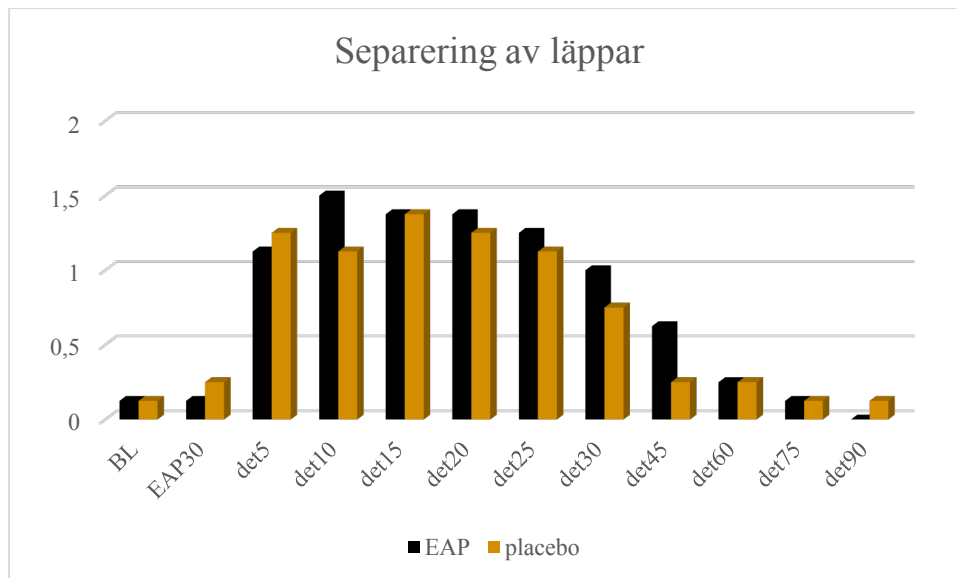


Figur 2. Stapeldiagram med medelvärden för allmän sederingsgrad vid de olika mättidpunkterna för grupperna placebo och EAP.



## Separation av läppar

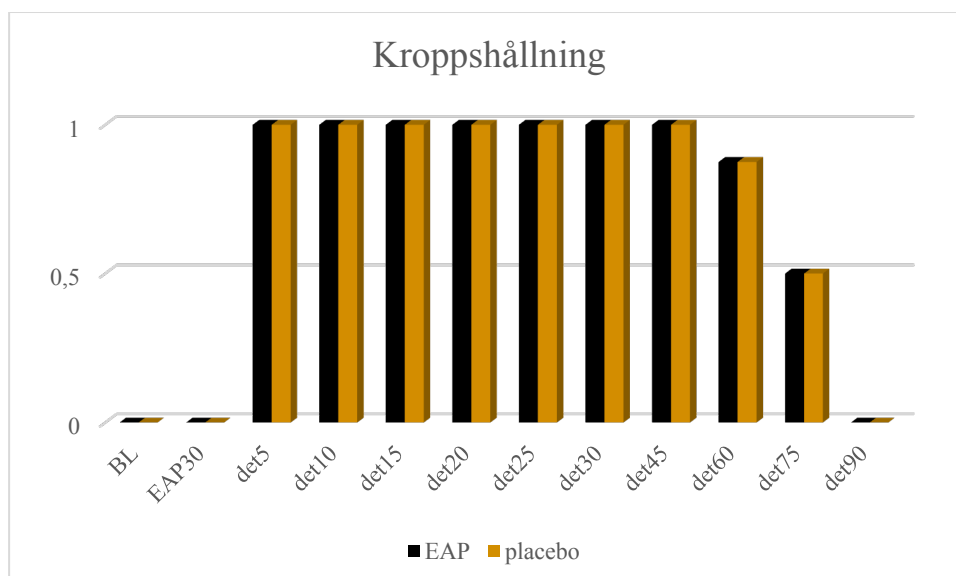
De flesta hästarna separerade sina läppar i olika utsträckning på grund av relaxation av läppmuskulaturen efter sedering med detomidin. Det var en häst som hade separerade läppar redan innan sedering. Se figur 3. Ingen statistiskt signifikant skillnad mellan grupperna kunde ses.



Figur 3. Stapeldiagram med medelvärden för separation av läpparna vid de olika mättpunkterna för grupperna placebo och EAP.

## Kroppshållning

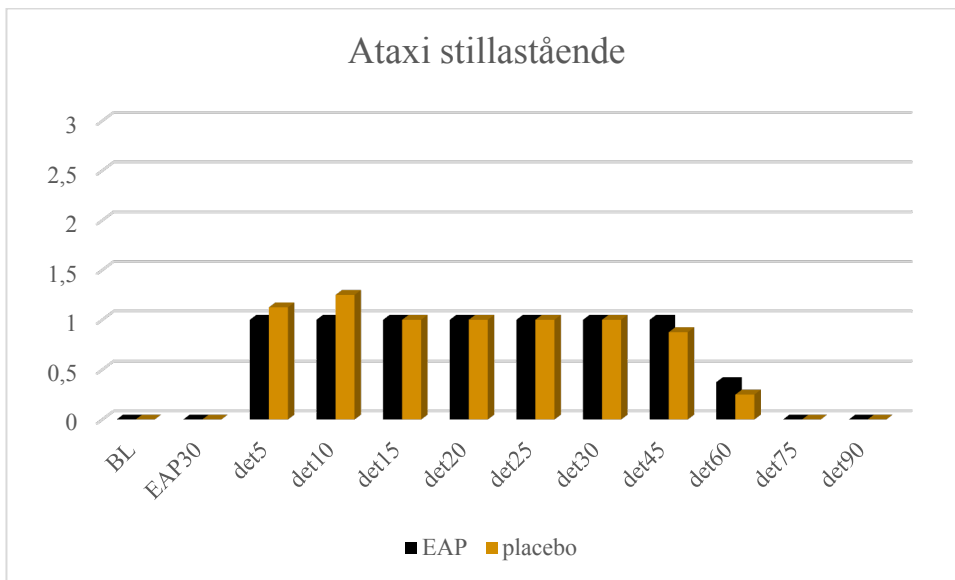
Samtliga hästar fick en onormal kroppshållning framförallt i form av sänkt huvud och bredning mellan framben efter sedering med detomidin. De återgick till normal kroppshållning vid 60, 75 eller 90 minuter efter detomidin-giva, vid 90 minuters-mätningen hade samtliga hästar en normal kroppshållning. Se figur 4. Ingen statistiskt signifikant skillnad mellan grupperna kunde ses.



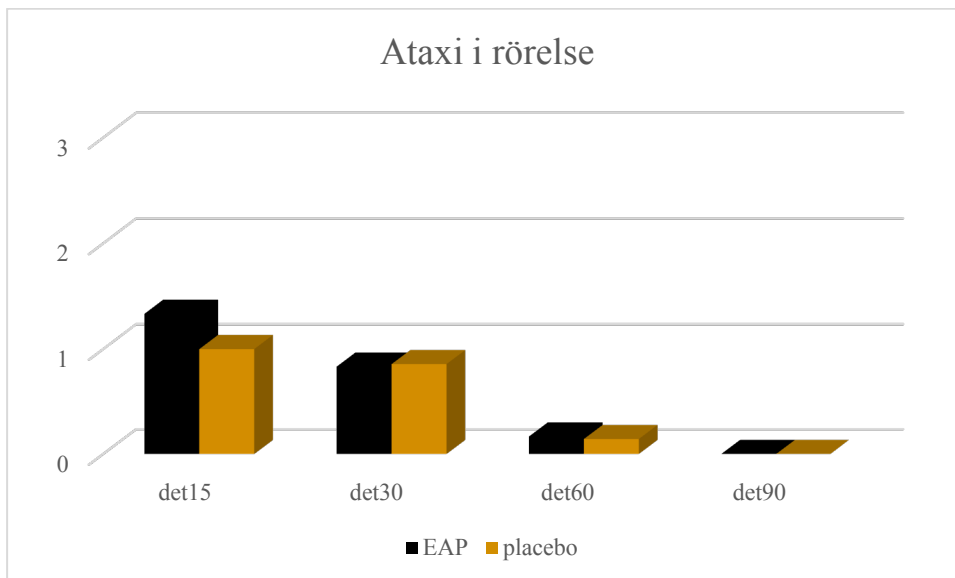
Figur 4. Stapeldiagram med medelvärden för kroppshållning vid de olika mätpunkterna för grupperna placebo och EAP.

## Ataxi

Ataxi bedömdes stillastående vid samtliga mättidpunkter och i rörelse genom att få hästen att ta ett steg bakåt och ett steg framåt vid fyra mättidpunkter. Hästarna blev lindrigt ataktiska efter sedering med detomidin. En häst bedömdes icke ataktisk redan vid 45 minuter efter detomidingiva och övriga återgick till att vara icke ataktiska vid 60 eller 75 minuters-mätningarna. Se figur 5 och 6. Ingen statistiskt signifikant skillnad mellan grupperna kunde ses.



Figur 5. Stapeldiagram med medelvärden för ataxi stillastående vid de olika mättidpunkterna för grupperna placebo och EAP.

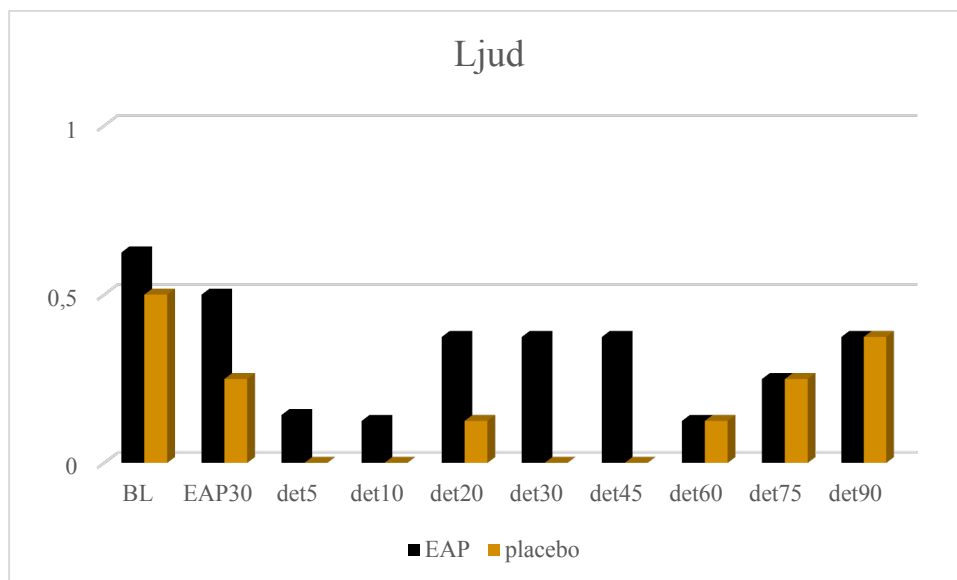


Figur 6. Stapeldiagram med medelvärden för ataxi rörelse vid de olika mättidpunkterna för grupperna placebo och EAP.

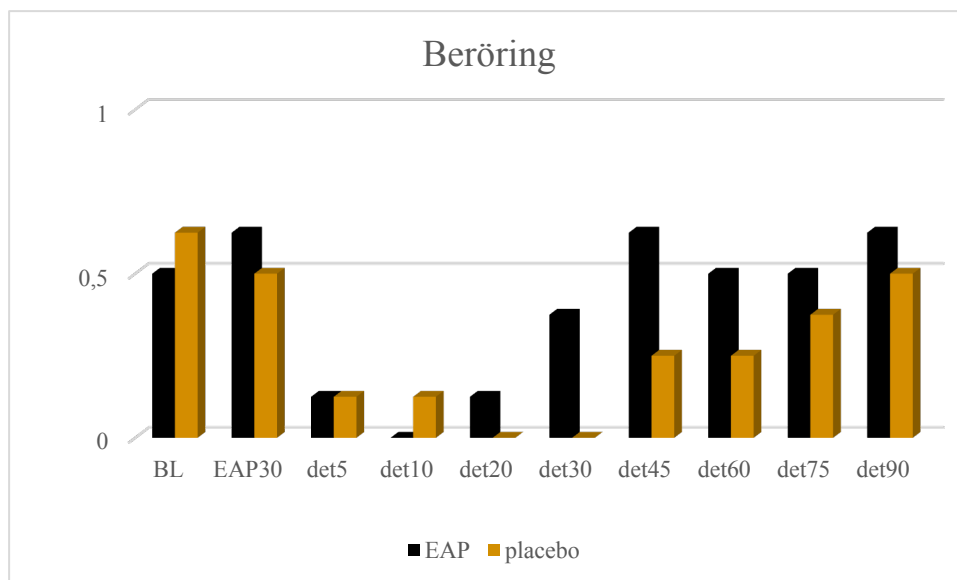


## Klippmaskintest

Reaktiviteten för ljud och beröring från klippmaskinen sjönk något efter sedering med detomidin. Flera av hästarna var dock oreaktiva för dessa stimuli redan vid baseline-mätningen. Se tabell 7 och 8. Ingen statistiskt signifikant skillnad mellan grupperna kunde ses.



Figur 7. Stapeldiagram med medelvärden för reaktion för ljud från klippmaskin vid de olika mättidpunkterna för grupperna placebo och EAP.

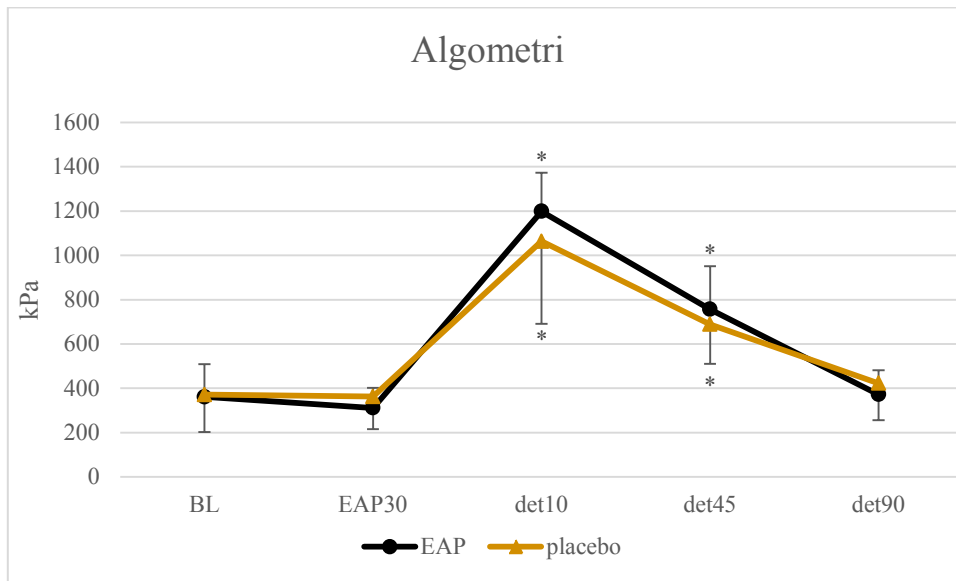


Figur 8. Stapeldiagram med medelvärden för reaktion på beröring med klippmaskin vid de olika mättidpunkterna för grupperna placebo och EAP.

## Algometri

Mekaniskt nociceptivt tröskelvärde (MNT) mättes med algometer vid enbart fem tidpunkter för att inte hästen skulle bli öm på mätpunkten och reagera mer vid de senare mättillfällena. MNT ökade kraftigt

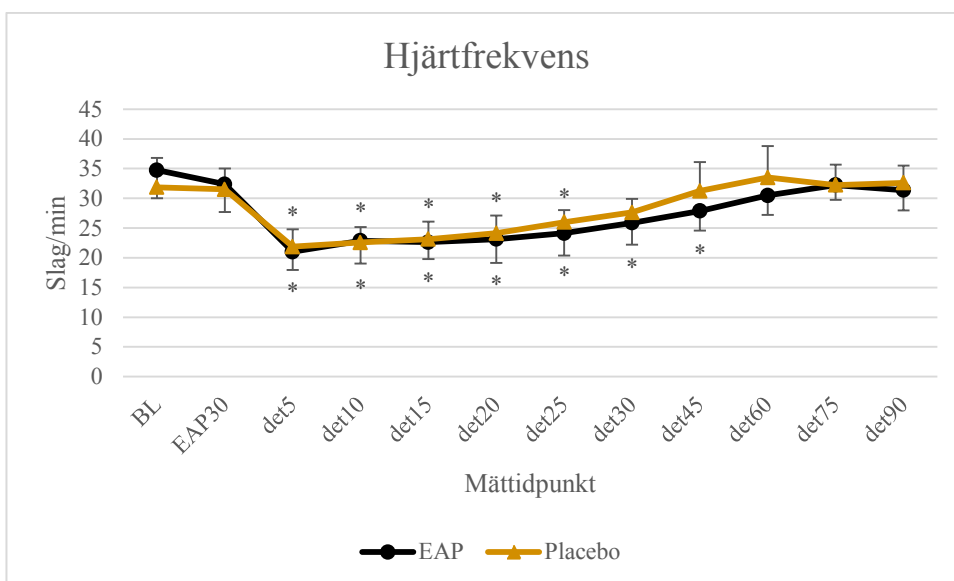
efter sedering med detomidin och var statistiskt signifikant skilt från baseline-värdena vid tidpunkterna 10 och 45 minuter efter detomidin-giva, men påverkades inte av EAP. Se figur 9.



Figur 9. Mekaniskt nociceptiva tröskelvärden angivet som medelvärden  $\pm$ SD vid de olika mättidpunkterna för grupperna placebo och EAP. \*värdet är statistiskt signifikant skilt från baseline-värdet.

## Hjärtfrekvens

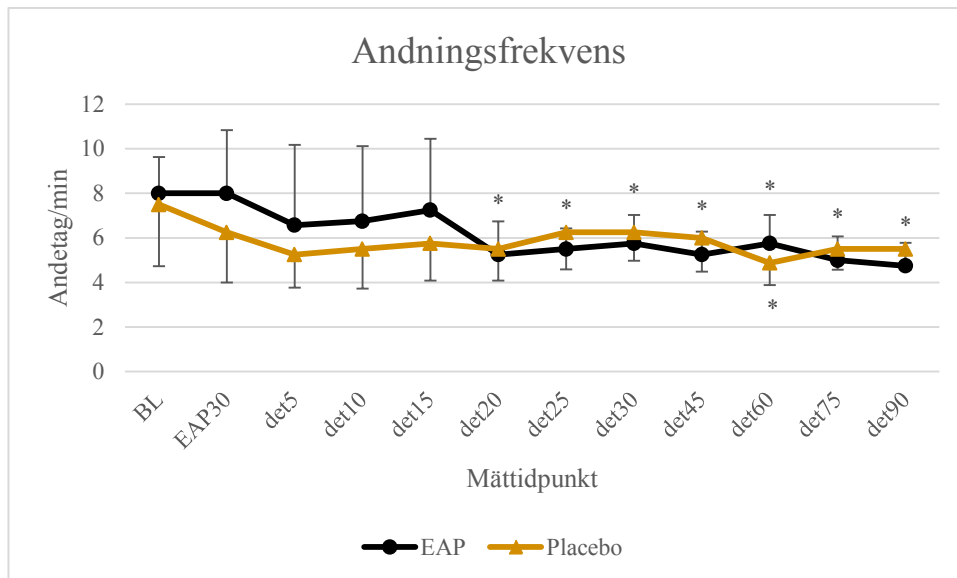
Hjärtfrekvensen ändrade sig inte från baslinjemätningen till 30 minuter efter EAP/placebo på statistisk signifikant nivå. Efter sedering med detomidin sjönk däremot hjärtfrekvensen och antalet andra gradens AV-block ökade i omfattning. Hjärtfrekvensen steg sedan efterhand med tiden och var åter i nivån med baslinjemätningen efter 90 minuter. Ingen statistiskt signifikant skillnad mellan grupperna kunde ses. Dock kunde värden för placebo-gruppen inte skiljas på statistisk signifikant nivå från baseline-värdet redan från och med 30 minuter efter detomidin medan värdena för EAP-gruppen var statistiskt signifikant skilda från baseline-värdet till och med 45 minuter efter detomidin. Se figur 10.



Figur 10. Hjärtfrekvensen angivet som medelvärden  $\pm$ SD vid de olika mättidpunkterna för grupperna placebo och EAP. \*värdet är statistiskt signifikant skilt från baseline-värdet.

## Andningsfrekvens

Medelvärden för andningsfrekvensen sjönk något under försökets gång och förblev något lägre vid försökets slut än vid baslinjemätningen. Sänkningen i andningsfrekvens jämfört med baslinjemätningen var statistiskt signifikant för placebogruppen vid 20, 25, 30, 45, 60, 75 och 90 minuter efter administration av detomidin medan för EAP-gruppen detta endast gällde för tidpunkten 60 minuter efter administration av detomidin. Ingen statistiskt signifikant skillnad kunde dock ses mellan grupperna. Se figur 11.

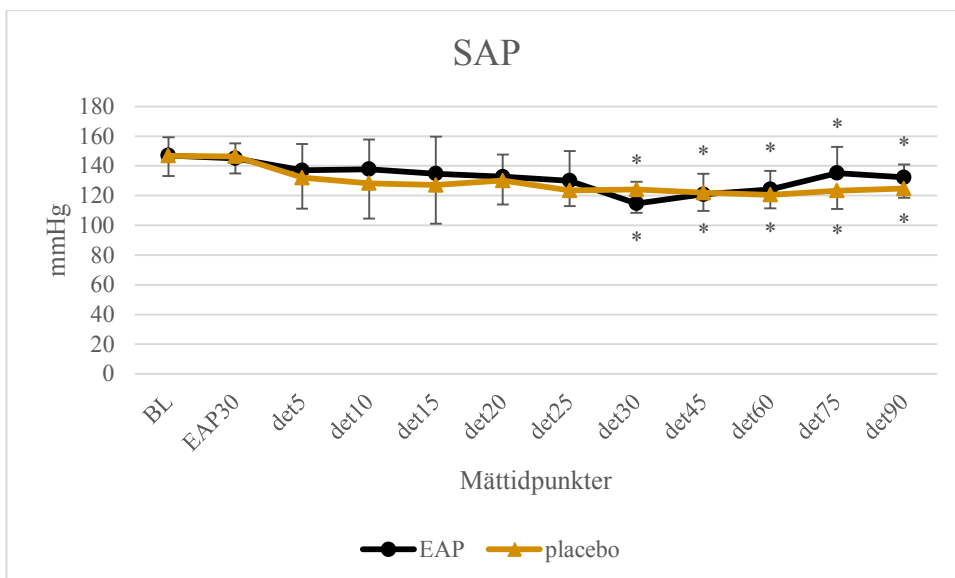


Figur 11. Andningsfrekvensen angivet som medelvärden  $\pm$ SD vid de olika mättidpunkterna för grupperna placebo och EAP. \*värdet är statistiskt signifikant skiljt från baseline-värdet.

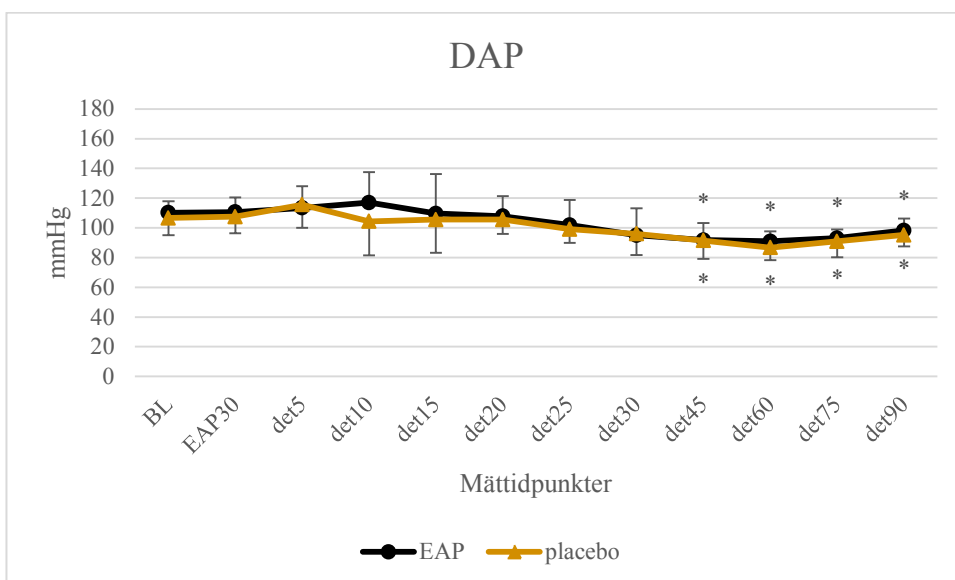
## Blodtryck

Blodtrycket höll sig relativt stabilt under försökets gång, sjönk sakta kontinuerligt cirka 20mmHg från baslinjemätning till sista mättidpunkten 90 minuter efter detomidin-administrering.

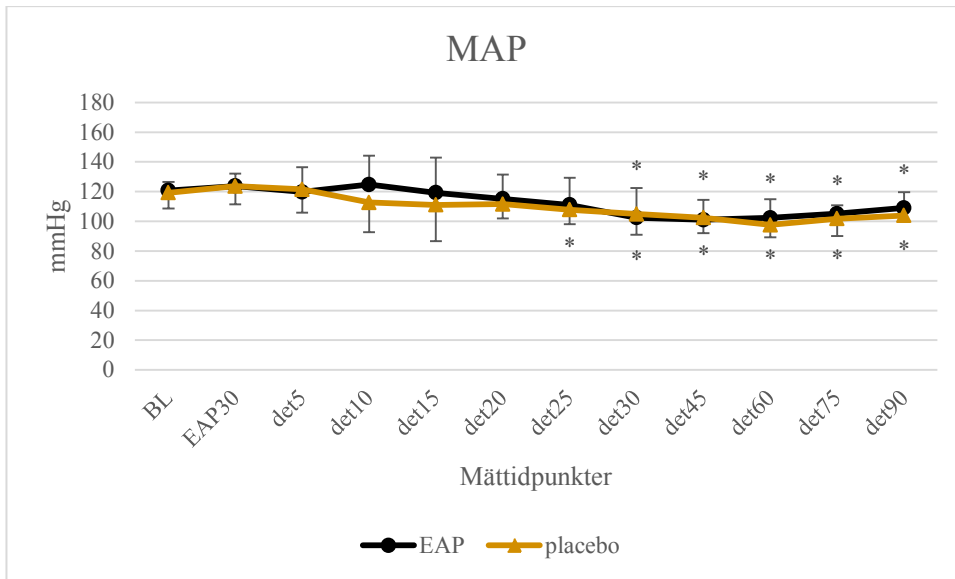
Blodtryckssänkningen var statistiskt signifikant jämfört med baseline från 25 (MAP för placebogruppen), 30 (SAP för båda grupperna och MAP för EAP-gruppen) eller 45 minuter (DAP för båda grupperna) efter sedering till och med försökets slut 90 minuter efter sedering. Ingen statistiskt signifikant skillnad mellan grupperna kunde ses. Se figur 12, 13 och 14.



Figur 12. Systoliskt artärtryck angivet som medelvärden  $\pm$ SD vid de olika mättidpunkterna för grupperna placebo och EAP. \*värdet är statistiskt signifikant skiljt från baseline-värdet.



Figur 13. Diastoliskt artärtryck angivet som medelvärden  $\pm$ SD vid de olika mättidpunkterna för grupperna placebo och EAP. \*värdet är statistiskt signifikant skiljt från baseline-värdet.



Figur 14. Medelartärtryck angivet som medelvärden  $\pm$ SD vid de olika mättpunkterna för grupperna placebo och EAP. \*värdet är statistiskt signifikant skiljt från baseline-värdet.

## DISKUSSION

Resultatet från denna studie kunde inte visa på någon statistiskt signifikant skillnad i sederingsgrad mellan grupperna som behandlats med EAP och placebo innan sedering. Hypotesen för denna studie innebar att EAP skulle lugna hästen och göra den mer mottaglig för sedering med en  $\alpha_2$ -agonist och att detta skulle kunna behöva tas i beaktande vid val av sederingsdos och att dosen i så fall skulle behöva justeras nedåt. Detta skulle innebära att det vore relevant att ta reda på om hästen behandlats med EAP inför sedering i det dagliga veterinära arbetet. Det man kan dra som slutsats av denna studie är att EAP inte påverkar sederingsgraden i så pass stor utsträckning att sederingsdosen behöver justeras för hästar behandlade med EAP.

Verkningsmekanismen för feromoner såsom EAP är fortfarande inte helt kartlagd. Dock verkar det inte helt otroligt att de via nervsignaler påverkar signalsubstanser och hormoner och skulle kunna interagera med läkemedelssubstanser. I de studier som gjorts på häst har EAP's effekt studerats i för hästar stressande situationer såsom transporter, klippning, avvänjning och passera en ny uppsatt fransgardin. Dessa studier har visat på ett minskat oros-/rädslobeteende och minskad hjärtfrekvens vilket skulle kunna tolkas som ett minskat sympatikuspåslag (Cozzi *et al.*, 2013, Falewee *et al.*, 2006, Jönsson Assmundson *et al.*, 2014, Van Sommeren and Van Dierendonck, 2010).

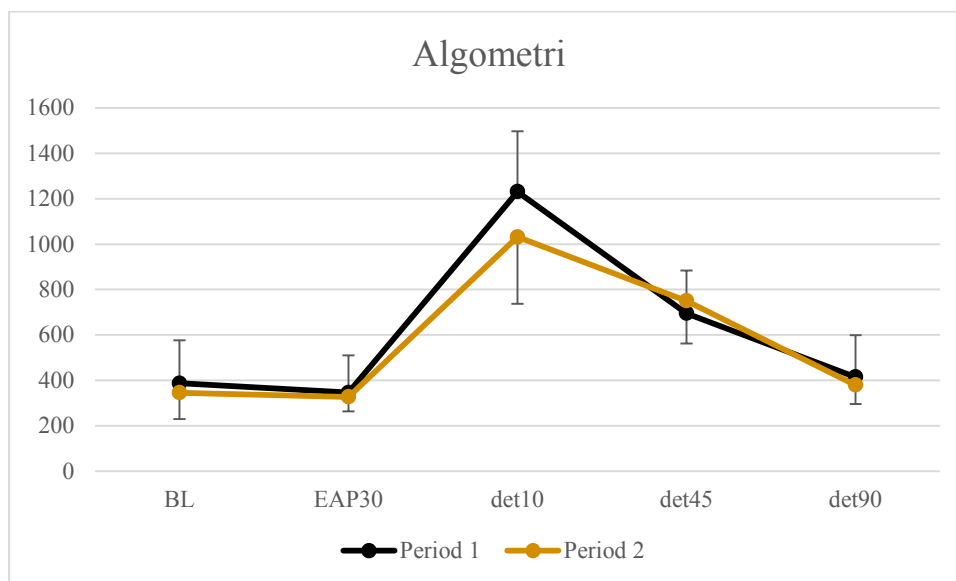
Graden av stress i samband med användning av EAP borde påverka hur stor effekt av EAP som kan uppnås. De hästar som var med i denna studie var mycket lugna och därför kanske inte EAP hade så stor effekt på dem. Har man en orolig häst kan den vara svår att få ordentligt sederad och då kanske man kan ha hjälp av att först behandla hästen med EAP för att få den mer harmonisk och få mindre katekolaminer cirkulerande i kroppen och därmed mer mottaglig för sederingen. Eftersom en häst som är mindre stressad behöver mindre mängd sederingsmedel för att uppnå önskvärd sederingsgrad jämfört med en mer stressad häst på grund av att den har mindre exciterande substanser cirkulerande i kroppen som motverkar  $\alpha_2$ -agonisters sederande effekt.

Syntetiskt EAP ska efterlikna det feromon som frisätts vid juverområdet hos ston under digivningstiden. Frågan är om även vuxna hästar är mottagliga för dess effekter. Feromoner är arts specifika, kanske är de också är specifika för olika utvecklingsstadier i livet, såsom till exempel digivning, sexuellt beteende?

Kanske var skillnaderna i sederingsgrad så pass små mellan grupperna att de inte kunde mätas med de parametrar vi valde att använda i denna studie. Antalet hästar i denna studie var så pass få att det inte helt går att avfärda att det fanns mer subtila skillnader i sederingsgrad mellan grupperna. Dessutom var randomiseringen gjord så att det varje försöksdag var en häst som fick placebo och en häst som fick EAP. Det finns en möjlighet att den hästen som fick placebo påverkades av den andra hästens behandling, en så kallad crossover-effekt. Detta diskuteras i en annan studie där EAP gavs till föl som avvandes i par där bara den ena förlungen fick EAP (Berger *et al.*, 2013).

Sederingsgrad är svårt att mäta helt objektivt. Att mäta hur mycket hästen sänker huvudet är dock en vedertagen metod (Figueiredo *et al.*, 2005, l'Ami *et al.*, 2013, Love *et al.*, 2011b, Love *et al.*, 2011a, Mama *et al.*, 2009, Pestean *et al.*, 2010) men inga skillnader kunde upptäckas i denna studie. Hade det funnits stora skillnader borde detta visat sig även med detta lilla studiematerial. Huvudhöjden följde samma mönster som setts i andra liknande försök (Love *et al.*, 2011a, Pestean *et al.*, 2010, l'Ami *et al.*, 2013, Mama *et al.*, 2009). I diagrammet i figur 6 så presenteras värdena i procent av huvudhöjden vid baslinjemätningen. Då statistiken skulle beräknas användes istället huvudhöjden i cm då det annars blev error när basvärdet var det samma (100%) för alla hästarna.

För att få tillförlitliga mätningar för mekaniska tröskelvärden med algometri behöver den som utför det vara van och göra på samma sätt varje gång. Utövaren i denna studie hade tränat inför försöket men standardavvikelse blev trots allt ganska stora. Standardavvikelse blev störst vid mättillfället 10 minuter efter detomidin då hästarna var som mest sederade och hade högst MNT's. Vid så höga tryck med algometern är det svårare att vara exakt med när hästen reagerar och det är dags att släppa trycket. Hästarnas mekaniska tröskelvärden är individuella och kan endast jämföras vid olika tidpunkter på samma individ, inte mellan individer. Olika utövare kan heller ej jämföras men en utövares mätningar kan jämföras med varandra. I denna studie kan även en träningseffekt ha uppstått mellan period 1 och 2, vilket kan ha dolt en eventuell gruppskillnad. I figur 16 visas medelvärdena för MNT som erhöles i period 1 och period 2 för att visa om utövaren skiljde sig i sina mätningar i de olika perioderna. Det var ingen statistiskt signifikant skillnad mellan de uppmätta tröskelvärdena vid de olika mättidpunkterna mellan period 1 och 2.



Figur 15. Mekaniskt nociceptiva tröskelvärden angivet som medelvärden  $\pm$ SD vid de olika mättidpunkterna för hästarna i period 1 respektive period 2.

De icke parametriska variablerna bedömdes enligt en låg skala (0-1, 2 eller 3) vilket kan ha gjort det svårt att detektera mindre skillnader mellan grupperna. Allmän sederingsgrad kanske hade gett ett annat utslag om man använt sig av en bredare VAS-skala från 0 till 100 såsom användes av Love *et al.* (2011 a-b). Men det är inte så lätt att använda en så bred skala när man inte kör alla hästar på en gång. Klippmaskinen som användes för att se hur hästen reagerade på ljud och beröring hade tyvärr en mycket låg ljudvolym varför få hästar reagerade. Det går därför inte att dra några slutsatser av de små skillnader i reaktionsmönster för ljud mellan grupperna som kan ses i figur 14. Däremot borde beröringsprovokationen med klippmaskinen mot bringan ha gett utslag vid faktisk skillnad mellan grupperna. Reaktioner på yttre stimuli påverkas också av hästens temperament, därför är det bra att varje häst är sin egen kontroll. Det kan finnas en risk med att provokationerna blir ett inlärningsmoment som gör att hästen reagerar mindre för varje gång. Beröringspunkten mitt på bringan, ett ställe där hästar inte känner sig bekväma med att låta sig beröras av främlingar, valdes för att undvika att en sådan inlärning skulle ske.

De provokationer som riskerade att störa hästen i sin sedering såsom algometri, klippmaskintesten och ataxi i rörelse gjordes sist vid varje mätpunkt så att de andra variablerna kunde registreras då hästen var ostörd i sin sedering. Ataxi i rörelse utfördes endast fyra gånger under försökets gång för att inte störa sederingen för mycket. Hästarna flyttades då ett steg framåt och ett steg bakåt som allra sista

punkt vid den mättidpunkten. De tidpunkterna då detta gjordes var enbart sådana där nästa mätning gjordes 15 minuter senare, de gjordes alltså inte då det var 5 minuter mellan mätningarna, så att sederingen skulle hinna fördjupas mellan mätningarna.

De uppmätta fysiologiska variablerna skilde sig inte mellan grupperna. Hjärtfrekvensen sjönk efter sedering med detomidin och antalet andra gradens AV-block ökade vilket var förväntat. Andningsfrekvensen sjönk också. Frekvenssänkningen för både hjärtslag och andning stämde väl överens i omfattning och duration med vad som setts i en annan studie där hästarna sederades med 10µg/kg kroppsvikt detomidin (Love *et al.*, 2011b). Det var oturligt att EKG-utrustningen bara fanns att tillgå till 12 av 16 hästar, de värden som erhöles via det alternativa sättet för dessa fyra hästar låg dock i samma nivå som övriga hästars och dessa mätningar bedöms därmed lika trovärdiga som de som beräknades utifrån de inspelade elektrokardiogrammen. Om man tittar på linjerna för andningsfrekvensen i figur 2 så kan det tyckas vara en skillnad mellan gruppen för placebo och EAP, men i och med att andningsfrekvensen för häst är så pass låg så blir standardavvikelseerna så stora att ingen statistisk skillnad kan ses mellan grupperna.

För blodtrycket syntes inte den förväntade initiala blodtrycksstegringen som kommer efter injektion med  $\alpha_2$ -agonist eftersom första mätningen gjordes 5 minuter efter detomidin administrerats så hade den troligtvis redan passerat (Love *et al.*, 2011a).

Det var ingen häst som blev mer än måttligt sederad så det fanns utrymme för att bli ännu mer sederad. Därmed känns dosen detomidin 10µg/ml per kg kroppsvikt som ett bra val av dos för att kunna se om ytterligare fördjupning i sederingsgrad skulle ske med tillägg av EAP. Man kan spekulera i om eftersom hästarna var så lugna och i hemtam miljö, att man eventuellt kunde sett en skillnad mellan grupperna vid en lägre dos.

Fler studier med ett större antal hästar och med hästar i stressade situationer skulle behövas för att kunna säga om EAP kan ha effekt på sederingsgraden som producerats av detomidin till häst.

## **KONKLUSION OCH KLINISK RELEVANS**

I denna studie kunde det inte påvisas att EAP påverkar sederingsgraden av detomidin hos häst i så pass stor utsträckning att det kunde statistiskt säkerställas. Det går med stor sannolikhet att använda samma dos detomidin för en häst som behandlats med EAP innan sederingen som en häst som inte behandlats med EAP, utan att riskera överdoseringseffekter.



## REFERENSER

- Angel, I. & Langer, S. Z. 1988. Adrenergic-induced hyperglycemia in anaesthetized rats: involvement of peripheral alpha 2-adrenoceptors. *European journal of pharmacology*, 154, 191-6.
- Ansah, O. B., Raekallio, M. & Vainio, O. 2000. Correlation between serum concentrations following continuous intravenous infusion of dexmedetomidine or medetomidine in cats and their sedative and analgesic effects. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 23, 1-8.
- Berger, J. M., Spier, S. J., Davies, R., Gardner, I. A., Leutenegger, C. M. & Bain, M. 2013. Behavioral and physiological responses of weaned foals treated with equine appeasing pheromone: A double-blinded, placebo-controlled, randomized trial. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*, 8, 265-277.
- Brennan, P. A. & Keverne, E. B. 2004. Something in the Air? New Insights into Mammalian Pheromones. *Current Biology*, 14, R81-R89.
- Brockman, R. P. 1981. Effect of xylazine on plasma glucose, glucagon and insulin concentrations in sheep. *Research in veterinary science*, 30, 383-4.
- Cozzi, A., Lafont Lecuelle, C., Monneret, P., Articiaux, F., Bougrat, L., Bienboire Frosini, C. & Pageat, P. 2013. The impact of maternal equine appeasing pheromone on cardiac parameters during a cognitive test in saddle horses after transport. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*, 8, e4.
- De Morais, H. S. & Muir, W. W., 3rd 1995. The effects of medetomidine on cardiac contractility in autonomically blocked dogs. *Veterinary surgery*, 24, 356-64.
- Dorries, K. M., Adkins-Regan, E. & Halpern, B. P. 1997. Sensitivity and Behavioral Responses to the Pheromone Androstenone Are Not Mediated by the Vomeronasal Organ in Domestic Pigs. *Brain, Behavior and Evolution*, 49, 53-62.
- Doze, V., Chen, B. X., Li, Z. & Maze, M. 1989. Pharmacologic characterization of the receptor mediating the hypnotic action of dexmedetomidine. *Acta veterinaria Scandinavica. Supplementum*, 85, 61-4.
- England, G. C. W., Clarke, K. W. & Goossens, L. 1992. A comparison of the sedative effects of three  $\alpha$ 2-adrenoceptor agonists (romifidine, detomidine and xylazine) in the horse. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 15, 194-201.
- Falewee, C., Gaultier, E., Lafont, C., Bougrat, L. & Pageat, P. 2006. Effect of a synthetic equine maternal pheromone during a controlled fear-eliciting situation. *Applied Animal Behaviour Science*, 101, 144-153.
- FASS (2009-07-24). *Domosedan® vet.*  
<http://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=19850620000014> [2014-12-08]
- Figueiredo, J. P., Muir, W. W., Smith, J. & Wolfrom, G. W. 2005. Sedative and analgesic effects of romifidine in horses. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 3, 249-258.
- Gasthuys, F., Parmentier, D., Goossens, L. & De Moor, A. 1990. A preliminary study on the effects of atropine sulphate on bradycardia and heart blocks during romifidine sedation in the horse. *Veterinary Research Communications*, 14, 489-502.
- Gaultier, E., Bonnafous, L., Vienet-Lague, D., Falewee, C., Bougrat, L., Lafont-Lecuelle, C. & Pageat, P. 2009. Efficacy of dog-appeasing pheromone in reducing behaviours associated with fear of unfamiliar people and new surroundings in newly adopted puppies. *The Veterinary record*, 164, 708-14.
- Guo, T. Z., Tinklenberg, J., Olikier, R. & Maze, M. 1991. Central alpha 1-adrenoceptor stimulation functionally antagonizes the hypnotic response to dexmedetomidine, an alpha 2-adrenoceptor agonist. *Anesthesiology*, 75, 252-6.
- Henneke, D. R., Potter, G. D., Kreider, J. L. & Yeates, B. F. 1983. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine veterinary journal*, 15, 371-2.
- IRSEA Research Institute in Semiochemistry and Applied Ethology (2014-12-08). *Products stemming from our research.* <http://www.group-irsea.com/p/our-products-37.html> [2014-12-08]
- Jemiolo, B., Harvey, S. & Novotny, M. 1986. Promotion of the Whitten effect in female mice by synthetic analogs of male urinary constituents. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83, 4576-4579.

- Jönsson Assmundson, E., Rannankari, F., Sassner, H. & Michanek, P. 2014. Effect of equine appeasing hormone on heart rate of horses loaded for road transport. *In: Janne Winther, J. L., Line Peerstrup Ahrendt, Jens Malmkvist (ed.) 10th International equitation science conference.* Aarhus, Denmark: Aarhus university.
- Kaartinen, L., Mero, M., Raekallio, M., Riihe, J. & Sandholm, M. 1991. *Anestesiologi för veterinärer*, Helsingfors, Helsingfors : Veterinärmedicinska högskolan.
- L'ami, J. J., Vermunt, L. E., Van Loon, J. P. a. M. & Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M. M. 2013. Sublingual administration of detomidine in horses: Sedative effect, analgesia and detection time. *The Veterinary Journal*, 196, 253-259.
- Leblanc, P. H., Eberhart, S. W. & Robinson, N. E. 1993. In vitro effects of alpha 2-adrenergic receptor stimulation on cholinergic contractions of equine distal airways. *American journal of veterinary research*, 54, 788-92.
- Love, E. J., Taylor, P. M., Murrell, J., Whay, H. R. & Waterman-Pearson, A. E. 2011a. Assessment of the sedative effects of buprenorphine administered with 10 µg/kg detomidine in horses. *Veterinary Record*, 168, 379.
- Love, E. J., Taylor, P. M., Murrell, J., Whay, H. R. & Waterman-Pearson, A. E. 2011b. Assessment of the sedative effects of buprenorphine administered with 20 µg/kg detomidine in horses. *Veterinary Record*, 168, 409.
- Mama, K. R., Grimsrud, K., Snell, T. & Stanley, S. 2009. Plasma concentrations, behavioural and physiological effects following intravenous and intramuscular detomidine in horses. *Equine Veterinary Journal*, 41, 772-777.
- Mason, D. E. 2004. Chapter 15 - Anesthetics, tranquilizers and opioid analgesics. *In: Horspool, J. J. B. J. I. (ed.) Equine Clinical Pharmacology.* Oxford: W.B. Saunders.
- Mengoli, M., Pageat, P., Lafont-Lecuella, C., Monneret, P., Giacalone, A., Sighieri, C. & Cozzi, A. 2014. Influence of emotional balance during a learning and recall test in horses (*Equus caballus*). *Behavioural Processes*, 106, 141-150.
- Meredith, M. 2001. Human Vomeronasal Organ Function: A Critical Review of Best and Worst Cases. *Chemical Senses*, 26, 433-445.
- Merritt, A. M., Burrow, J. A. & Hartless, C. S. 1998. Effect of xylazine, detomidine, and a combination of xylazine and butorphanol on equine duodenal motility. *American journal of veterinary research*, 59, 619-23.
- Merritt, A. M., Campbell-Thompson, M. L. & Lowrey, S. 1989. Effect of xylazine treatment on equine proximal gastrointestinal tract myoelectrical activity. *American journal of veterinary research*, 50, 945-9.
- Mills, D. 2005. Pheromonotherapy: theory and applications. *In Practice*, 27, 368-373.
- Mills, D. S., Ramos, D., Estelles, M. G. & Hargrave, C. 2006. A triple blind placebo-controlled investigation into the assessment of the effect of Dog Appeasing Pheromone (DAP) on anxiety related behaviour of problem dogs in the veterinary clinic. *Applied Animal Behaviour Science*, 98, 114-126.
- Moens, Y., Lanz, F., Doherr, M. G. & Schatzmann, U. 2003. A comparison of the antinociceptive effects of xylazine, detomidine and romifidine on experimental pain in horses. *Veterinary anaesthesia and analgesia*, 30, 183-90.
- Novotny, M. V., Ma, W., Wiesler, D. & Zidek, L. 1999. *Positive identification of the puberty-accelerating pheromone of the house mouse: the volatile ligands associating with the major urinary protein.*
- Omote, K., Kitahata, L. M., Collins, J. G., Nakatani, K. & Nakagawa, I. 1991. Interaction between opiate subtype and alpha-2 adrenergic agonists in suppression of noxiously evoked activity of WDR neurons in the spinal dorsal horn. *Anesthesiology*, 74, 737-43.
- Ossipov, M. H., Suarez, L. J. & Spaulding, T. C. 1989. Antinociceptive interactions between alpha 2-adrenergic and opiate agonists at the spinal level in rodents. *Anesthesia and analgesia*, 68, 194-200.
- Pageat, P. & Gaultier, E. 2003. Current research in canine and feline pheromones. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 33, 187-211.
- Pestean, C., Oana, L., Ober, C., Micl?U, V., Oros, D., Pestean, C., Oana, L., Ober, C., Micl?U, V. & Oros, D. 2010. Assessment of the sedative effects of xylazine, detomidine and romifidine in horses. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 15, 282-284.

- Puumala, T., Riekkinen, P., Sr. & Sirvio, J. 1997. Modulation of vigilance and behavioral activation by alpha-1 adrenoceptors in the rat. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 56, 705-12.
- Rang, H. P., Dale, M. M. & Ritter, J. M. 1999. How drugs act: general principles. In: Hunter, L. (ed.) *Pharmacology 4th edition*. Edingurgh: Churchill Livingstone.
- Robertson, S. A., Carter, S. W., Donovan, M. & Steele, C. 1990. Effects of intravenous xylazine hydrochloride on blood glucose, plasma insulin and rectal temperature in neonatal foals. *Equine veterinary journal*, 22, 43-7.
- Ruffolo, R. R., Jr., Stadel, J. M. & Hieble, J. P. 1994. Alpha-adrenoceptors: recent developments. *Medicinal research reviews*, 14, 229-70.
- Sarazan, R. D., Starke, W. A., Krause, G. F. & Garner, H. E. 1989. Cardiovascular effects of detomidine, a new alpha 2-adrenoceptor agonist, in the conscious pony. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 12, 378-88.
- Savola, J. M. 1989. Cardiovascular actions of medetomidine and their reversal by atipamezole. *Acta veterinaria Scandinavica. Supplementum*, 85, 39-47.
- Schaal, B., Coureaud, G., Langlois, D., Ginies, C., Semon, E. & Perrier, G. 2003. Chemical and behavioural characterization of the rabbit mammary pheromone. *Nature*, 424, 68-72.
- Schatzmann, U., Jossfck, H., Stauffer, J. L. & Goossens, L. 1994. Effects of alpha 2-agonists on intrauterine pressure and sedation in horses: comparison between detomidine, romifidine and xylazine. *Zentralblatt fur Veterinarmedizin. Reihe A*, 41, 523-9.
- Scheinin, M., Lomasney, J. W., Hayden-Hixson, D. M., Schambra, U. B., Caron, M. G., Lefkowitz, R. J. & Freneau, R. T., Jr. 1994. Distribution of alpha 2-adrenergic receptor subtype gene expression in rat brain. *Brain research. Molecular brain research*, 21, 133-49.
- Schmeling, W. T., Kampine, J. P., Roerig, D. L. & Warltier, D. C. 1991. The effects of the stereoisomers of the alpha 2-adrenergic agonist medetomidine on systemic and coronary hemodynamics in conscious dogs. *Anesthesiology*, 75, 499-511.
- Siracusa, C., Manteca, X., Cuenca, R., Del Mar Alcala, M., Alba, A., Lavin, S. & Pastor, J. 2010. Effect of a synthetic appeasing pheromone on behavioral, neuroendocrine, immune, and acute-phase perioperative stress responses in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 237, 673-81.
- Stenberg, D. 1989. Physiological role of alpha 2-adrenoceptors in the regulation of vigilance and pain: effect of medetomidine. *Acta veterinaria Scandinavica. Supplementum*, 85, 21-8.
- Swanson, L. W. & Petrovich, G. D. 1998. What is the amygdala? *Trends in Neurosciences*, 21, 323-331.
- Tomasic, M., Mann, L. S. & Soma, L. R. 1997. Effects of sedation, anesthesia, and endotracheal intubation on respiratory mechanics in adult horses. *American journal of veterinary research*, 58, 641-6.
- Van Sommeren, A. & Van Dierendonck, M. 2010. The use of equine appeasing pheromone to reduce ethological and physiological stress symptoms in horses. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*, 5, 213-214.
- Willoughby, R. A., Ecker, G. L., Mckee, S. L. & Riddolls, L. J. 1991. Use of scintigraphy for the determination of mucociliary clearance rates in normal, sedated, diseased and exercised horses. *Canadian journal of veterinary research*, 55, 315-20.
- Yamashita, K., Tsubakishita, S., Futaok, S., Ueda, I., Hamaguchi, H., Seno, T., Katoh, S., Izumisawa, Y., Kotani, T. & Muir, W. W. 2000. Cardiovascular effects of medetomidine, detomidine and xylazine in horses. *The Journal of veterinary medical science*, 62, 1025-32.

Appendix1

**Protocol EAP-study**

Date:

Recorder keeper:

**Horse:**

**Trial number:**

**Randomization number:**

Age:

Temperament:

Body condition score:

Weight:

Horse in the box at time:

EAP administration time:

Detomidin administration time:

Dose detomidin:

Time (min)	BP(mmHg)			HR (/min)	RR (/min)	HHAT G (cm)	Lip sep (0-2)	Posture (0/1)	Ataxia (0-3) Standing /moving	Sed score (0-3)	Algometry (kPa)	Clip machine		General behavior (in words)	Temp (°C)
	SA P	DA P	MAP									Noise (0/1)	Touc h (0/1)		
Baseline Time:															
30 post EAP Time:															
5 post deto															
10 post deto															
15 post deto															
20 post deto															
25 post deto															
30 post deto															
45 post deto															
60 post deto															
75 post deto															
90 post deto															

## Definitions

BP	blood pressure (Cardell)
HR	heart rate (Televet 100)
RR	respiratory rate (observation)
HHAG	head height above the ground, measured from the lowest point of the under lip
Lip sep	0= lips not separated 1= lips are separated little 2= lips are separated much
Posture	0= normal 1= abnormal
Ataxia	0= stands in balance, okay to rest one leg, don't sway, no head jerks. 1= stable but slightly swaying 2= swaying, adjusting balance 3= leaning against wall, falling Willingness to move one step forward and one step back: 0= moves willingly and with no effort 1= moves with some effort 2= moves with much effort 3= do not move
Sed score	0= no sedation (bright and alert, listening to sounds, turning head toward sounds) 1=mild sedation (lower ear and neck carriage, reduced eye alertness, appearance of lip separation, slight base-wide stance, slightly relaxed postural tone) 2= moderate sedation (obvious ear tip separation, lower, increased base-wide stance, appearance of crossed legs, buckled knees and/or fetlocks, more relaxed postural tone) 3= deep sedation (pronounced ear tip separation, markedly lower neck carriage, greatly reduced eye alertness, extreme lip separation, markedly increased base-wide stance, increased occurrence and severity of crossed legs, buckled knees and/or fetlocks, pronounced loss of postural tone)
Algotometry	The mean from three measurements at a pre-marked point at latissimus dorsi. A line between T4-T5 to tuber coxae is divided in four and the third point from the front is marked out. (Algotometer from Somedic)
Clip machine	First notice the reaction when turning on the clipper at a distance of 1 m, and then notice the reaction when touching with the clipper on the brisket.
Noise	0= no reaction 1= reaction, movement of part of the body
Touch	0= no reaction 1= reaction, movement of part of the body
General behavior:	Moving around, neighing, scratching hoof, defecating, urinating, searching food, scratching, and etcetera.