



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap
Institutionen för Kliniska Vetenskaper

Plasmakoncentrationen av atropin vid topikal administrering hos häst

- en pilotstudie

Emma Hellgren

*Uppsala
2015*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2015:68*

Plasmakoncentrationen av atropin vid topikal administrering hos häst - en pilotstudie

Plasma concentration of atropine after topical administration in horses

Emma Hellgren

Handledare: Pia Haubro Andersen, institutionen för kliniska vetenskaper

Biträdande handledare: Lena Ström, institutionen för kliniska vetenskaper

Examinator: Marie Rhodin, institutionen för kliniska vetenskaper

Examensarbete i veterinärmedicin, kliniska vetenskaper

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0736

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2015

Serietitel, nr: Examensarbete / Sveriges lantbruksuniversitet, Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap, Veterinärprogrammet 2015:68

ISSN: 1652-8697

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

Nyckelord: atropin, häst, plasmakoncentration, farmakokinetik

Keywords: atropine, horse, plasmakoncentration, pharmacokinetics

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

SAMMANFATTNING

Uveit hos häst är ett vanlig sekundärt problem till hornhinneskador. Hästar med uveit behandlas ofta med atropin som är ett pupillvidgande läkemedel och som genom sin verkningsmekanism bidrar till minskad risk för kroniska sammanväxningar mellan ögats olika strukturer samt lindrar den smärtsamma spasm i ciliarmuskulaturen som inflammationen ger. Atropinbehandling har associerats med ökad risk för nedsatt tarmmotilitet och utveckling av kolik hos häst men atropinets farmakokinetik hos häst är dock till stora delar okänd. Syftet med studien var därför att undersöka plasmakoncentration och terminal halveringstid av atropin efter intravenös och topikal giva. Åtta hästar av rasen svenskt varmblood deltog i studien. Atropin (1 mg) gavs intravenöst och manuellt (i form av ögondroppar) till häst A och B i en cross-over design samt via ögonkateter till häst C-H. Under åtta timmar togs blodprover på hästarna via venös permanentkateter. Var tredje timma gjordes en klinisk undersökning på samtliga individer i studien. Blodproverna analyserades med avseende på plasmakoncentration av atropin med Ultra-Performance Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS). Den terminala halveringstiden räknades ut. Hos häst A och B uppnåddes en plasmakoncentration på 3,71 ng/ml respektive 5,14 ng/ml (intravenös giva) samt 0,66 ng/ml respektive 14,8 ng/ml (manuell, topikal giva) tio minuter efter administrering. Vid atropingiva via ögonkateter (häst C och G) uppmättes en plasmakoncentration på 7,33 ng/ml respektive 1,43 ng/ml tio minuter efter administrering. Den terminala halveringstiden fastställdes till 107 ± 4 minuter (intravenös giva), 60 ± 3 minuter (manuell giva) samt 63 ± 13 minuter (giva via ögonkateter). Fyra av hästarna som deltog i studien (häst D, E, F samt H) uppnådde inte detekterbar plasmakoncentration (detektionsgräns 0,13 ng/ml). Inga hästar som deltog i studien uppvisade några tecken på kolik eller nedsatt tarmmotilitet. Resultaten från studien visar på stor individuell variation i uppnådd plasmakoncentration samt även variation beroende på administrationsväg. Resultaten indikerar att halveringstiden för atropin är kort och därmed att den systemiska påverkan efter en engångsdos inte är långvarig. Den kliniska signifikansen av resultaten bör dock studeras vidare.

SUMMARY

Uveitis in horses is a common secondary problem to corneal lesions. Atropine is often included in the treatment plan for horses with uveitis. Atropine is a drug that induces mydriasis and cycloplegia and thus reduces the risk of chronic adhesions between the eye's various structures. Atropine also relieves the painful spasm of the ciliary muscles induced by the inflammation. Atropine treatments have previously been associated with an increased risk of developing impaired intestinal motility and colic. The purpose of this study was to investigate the plasma concentration and terminal half-life of atropine in plasma after intravenous administration and conjunctival installation and if possible, to relate these to development of colic or decreased intestinal motility. Eight horses of the breed Swedish Warmblooded trotters participated in the study. Two horses (A and B) were administered atropine sulphate (1 mg) intravenously and conjunctivally (manual administration) in a cross-over design with a wash-out period of one week between treatments. Six horses (horse C-H) were administered atropine topically through a subpalpebral catheter. Blood samples were taken through an intravenous catheter in the jugular vein regularly for eight hours. During the entire study period, a clinical examination was performed every three hours. Blood samples were analyzed for plasma concentration of atropine using Ultra Performance Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS) and the terminal half-life was calculated. Plasma concentrations of atropine, ten minutes after intravenous administration were 3.71 and 5.14 ng/mL (horse A and B, respectively). After manual conjunctival installation of eye drops in these horses, plasma concentrations of atropine were 0.66 and 14.8 ng/mL ten minutes after administration. After installation of atropine through a subpalpebral catheter, plasma concentrations were 7.33 and 1.43 ng/mL (horse C and G, respectively) ten minutes after administration. Atropine plasma concentration was below the detection limit (0.13 ng/mL) in horse D, E, F and H in all blood samples. Terminal half-life was calculated to be 107 ± 4 minutes after intravenous administration, 60 ± 3 after topical administration of eye drops, and 63 ± 13 minutes after administration via subpalpebral catheter. No horses showed signs of impaired intestinal motility or colic. This pilot study showed large differences in plasma concentration of atropine depending on topical administration route and individual horses. The clinical significance of these findings needs to be determined. Decreased intestinal motility or colic was not elicited in any of the regimens.

INNEHÅLL

INLEDNING	1
LITTERATURGENOMGÅNG	3
Sökord	3
Administrering av läkemedel	3
Läkemedel till ögat.....	3
Systemisk absorption.....	7
Atropin	8
Atropinets verkningsmekanism och användningsområde	8
Atropinets farmakokinetik.....	9
EXPERIMENTELL STUDIE	11
MATERIAL OCH METODER	11
Studiedesign	11
Hästar och övervakning.....	11
Klinisk och oftalmologisk undersökning.....	11
Medicinering	11
Undersökningsprotokoll	12
Blodprovstagning	13
Provanalys	13
Analys av farmakokinetiska parametrar	13
RESULTAT	13
Klinisk undersökning	13
Intravenös giva	14
Topikal, manuell giva.....	14
Topikal administrering via subpalpebralkateter	15
DISKUSSION	17
Konklusion	19

INLEDNING

Ögonskador är vanligt förekommande hos hästar och topikal administrering av läkemedel är en förutsättning för god läkning och för att minimera riskerna för sekundära problem och sjukdomstillstånd i ögat. Iris (regnbågshinna) och ciliarkropp (strålkropp) utgör främre delen av uvea (druvhinnan). Iris innehåller dilaterande och kontraherande muskulatur och reglerar därigenom pupillstorleken och ljusmängden till ögat. Vid främre uveit uppstår en konstant kontraktion av iris- och ciliarmuskulaturen som en fysiologisk respons och pupillen blir då sammandragen (mios). Den kontraherade pupillen medför att kontaktytan mellan iris och lins blir större, vilket ökar risken för kroniska sammanväxningar. Spasmen i ciliarmuskulaturen är mycket smärtsam, vilket är ett välfärdsproblem för hästen. Vid uveit (druvhinneinflammation), som är ett vanligt sekundärt problem vid hornhinneskador, ges vanligen atropin topikalt i ögat upprepade gånger tills klinisk effekt uppnås, d.v.s. pupillen vidgas vilket minskar risken för kroniska sammanväxningar vilket annars kan bli en konsekvens av en obehandlad uveit. Läkemedlet ger också smärtlindring genom att blockera den smärtsamma spasm i ciliarmuskulaturen som initieras av inflammationen. Atropin har förutom dessa önskvärda effekter också flera oönskade systemiska bieffekter. Hos häst har det visats att intravenöst administrerat atropin kan ge nedsatt auskulterbar tarmmotilitet (Ducharme & Fubini, 1983) samt minskad myoelektrisk och mekanisk aktivitet i tarmen (Adams *et al.*, 1984). Williams *et al.*, (2000) har visat att topikalt administrerat atropin kan påverka tarmmotoriken negativt samt vid mycket frekvent medicinering orsaka kolik. Det är inte känt hur stort det systemiska upptaget är vid topikal dosering av läkemedlet vilket är viktigt att ta reda på mera om för att försöka skapa effektiva men ändå säkra behandlingsstrategier.

Farmakodynamik tillsammans med farmakokinetik hjälper till att beskriva förhållandet mellan den givna dosen av ett läkemedel och hur patienten svarar på behandlingen, alltså läkemedlets effekt. Olika farmakokinetiska parametrar kan användas för att beskriva ett läkemedels omsättning i kroppen. Plasmakoncentration beskriver uppnådd koncentration i blodet och T_{max} tiden till maximal koncentration i blodet. Halveringstid, $t_{1/2}$, definieras som den tid det tar för koncentrationen av substansen i plasma att halveras. Den terminala halveringstiden är den tid det tar för plasmakoncentrationen att halveras under terminala eliminationsfasen. Area under kurvan (AUC) illustrerar den totala mängd läkemedel som kroppen exponerats för över tid. Distributionsvolymen är ett mått på substansens fördelning i kroppen och clearance beskriver hur effektivt läkemedlet elimineras.

För att studera atropinets effekter och bieffekter behöver man veta hur stor del av läkemedlet som tas upp systemiskt vid topikal giva och därmed kan påverka övriga kroppen kliniskt. Det är också viktigt att förstå de många svårigheter som finns med att ge läkemedel som ögondroppar samt ögats särskilda anatomiska och fysiologiska förutsättningar som också påverkar både farmakokinetik och farmakodynamik vid ögonmedicinering. Det är flertalet faktorer som påverkar, ögats komplexitet, läkemedlets kemi och faktumet som man inte bör

förringa - samarbetet hos individen som får behandlingen. Farmakokinetiken hos atropin vid topikal administrering har tidigare studerats hos människa (Kaila *et al.*, 1999). Hos häst nämns riskerna för kolik och nedsatt tarmmotorik vid itererad dos atropin frekvent i litteraturen men det finns enligt författarens kännedom inga tidigare studier gjorda avseende atropinets farmakokinetik vid topikal administrering. Kunskap om uppnådd plasmakoncentration och halveringstid efter topikal giva är centrala för att kunna relatera till eventuell systemisk påverkan och att i framtiden kunna designa säkra behandlingsstrategier och minimera riskerna för bieffekter av läkemedlet.

Syftet med den experimentella pilotstudien i detta examensarbete var att hos häst beskriva plasmakoncentration och terminal halveringstid vid topikal administrering respektive intravenös giva av atropin. Litteraturstudien inkluderar en genomgång av ögats särskilda anatomiska och fysiologiska förutsättningar som i högsta grad påverkar farmakokinetiken vid administrering av ögonläkemedel samt även en kortare sammanfattning av vad som finns beskrivet vad gäller atropinets farmakokinetik hos människa samt andra djurslag.

LITTERATURGENOMGÅNG

SÖKORD

Atropine, plasmakoncentration, farmakokinetik, metabolism, horse, mydriatika.

Artiklar har sökts via SLU bibliotekets databaser, Google Scholar och Web of Science.

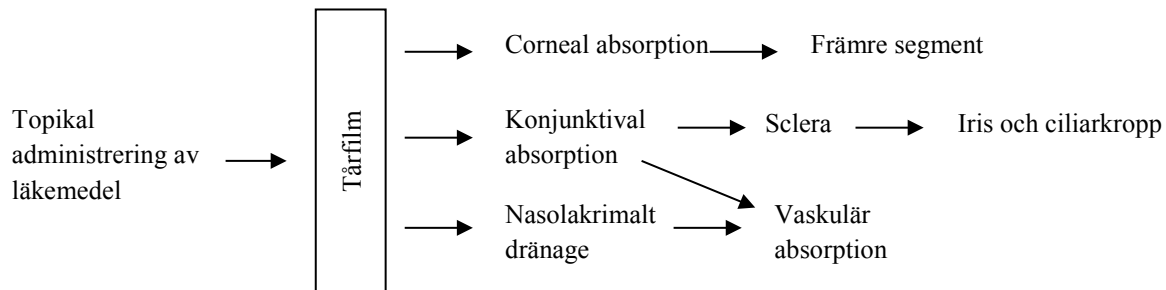
ADMINISTRERING AV LÄKEMEDEL

För att ett läkemedel ska kunna utöva sin effekt måste det ta sig över olika typer av barriärer beroende på hur det administrerats och var det absorberas i kroppen (Rang & Dale, 2012). Läkemedel kan administreras på flera olika sätt såsom per os (i munnen), rektalt (via ändtarmen), intravenöst (via blodet), sublinguallt (under tungan), transkutant (via huden) eller topikalt (på ytan av). För att ett läkemedel ska kunna göra verkan måste det vanligen kunna ta sig över fettmembran. Detta ställer krav på läkemedlets sammansättning rent kemiskt. För att ta sig över fettmembran krävs antingen passiv diffusion eller transport med hjälp av ett bärarprotein, så kallad aktiv transport. Läkemedel som är starka syror och baser är oftast inte så fettlösliga och har därför svårare att ta sig över flera av kroppens membran. Hos läkemedel som är svaga syror eller baser varierar deras ursprungsform beroende av pH i omgivningen. Därför varierar också möjligheterna för dessa läkemedel att ta sig till målet. Beroende av vilken joniseringsform de svaga syrorna eller baserna befinner sig i kan de endast ta sig över fettmembran om de är oladdade.

LÄKEMEDEL TILL ÖGAT

Ett läkemedel har flertalet barriärer att ta sig över innan det kan utöva sin effekt på strukturerna inuti ögat oavsett om det administreras systemiskt eller topikalt. Ögats adnexa (omgivande strukturer) är relativt lätt tillgängliga för administration av läkemedel men att erhålla önskad effekt av ett läkemedel inuti ögats strukturer är svårt, då ögat är ett organ som har unika egenskaper och skyddsbarriärer. Ögats fysiologiska egenskaper såsom blinkning gör att absorptionstiden för ögondroppar är mycket begränsad och varje blinkning eliminerar läkemedel vilket gör att koncentrationen snabbt reduceras (Barlett & Cullen, 1984). En stor del av topikalt administrerat läkemedel dräneras även via tårkanalssystemet vilket bidrar till att läkemedlet snabbt elimineras från ögats strukturer (Hageman *et al.*, 1984). Andra okulära skyddsbarriärer utgörs av tårfilmens egenskaper och hornhinnans och sclerans multipla cellager och deras kemiska struktur (Rang & Dale, 2012). Ögat har också välutvecklade så kallade blod-ögonbarriärer som har som funktion att skydda ögat från patogener och andra oönskade ämnen att via blodet ta sig in och göra skada.

Vid topikal behandling ställs stora krav på läkemedlets kemiska egenskaper såsom löslighet, molekylstorlek, koncentration och pH för att nå önskad effekt. Det främsta upptaget av läkemedel till ögat sker vanligen via hornhinnan (så kallad "corneal route", figur 1) men läkemedel kan även ta sig in i ögat via andra vägar såsom via sclera eller konjunktiva.



Figur 1. *Flödesschema vid topikal administrering*

Konjunktiva

Konjunktiva är ett muköst membran som täcker insidan av ögonlocken samt även utsidan och insidan av det tredje ögonlocket (Slatter, 2001). Den täcker också den yttre och främre delen av ögonloben. Konjunktiva som utlinjerar det nedre ögonlocket bildar den så kallade konjunktivalsäcken. Där samlas partiklar, celler, främmande material, överflödigt tårproduktion som sedan dräneras ut via tårkanalen. Överflöd av tårvätska observeras som tårar eller debris i den mediala ögonvinkeln. Konjunktiva hjälper till att producera den precorneala tårfilmen som fungerar som ett skydd för ögat. I konjunktiva finns också slemproducerande bägarceller och celler från immunförsvaret. Det förekommer två lager av lymfatisk dränering. Lymfatisk dränering finns i de ytliga lagren och ett i de mer djupgående bindvävslagren. Konjunktiva är en av de mest exponerade slemhinnorna i kroppen och det är därför viktigt att den har ett väl utvecklat försvar mot retande stimuli. Den är också rik på blodkärl och via dessa blodkärl kan topikalt administrerat läkemedel absorberas både till ögats strukturer samt till den systemiska cirkulationen. Kärlen i konjunktiva är framför allt genomsläppliga för läkemedel som är vattenlösliga och har stor molekylvikt vilka inte har möjlighet att penetrera hornhinnan (Järvinen *et al.*, 1995).

Tårfilm

För att få en normalt fungerande hornhinna och syn skyddas ögat av en tårfilm som består av tre lager (Slatter, 2001). Tårfilmen räknas som hornhinnans yttigaste skikt. Tårfilmen hjälper till att spola bort främmande material, ger förutsättningar för syreupptag till cellerna i hornhinnan, skyddar mot ytliga infektioner och inflammationer samt ger ett glatt yttre skikt som möjliggör en normal synskärpa. Den är också genom sitt innehåll av flertalet bakteriedödande enzymer och immunoglobuliner viktig för ögats immunförsvaret. Tårfilmens yttre lager består av ett tunt oljigt vaxartat lipidlager som produceras av de meibomska körtlarna och som har i uppgift att skydda de underliggande lagren mot uttorkning. Det mellersta lagret består framförallt av vatten, mineraler och proteiner. Det innersta lagret är ett muköst lager bestående av hydrerade glykoproteiner som smörjer hornhinnans yttersta

cellager och gör att hornhinnans hydrofoba yta blir mer hydrofil. Det innersta lagret av tårfilmen som alltså består av mucin och glykoproteiner produceras av bägarceller härrörande från konjunktiva. Tårvätskans biokemiska sammansättning är en förutsättning för ögats funktioner men samtidigt kan dess biokemiska egenskaper försvåra behandling med topikala läkemedel då den alltså har olika skikt med hydrofila respektive hydrofoba egenskaper. Det yttersta skiktet är fettlösligt, det mellersta är vattenlösligt och det innersta lagret är fettlösligt.

Ett överskott av tårproduktion såsom vid irritation i ögat har visats kunna leda till en utspädningseffekt av topikalt givet läkemedel (Järvinen *et al.*, 1995). Bartlett *et al.* (1984) har studerat betydelsen av volymen på droppen läkemedel som droppas i ögat. Ju större volym på droppen desto snabbare dräneras läkemedlet genom tårkanalssystemet. Patton (1977) samt Weiss & Hendrickson (1994) visade att en liten volym på administrerad ögondroppe (5-15 µL) minskar förlust av läkemedel via tårkanalssystemet. Om volymen på droppen är för stor riskeras också att läkemedlet på grund av reflexmässig blinkning blinkas bort och absorptionstiden blir därmed mycket kort (Shell, 1982, Lee, 1985). Om volymen på droppen är mindre så ökar den okulära biotillgängligheten eftersom läkemedlet kan ges utan större obehag samt att man inte riskerar att överflödet av droppen blinkas bort eller rinner över ögonkanten.

Hornhinna

Ögats yttersta hinna är hornhinnan. Den är inte vaskulariserad och mycket rik på nervceller vilket gör den mycket känslig. Den består av fem lager. Ytterst tårfilmen (som beskrivits i stycket ovan), därefter flerskiktat epitel, stroma, Descemets membran och innerst ett enda cellager, endotel (Samuelson, 2013). Hornhinnans tjocklek varierar mellan djurslag men är tunnare än 1 mm (Samuelson, 2013). Hornhinnans många lager och biokemiska förutsättningar är en utmaning vid administrering av läkemedel topikalt i ögat. Stora krav ställs på den administrerade substansens kemiska egenskaper för att få önskad effekt (Regnier, 2013). Jämfört med många andra epitel i kroppen är hornhinnans epitel i synnerhet ogenomsläppligt. Hornhinnans epitel är ett hydrofobt membran vilket försvårar upptaget avsevärt för läkemedel som till stor del är vattenlösliga och består av stora molekyler. Vattenlösliga läkemedel kan inte diffundera över membranet utan kräver en aktiv transport in i ögat (Chun *et al.*, 2008). Cellerna i hornhinneepitelet bildas i limbus och under mognad vandrar de in mot hornhinnans centrum. Under mognadsfasen bildas tight-junctions mellan cellerna vilka försvårar upptaget av ögondroppar från tårfilmen och hindrar vidare transport genom epitelet. Tight-junctions fungerar som en selektiv barriär av små molekyler och släpper inte alls igenom större molekyler. (Järvinen *et al.*, 1995). Hornhinnans stroma är en mycket hydrofil vävnad som till större delen innehåller vatten. Stromat består av kollagenfibrer och fibroblaster (keratocyter). Stromat utgör en barriär endast för de substanser som innehåller till stor del fett. I övrigt är detta lager relativt genomsläppligt, även för större molekyler. Hornhinnans innersta lager, endotelet, består endast av ett lager celler. Detta lager har också tight-junctions mellan cellerna men dessa är inte lika effektiva i jämförelse med epitelet (Grass & Robinson, 1988).

Iris och ciliarkropp

Iris och ciliarkropp utgör främre uvea (Slatter, 2001). Iris skiljer den främre ögonkammaren från den bakre ögonkammaren och denna struktur är vanligen pigmenterad men den kan även vara opigmenterad hos vissa individer. Iris består av glatt muskulatur som är arrangerad i en cirkulär och radiell muskel. De båda musklerna verkar som antagonister mot varandra. Pupillen dilateras (mydriasis) när den radialis muskeln kontraherar som svar på ökad aktivitet i det sympatiska nervsystemet eller i mörker. Pupillen blir mindre (mios) när den cirkulära muskeln kontraherar och som svar på parasympatisk innervation eller starkt ljus. (Sjaastad *et al.*, 2003). Ciliarkroppen eller strålkroppen som den heter på svenska, ligger direkt bakom iris och består till stor del av muskulatur, nerver, blodkärl och bindväv. På ciliarkroppen fäster det in trådar som kallas zonulatrådar och som fäster till linsen. Kammarvätska bildas av ciliarepitelet som är belägen på ciliarutskotten i ciliarkroppens bakre del. Ciliarepitelet består av ett pigmenterat och ett opigmenterat cellskikt i ögats bakre kammare. Det opigmenterade cellskiktet anses vara av störst betydelse vid bildningen av kammarvätska. Kammarvätskan fyller den bakre och främre kammaren och hjälper till att vidmakthålla ögats form. Den glatta muskulatur som ciliarmuskulaturen består av, står under parasympatisk innervation. Kontraktion av ciliarmuskulaturen gör att trådarna som linsen fäster in till relaxerar och att linsen ändrar form vilket är en förutsättning för att kunna se på nära håll. Kontraktionen medför också ökat dränage av kammarvätska. Inflammatoriska tillstånd såsom uveit kan leda till att ciliarmuskulaturen drabbas av muskelspasm vilket är mycket smärtsamt. Läkemedel som relaxerar ciliarmuskulaturen och ger en dilaterad pupill (mydriasis), används vanligtvis vid inflammatoriska tillstånd för att minska risken för kroniska komplikationer samt ge smärtlindring. Ett exempel på sådan medicin är atropin.

När ett läkemedel penetrerar hornhinnan når substansen först kammarvätskan och distribueras därefter till iris, ciliarkropp, lins och glaskropp. Iris och ciliarkropp har vanligen ett kraftigt pigmenterat epitellager som innehåller melanin vilket kan påverka effekten av administrerade läkemedel påtagligt. Många läkemedel, bland annat atropin, binder till melanin vilket minskar mängden fritt läkemedel och därigenom reduceras effekten av läkemedlet initialt (Sasaki *et al.*, 1996). Under eliminationsfasen frisätts därefter läkemedlet långsamt från pigmentet vilket i sin tur kan leda till en förlängd duration av effekten (Salminen *et al.*, 1984).

Sclera

Sclera är den delen av ögat som hos människor kallas för ögonvitan. Hos de flesta däggdjur är sclera pigmenterad i varierande grad. (Samuelson, 2013). Scleran består av tre lager, episclera, sclera proper och lamina fusca. Episcleran är mycket väl vaskulariserad och består också av lager av bindväv, kollagenfibrer och fibroblaster. Det täta fibrösa lagret utlinjerar ögongloben och fungerar som ett yttersta skydd för ögat. Den kan påverkas i färg och form beroende på patologiska omständigheter (Slatter, 2001). Topikalt administrerade läkemedel kan absorberas via sclera. Läkemedlet penetrerar sclera via så kallat perivaskulärt upptag. Upptaget av läkemedel via sclera sker via passiv diffusion mellan sclerans bindvävsbuntar. (Järvinen *et al.*, 1995). Läkemedel som administreras topikalt tas också upp via kärnen i

episclera som försörjer främre uvea. Via episcleras kärl deponeras då en stor del av läkemedlet i främre uvea och dräneras ut via ciliarkroppen (Schoenwald *et al.*, 1999).

Blod- ögonbarriär

Cunha-Vas (1979) beskriver två olika blod-ögonbarriärer; blod-kammarvätskebarriären och blod-retinabarriären. Dessa barriärer har som funktion att skydda ögat från patogener och andra oönskade ämnen att via blodet ta sig in till ögat och skada det (samt ut från ögat till övriga kroppen). Barriären hindrar också önskvärda substanser såsom läkemedel att ta sig in i ögat. Blod-kammarvätskebarriären består av en epitelbarriär belägen i det icke pigmenterade lagret av ciliarkroppen och på det främre irisepitelet samt hos endotelet i blodkärlen som försörjer iris med blod. Barriären reglerar utbytet mellan blodet och kammarvätskan och hjälper till i kontrollen av patogener, i synnerhet gällande intaget från blodet till ögat. Blod-kammarvätskebarriären består av cellulära tight-junctions som ibland kan börja läcka. Läckage sker vid olika patologiska tillstånd. Vid exempelvis en inflammation är det välkänt att barriären rubbas och läckage av plasmaproteiner och inflammatoriska celler kan observeras i kammarvätskan. Blod-retinabarriären är belägen i ögonglobens innersta lager. Den förekommer på två nivåer; i retinas pigmenterade epitel samt hos endotelet i retinala blodkärl. Funktionen är att upprätthålla en normal mikromiljö i retina. Barriären reglerar i stort utflödet från ögat till blodet med hjälp av selektiva bärarmekanismer och flertalet transportsystem som är mycket energikrävande. Barriären i retina är oerhört ogenomsläpplig och påminner till stor del hos friska individer av blod-hjärnbarriären. Endast ett fåtal metabola produkter tas igenom barriären i det normala ögat.

Ögats barriärer samverkar och är beroende av varandra. Oavsett orsak påverkar många patologiska tillstånd ögat och/eller barriärsystemen på olika sätt då det kontinuerligt sker ett utbyte mellan blodet och ögats mikromiljö och cirkulationen. Konsekvenserna av störd ögonbarriär är många, men kan yttra sig på olika sätt beroende av lokalisation och vilka strukturer som blivit involverade. Ett välkänt fynd vid uveit är att blod-kammarvätskebarriären blivit påverkad och att kärlen läcker vilket resulterar i ökad mängd plasmaproteiner och inflammatoriska celler i kammarvätskan, så kallad ljustväg.

SYSTEMISK ABSORPTION

Det systemiska upptaget vid topikalt administrerade ögondroppar sker via tårkanalssystemet och episklera samt via konjunktiva (Barlett & Cullen, 1984). När topikalt läkemedel administreras dräneras en stor del bort via tårkanalssystemet där den mycket kärlika slemhinnan kommer i kontakt med läkemedlet och kan absorbera det. Ämnena i ögondroppen tas sedan upp i den systemiska cirkulationen. Det systemiska upptaget sker med hjälp av att kärlen är fenestrerade och möjliggör därför ett upptag av läkemedel (Barlett & Cullen, 1984). Om droppen är för stor rinner överflödet av droppen ner i tårkanalerna i den mediala ögonvinkeln och når även ner till nashålans slemhinna där ytterligare systemiskt upptag är möjligt. Droppens volym spelar därför stor roll då överflödet av en läkemedlet som droppas i ögat antingen rinner över ögonkanten eller tas upp via det nasolakrimala systemet. Hur snabbt

det administrerade topikala läkemedlet elimineras från ögats yta beror på dränaget från det nasolakrimala systemet samt volymen på droppen och frekvensen av blinkningar. Upprepande frekventa blinkningar fungerar likt en pump som pumpar ner läkemedel i tårkanalen. Ett systemiskt upptag vid ögonmedicinering är sällan att föredra. För att så mycket läkemedel som möjligt ska kunna utöva sin effekt lokalt är det eftersträvansvärt att droppen inte blinkas bort för snabbt och kontakttiden med ögats yttersta lager inte blir för kort. Om detta sker blir därmed medicineringen överksam eller så finns risken att större delen av droppen rinner över ögonkanten och inte kan utöva sin effekt då den rinner likt en tår (Maeley, 2000).

ATROPIN

Mydriatika (pupillvidgande) läkemedel har sedan lång tid tillbaka använts av människor. De pupillvidgande egenskaperna hos växten *Atropa belladonna* har både använts i ett kosmetiskt syfte och i ett medicinskt sammanhang. Det finns i dagsläget ett flertal olika läkemedel som har direkt eller indirekt verkan på pupillen men atropin är den substans som vanligen används vid behandling av uveit.

ATROPINETS VERKNINGSMEKANISM OCH ANVÄNDNINGSSOMRÅDE

Atropin är en alkaloid som härrör från växten *Atropa belladonna* och påverkar det parasympatiska systemet i det centrala nervsystemet. (CNS). Atropin är ett så kallat antikolinergika, det vill säga den är en receptorantagonist till signalsubstansen acetylcholin och verkar kompetitivt på muskarinreceptorer. Receptorerna finns i olika vävnader i kroppen, såsom i autonoma ganglia, körtlar (magsäcken, salivkörtlar och svettkörtlar), i hjärtat, i CNS, i luftvägarna, i ögats iris- och ciliarmuskulatur med flera (Rang & Dale, 2012). Substansen hämmar därmed delar av det parasympatiska nervsystemet vilket bland annat kan resultera i pupilldilatation, minskad sekretion från körtlar och hämrad tarmmotorik. Det förekommer i litteraturen flertalet beskriva biverkningar av atropin. I Plumb (2011) beskrivs biverkningarna som dosrelaterade och kopplade till atropinets farmakologiska effekt. Biverkningar som beskrivs i Plumb (2011) är bl.a. muntorrhet, hjärtpåverkan (initial bradykardi följt av tackykardi) nedsatt tarm- samt urinblåseaktivitet.

Atropin används till exempel som premedicinering vid anestesi för hund och katt för att minska sekretionen från luftvägarna, som behandling av sinusbradykardi, AV block och andra diffusa orsaker för bradykardi (Plumb, 2011) men också som behandling vid sjukdomstillstånd så som främre uveit. Vid främre uveit initieras en kontraktion i iris- och ciliarmuskulaturen sekundärt till inflammationen via parasympatisk aktivering av muskarinreceptorer. Atropinet blockerar muskarinreceptorerna i dessa strukturer vilket leder till en indirekt smärtlindrande effekt då den smärtsamma spasmen i ciliarmuskulaturen hävs samt en pupilldilatation genom effekt på irissfinktermuskulaturen. Då pupillen dilateras minskar också kontaktytan mellan iris och lins och risk för sekundära sammanväxningar reduceras. Atropinets effekt i ögat är långverkande. Den kliniska effekten hos hund kvarstår i upp till 120 h. (Rubin & Wolfes, 1962) Enligt Slatter, 2001 kan effekten kvarstå i upp till flera dagar hos hund. Hos häst har man sett att den pupilldilaterande effekten ibland kvarstår i upp till 2 veckor hos arabstbon (Davis *et al*, 2003).

Det finns tidigare studie på häst avseende den systemiska effekten av topikal giva av atropin till ögat (Williams *et al.*, 2000) och (Strom *et al.*, 2014). Sex stycken hästar i studien av Williams *et al* (2000) gavs atropin topikalt (1 mg) en gång varje timma under 24 h respektive subkonjunktivalt (3 mg) som engångsdos i ett öga. Hästarna monitorerades under studien med avseende på kliniska parametrar såsom kolik och andra symptom från mag-tarmkanalen. Resultaten jämfördes med en kontrollgrupp som istället fick tårersättning i den ventrala konjunktivalsäcken. Fyra av sex hästar som administrerades atropin topikalt i ögat visade tydliga symptom på buksmärtor redan efter några timmar in i studien. Vid auskultation av buken var det hos samtliga av dessa hästar minskade eller total avsaknad av tarmljud i 2-18 timmar. Hos hästarna som fick atropin subkonjunktivalt auskulterades nedsatta eller total avsaknad av tarmljud hos tre av fem hästar under 3-7 timmar. En av hästarna som fått givet atropin subkonjunktivalt uppvisade kliniska tecken på kolik.

Ström *et al.* (2014) studerade atropinets effekter på auskulterbara tarmljud samt dess förmåga att inducera kolik i en randomiserad crossover-studie på fyra hästar. Hästarna behandlades med placebo ögondroppar (saltlösning) samt topikalt atropin i ögat i olika doseringsfrekvens, 1 mg var sjätte timma (lågdos) samt 1 mg var tredje timma (högdos). Varje försökstillfälle pågick under 120 timmar med en wash-out period på 35 dagar. Samtliga hästar som ingick i studien skrittmotionerades vid hand i tio minuter tre gånger dagligen. Hästarna monitorerades var tredje timma med avseende på bland annat tarmljud, kliniska tecken på kolik, andningsfrekvens samt hjärtfrekvens. Inga av hästarna uppvisade tecken på buksmärtor och alla hästar hade tarmljud under studiens gång. Dock var tarmljuden något nedsatta vid giva av hög dos av atropin jämfört med placebo. Vid giva av låg dos atropin sågs inga signifikanta skillnader i jämförelse med placebo.

ATROPINETS FARMAKOKINETIK

Atropin består av två isomerer, D-hyoscyamine och L-hyoscyamine, där endast L-formen är biologiskt aktiv (EMEA, MRL/517/98-FINAL, oktober 1998). Som tidigare beskrivits utövas atropinets effekt via en kompetitiv antagonism med acetylkolin och interagerar med muskarinreceptorer i glatt muskulatur, hjärtmuskulatur och körtelvävnad. Atropinsulfat tas upp i kroppen väl vid såväl oral administration, vid intramuskulär injektion, inhalation eller endotracheal administration (Plumb, 2011, Paret *et al.*, 1999). Atropin tar sig väl över CNS barriärer, moderkakan och kan detekteras i små mängder i mjölk. Atropin metaboliseras i levern och ca 30-50% utsöndras i oförändrad form via urinen. Halveringstiden i plasma hos människor har uppmätts till 2-3 timmar (Plumb, 2011, Kaila *et al.*, 1999). Tidigare studier av atropinets farmakokinetik har gjorts på humansidan och på flera andra djurslag. Kaila *et al* (1999) gjorde en studie på människor där man undersökte biotillgängligheten vid topikalt administrerat atropin jämfört med intravenös giva hos sex friska frivilliga individer. I försöket fick deltagarna 0,3 mg atropin intravenöst respektive topikalt med två veckors mellanrum mellan de två behandlingarna. Venöst blodprov togs med jämna intervall under 8 timmar och detektionsgränsen för den biologiskt aktiva isomeren L-hyoscyamine var på 20 pg/ml. Farmakokinetiska parametrar som redovisades var bl.a. C_{max}, T_{max} och T_{1/2}. Resultaten från studien visar att biotillgängligheten för den biologiskt aktiva isomeren varierade kraftigt mellan individerna. Biotillgängligheten vid topikal giva i jämförelse med intravenös

administrering varierade mellan 19 % till 95 % och medelvärdet var 64 %. Orsaken till den stora skillnaden i biotillgänglighet kan bero på flertalet orsaker. För att säkerställa att hela dosen läkemedel administrerades minskades droppvolymen hos ögondropparna samt en mikropipett användes för applikation av läkemedlet. Trots detta finns risken att det hos vissa individer rann över lite läkemedel över ögonkanten vilken kan vara en del av förklaringen till den stora variationen mellan individer. Tre minuter efter topikal och intravenös giva hade samtliga testpersoner en detekterbar koncentration i blodet. Maximal plasmakoncentration uppmättes till mellan 166 pg/ml-355 pg/ml med ett medelvärde på 288,33 pg/ml. T_{max} hos de testpersoner som fått topikalt administrerat atropin varierade mellan individerna och visade på en vidd på 3-60 minuter. Beräknad halveringstid för den senare delen av eliminationsfasen varierade mellan 1,3 till 4,3 timmar, inga skillnader kunde ses vid jämförelse av intravenös respektive topikal giva. Ingen av försökspersonerna uppgav några besvär av bieffekter av läkemedlet under studiens gång sannolikt beroende på den låga dosen på 0,3 mg. Kaila *et al.* drog slutsatsen att den systemiska biotillgängligheten efter topikal giva är hög men att det finns stora individuella skillnader.

Det finns även studier gjorda på andra djurslag avseende plasmakoncentration av atropin. I en studie av Albanus *et al.*, (1968) gavs 15 stycken beaglar atropin subkutan vid ett tillfälle. I studien sågs att efter subkutan administrering absorberades atropinet snabbt i blodbanan. Hundarna gavs en dos på 0,5 mg/kg och C_{max} mättes upp till 0,2 µg/ml efter ca 25 minuter. I studien på hundarna sågs att eliminationen från blodet sker i två faser. En snabbare eliminationsfas när koncentrationen i plasma är hög följt av en långsammare elimination som fas två.

EXPERIMENTELL STUDIE

MATERIAL OCH METODER

STUDIEDESIGN

Den experimentella delen av examensarbetet är en pilotstudie som totalt inkluderade åtta hästar. Två hästar (A och B) exponerades för topikalt atropin via manuell administrering (droppar i ögat) samt samma dos i intravenös giva med en viloperiod på en vecka mellan respektive behandling. Sex hästar (C-H) exponerades enbart för topikalt administrerat atropin 1 mg via subpalpebral ögonkateter.

HÄSTAR OCH ÖVERVAKNING

I studien ingick åtta svenska varmblodiga travare, två valacker och sex ston med en medelålder på 14 år.

Tabell 1. Förteckning över hästarna som ingick i studien

Häst	Administreringsmetod	Ålder (år)	Kön	Vikt (kg)
A	Topikal manuell + i.v.	19	Sto	465
B	Topikal manuell + i.v.	22	Sto	506
C	Subpalpebralkateter	6	Val	529
D	Subpalpebralkateter	15	Sto	557
E	Subpalpebralkateter	14	Sto	575
F	Subpalpebralkateter	7	Sto	642
G	Subpalpebralkateter	14	Val	500
H	Subpalpebralkateter	14	Sto	582

Hästarna tillhör SLU, avdelningen för kliniska vetenskaper. Under respektive försöksperiod fick hästarna stå inne på box och utfodrades enligt foder giva baserad på hästarnas individuella vikt samt de hade fri tillgång på vatten. Användningen av hästarna i försöket var godkänt av Uppsala Djurförsöksetiska nämnd, dnr C139/14.

KLINISK OCH OFTALMOLOGISK UNDERSÖKNING

Innan försöket påbörjades genomfördes en ögonundersökning samt en allmän klinisk undersökning på samtliga hästar. Inga tecken på ögonsjukdom påvisades och inga avvikelser från normala kliniska parametrar observerades.

MEDICINERING

Två hästar (häst A och B) exponerades för topikalt administrerat atropin sulfat 1 mg (0,1 ml, Isopto-Atropin 1 %, ögondroppar, Alcon, Sverige) via manuell administrering i konjunktivalsäcken. De fick även 1 mg (2 ml, Atropin Mylan, lösning, 0,5 mg/ml, Mylan, Sverige) i intravenös giva via permanentkateter i jugularvenen. En viloperiod på en vecka mellan respektive behandling tillämpades. Sex hästar (häst C-H) exponerades enbart för topikalt administrerat atropin sulfat 1 mg (0,1 ml, Isopto-Atropin 1 %, Alcon, Sverige) via subpalpebral ögonkateter. Läkemedlet gavs av biträdande handledare och stallpersonalen på avdelningen för kliniska vetenskaper. Hästarnas ögonkatetrar anlades dagen innan försöket. De sederades med detomidin (10-20 µg/kg) (Domosedan, 10mg/ml Orion Pharma Animal Health) och lokalbedövning med 2 ml mepivacain (Carbocain 10mg/ml Astra Zenica) anlades i området ovanför ögongloben samt 1-2 droppar ytanestesi applicerades (Tetracain Chauvin 1%, Bausch och Lomb). Ögonkatetern syddes fast i huden och slangen där läkemedlet deponeras kortades av till ca 25-30 cm. Atropin sulfat (0,1 ml, 1 mg) injicerades i ögonkatetern och med hjälp av en luftspruta fördes läkemedlet fram genom slangen fram till ögat.

Kriterier för att den topikalt givna dosen via ögonkatetern administrerats korrekt var att det skulle uppstå ett fräsande ljud ur slangen samt att hästen skulle svara med ett lindrigt obehag samt blinka mer frekvent än normalt. Kontroll av pupilldilatation gjordes 60 minuter efter administrerat läkemedel.

UNDERSÖKNINGSPROTOKOLL

En klinisk undersökning utfördes innan varje påbörjat försök och hästarna monitorerades under försöket enligt ett fastställt protokoll. Var tredje timma inkluderande den kliniska undersökningen att undersöka parametrar såsom hjärtfrekvens, andningsfrekvens, kapillär återfyllnadstid, pupillvidgning, munslemhinnefärg samt auskultation av tarmljud. Under hela försökets gång var jag uppmärksam på förekomst av koliksymptom. Andningsfrekvensen och hjärtfrekvensen auskulterades under 15 sek och multiplicerades med fyra för att räkna ut frekvensen per minut. Kapillär återfyllnadstid bedömdes genom att trycka ett finger mot munslemhinnan vid överkåkens framtänder. Tiden till dess att normal slemhinnefärg återfås bedömdes som normal om det tog en till två sekunder. Pupilldilatation observerades genom att okulärt bedöma pupillstorleken i förhållande till det obehandlade ögat. Munslemhinnefärg bedömdes utefter färg, (blek, rosa eller hyperemisk). Tarmljuden bedömdes utifrån auskultation av varje kvadrant på höger och vänster sida under 1 minut. Normala, nedsatta eller avsaknaden av tarmljud graderades mellan 0-2 där noll definierades som avsaknad av tarmljud, 1 som tarmljud under delar av auskultationen och 2 som tarmljud under hela auskultationen.

Kriterier för uppvisande av koliksymptom under försökets gång var t.ex. upprepande skrapande med frambenen, tittandes mot buken, upprepade sparkningar mot buken och frekventa rullningar i boxen.

BLODPROVSTAGNING

Blodproverna togs i heparinrör via permanentkateter i halsvenen. Blodprovstagningen skedde enligt ett protokoll där läkemedlet administrerades vid 0 min (0-prov) och sedan togs blod efter cirka 10, 13, 15, 20, 30, 40, 70, 100, 160, 220, 280, 340, 400 min. Omedelbart före varje blodprovstagning aspirerades 10 ml blod ur permanentkatetern. Därefter togs 4 ml blod som fördes över till heparinrör för att därefter kylas, centrifugeras på nära anslutande labb och föras över i plaströr Sarstedt Tubes 5 ml 75 x 12 mmØ). Efter centrifugering frystes (-80°) plasma i väntan på analys. Permanentkatetern spolades med 10 ml NaCl (Natriumklorid) efter blodprovstagningen.

PROVANALYS

Blodproverna analyserades vid Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA) avseende plasmakoncentration för atropin med Ultra-Performance Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS).

ANALYS AV FARMAKOKINETISKA PARAMETRAR

Plasmakoncentrationen för atropin plottades mot tid för varje häst. De farmakokinetiska parametrar som fastställdes var plasmakoncentration av atropin, tid tills atropin inte längre var detekterbart i blodet (detektionsgräns 0,13 ng/ml) och terminal halveringstid ($t_{1/2}$). Halveringstiden beräknas enligt ekvationen $t_{1/2} = \ln 2/k$, där k är lutningen av den terminala delen av plasmakoncentrationskurvan. Varje häst analyserades separat då endast ett fåtal hästar ingick i pilotstudien.

RESULTAT

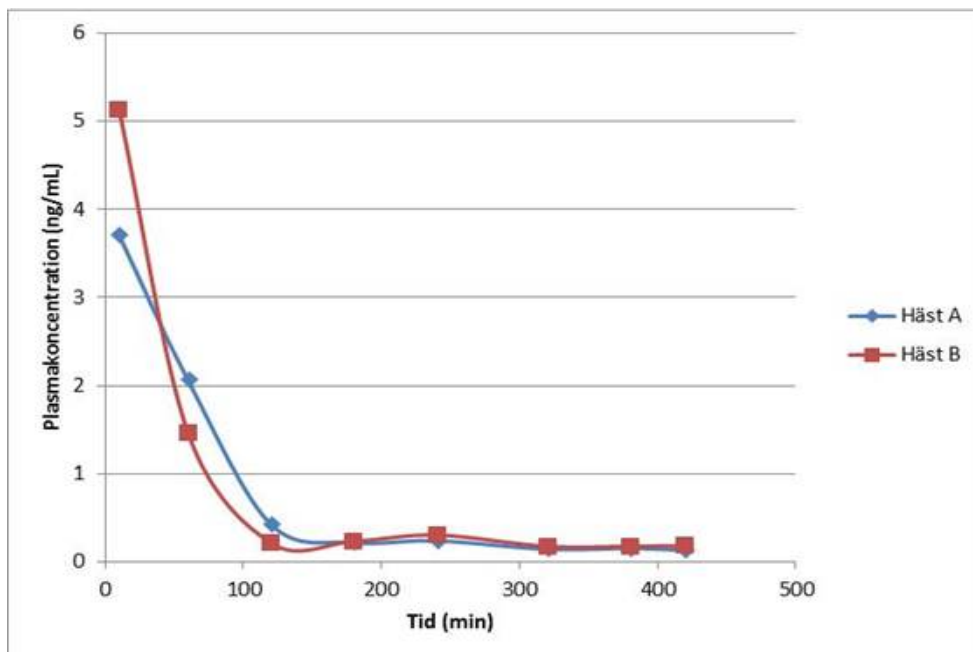
KLINISK UNDERSÖKNING

Inga hästar uppvisade koliksymptom under försökets gång. Inga avvikelser noterades avseende hästarnas kliniska parametrar. Pupillen var dilaterad vid kontroll efter 60 minuter

hos samtliga hästar vid manuell topikal giva i ögat men förblev opåverkad vid intravenös administration (häst A och B). Samtliga pupiller dilaterades vid administration av atropin via ögonkateter (häst C-H).

INTRAVENÖS GIVA

Plasmakoncentrationen över tid vid intravenös administrering visas i figur 1 (häst A respektive B). En snabbare distributionsfas kunde ses följt av en mer långsam eliminationsfas, det vill säga en så kallad bifasisk eliminering. Efter 10 minuter uppmättes en plasmakoncentration av atropin på 3,71 ng/mL (häst A) respektive 5,14 ng/mL (häst B). Den terminala halveringstiden för atropin efter intravenös giva fastställdes till 109 minuter (häst A) respektive 104 minuter (häst B) (medel $106,5 \pm 3,5$ minuter). Atropinkoncentrationen i plasma var inte längre detekterbar ($<0,13$ ng/mL) 6 timmar (häst A) respektive 7 timmar (häst B) efter intravenös administrering.



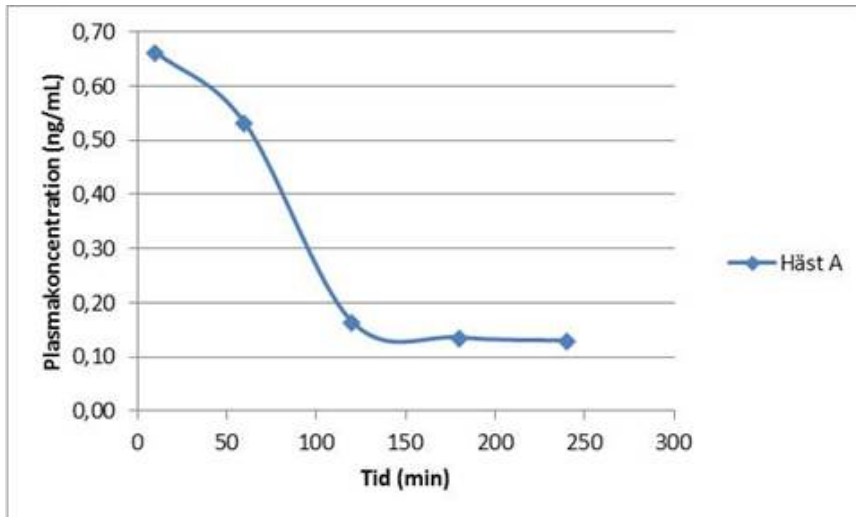
Figur 1: Plasmakoncentrationen atropin över tid för häst A och B vid intravenös administrering

TOPIKAL, MANUELL GIVA

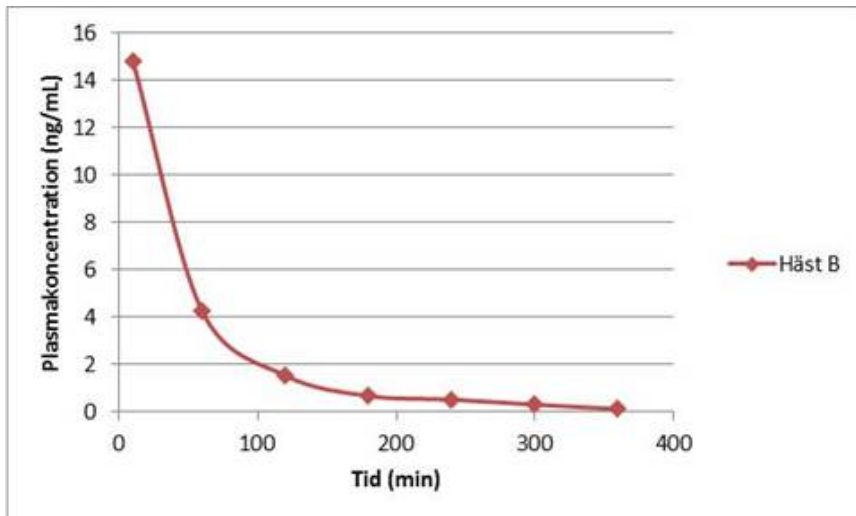
Häst A administrerades atropin i motstående sidas öga jämfört med blodprovstagning. Häst B administrerades atropin i ögat på samma sida som blodprovstagning. Atropinkoncentrationen i plasma över tid vid topikal, manuell giva visas i figur 1 och 2 (häst A respektive B). Efter 10 minuter uppmättes en plasmakoncentration på 0,66 ng/mL (häst A) respektive 14,8 ng/mL (häst B). Den terminala halveringstiden för atropin efter topikal, manuell giva fastställdes till

61 minuter (häst A) respektive 59 minuter (häst B) (medel 60 ± 3 minuter).

Atropinkoncentrationen i plasma var ej längre detekterbar ($<0,13$ ng/mL) efter 4 timmar (häst A) respektive 5 timmar (häst B) efter topikal, manuell giva.



Figur 2: Plasmakonzentration av atropin över tid efter topikal, manuell giva, häst A.



Figur 3: Plasmakonzentration av atropin över tid efter topikal, manuell giva, häst B.

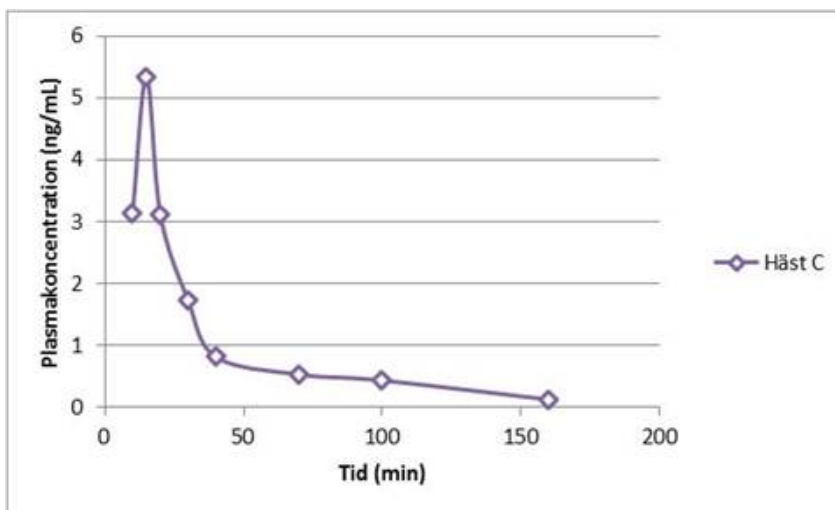
TOPIKAL ADMINISTRERING VIA SUBPALPEBRALKATETER

Häst E, F samt G administrerades atropin i motstående sidas öga jämfört med blodprovstagnig. Häst C, D samt H administrerades atropin i ögat på samma sida som blodprovstagnig. Hos häst D, F samt H uppnåddes ej detekterbar plasmakonzentration (detektionsgräns $>0,13$ ng/ml) efter giva i subpalpebralkateter, trots att pupillerna var

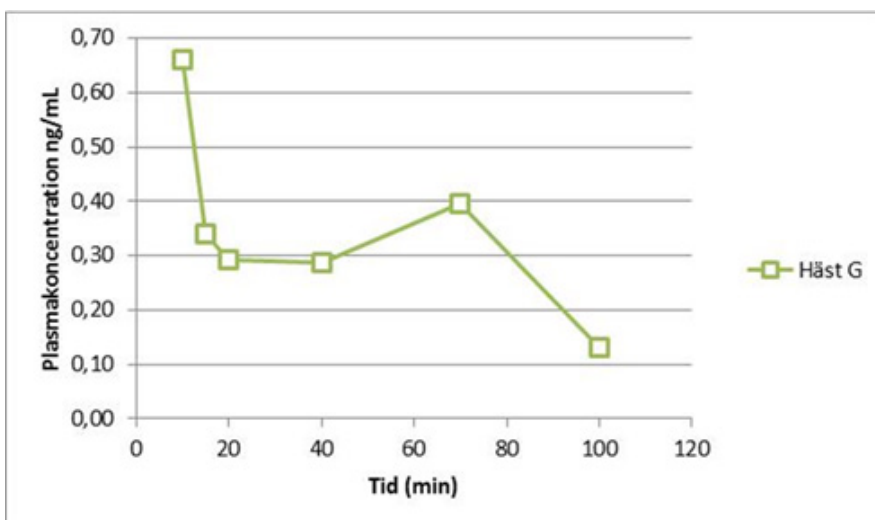
maximalt dilaterade 60 minuter efter läkemedlets administrering och att kriterierna för att säkerställa att läkemedlet nått fram till ögat vid giva var uppfyllda.

Atropinkoncentrationen i plasma över tid vid giva i subpalpebralkateter för häst C samt G visas i figur 4 respektive 5. Maximal plasmakoncentration var 7,33 ng/mL vid 10 minuter (häst C) och 1,43 ng/mL vid 7 minuter (häst G). Den terminala halveringstiden för atropin efter giva i ögonkateter fastställdes till 72 minuter (häst C) samt 53 minuter (häst G). Atropinkoncentrationen i plasma var ej längre detekterbar (<0,13 ng/mL) efter 4 timmar (häst C) respektive 2 timmar (häst G).

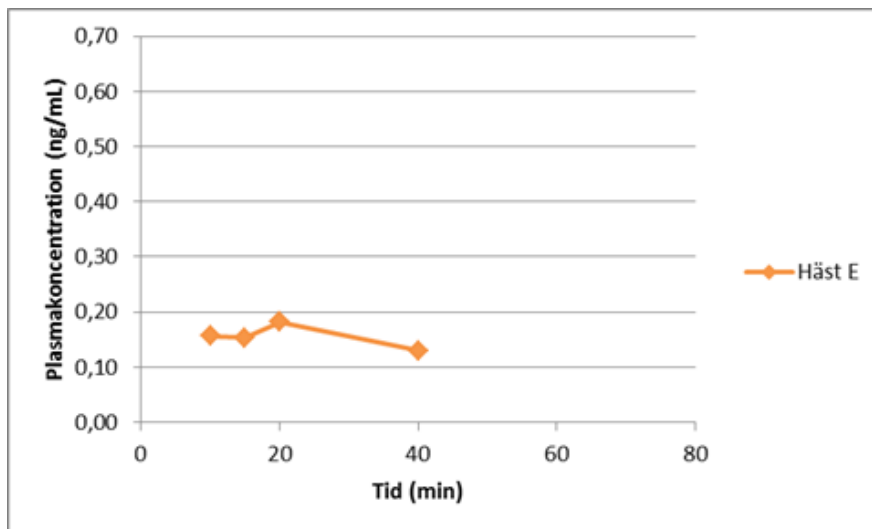
Häst E hade permanentkateter på motstående sida. Hästen hade en låg plasmakoncentration, knappt över detektionsgränsen för analysen endast vid ett fåtal tillfällen (figur 6). Därmed har ej terminal halveringstid räknats ut för denna individ.



Figur 4: Plasmakoncentration av atropin över tid efter giva i subpalpebral kateter, häst C



Figur 5: Plasmakoncentration av atropin över tid efter giva i subpalpebral kateter, häst G



Figur 6: Plasmakoncentration av atropin över tid efter giva i subpalpebral kateter, häst E

DISKUSSION

Denna studie visade att plasmakoncentrationen vid topikalt administrerat atropin skiljer sig kraftigt åt mellan hästarna i studien. Uppmätt plasmakoncentration varierade mellan 3,71–5,14 ng/mL vid intravenös giva, 0,66–14,8 ng/mL vid topikal (manuell) administrering i ögat och mellan 1,43–7,33 ng/mL vid användande av subpalpebral kateter. Studier på plasmakoncentrationen vid topikalt administrerat atropin i ögat på häst har inte tidigare genomförts. I studien av Kaila *et al.*, (1999), inkluderades friska frivilliga vuxna människor där droppar gavs i ögat manuellt och där det är rimligt att anta att försökspersonerna samarbetade välvilligt med den som administrerade dropparna. Trots detta sågs stora individuella skillnader mellan försökspersoner vilket antas bero på det faktum att läkemedel lätt rinner över och att administrerad dos därför inte blir exakt densamma och det är rimligt att anta att så även gäller för häst. Hästarna i vår studie var inte heller alltid helt samarbetsvilliga

i samband med administrering av läkemedlet vilket sannolikt är en bidragande orsak till stora individuella variationer vad gäller plasmakoncentrationen.

Några hästar hade ögonkatetern på samma sida som blodproverna togs från. Detta är också en stor bidragande orsak till skillnader i resultat mellan individer och förklarar också att vi hos häst B fick en högre plasmakoncentration vid den topikalt administrerade dosen jämfört med intravenös giva. Blodet dräneras från ögat via mindre kärl ner till jugularvenen. Den initiala delen av kurvan hos de hästar som administrerats läkemedel i ögat på samma sida som blodprovstagningen genomfördes representerar därför sannolikt inte plasmakoncentrationen i kroppen som helhet utan är ett mått på den pågående absorptionsfasen från det närliggande ögat. Kaila *et al.*, (1999) har visat att den initiala okulära absorptionsfasen varar under cirka 60 minuter hos människa. Det kan antas att hästar åtminstone inte avsevärt skiljer sig från människa i detta avseende. Det är alltså rimligt att tro att åtminstone den senare delen av kurvan representerar den faktiska plasmakoncentrationen hos samtliga hästar oavsett om läkemedlet administrerats på samma sida som blodprovstagningen.

Tre av hästarna (D, F och H) som fick läkemedlet i subpalpebral kateter uppnådde inte detekterbara plasmakoncentrationer av atropin (detektionsgräns på 0,13 ng/mL). En sannolik orsak till detta kan vara att en stor andel av administrerad dos läkemedel fanns kvar i den subpalpebrala katetern trots att läkemedlet administrerats så som föreskrivs, och trots att katetern kortats av till ca 25-30 cm. Att hästen också blinkar mer frekvent när det fräser till i ögat då slangen spolats igenom med luft efter administrerad dos läkemedel är också en tänkbar felkälla som kan ha påverkat mängd läkemedel tillgängligt för systemisk absorption. Hästarna reagerade mycket olika på när katetern spolades igenom med luft. Vissa individer verkade relativt oberörda medan andra slängde med huvudet och blinkade mycket frekvent vilket kan ha resulterat i en snabbare elimination av läkemedel. En annan tänkbar orsak till ett eventuellt mindre systemiskt upptag vid användande av ögonkateter kan vara att läkemedlets deponeras vid en annan lokalisation i ögat, det vill säga på konjunktiva och sclera under det övre ögonlocket. Vid manuell administrering deponeras läkemedlet medialt i konjunktivalsäcken och det är sannolikt att en stor mängd läkemedel då direkt dräneras ner i tårkanalssystemet vilket möjliggör ett större systemiskt upptag.

Den terminala halveringstiden var något längre efter intravenös giva till två hästar (104 respektive 109 minuter) jämfört med vid topikal giva på samma hästar (59 respektive 60 minuter) men då studien är mycket liten (endast resultat från två hästar) går det inte att säkert säga om denna skillnad är statistiskt signifikant. Ytterligare studier krävs för att verifiera om så verkligen är fallet. Terminal halveringstid efter administration via ögonkateter till två hästar fastställdes till 53 respektive 72 minuter vilket överensstämmer väl med resultatet vid manuell topikal giva. Kaila *et al.*, (1999), kom i sin studie fram till att den terminala halveringstiden varierade mellan 1,3–4,3 timmar (intravenös giva) respektive 1,5–2,9 timmar (topikal giva) hos människa. Även hos människa ses alltså stora individuella variationer vad gäller halveringstid och de såg ingen skillnad mellan administrationssätten i detta avseende.

Det är värt att notera att vår studie indikerar att halveringstiden för atropin är något kortare hos häst jämfört med hos människa.

I vår studie såg vi att efter sju timmar (ett spann på mellan 2-7 timmar) låg plasmakoncentrationen under detektionsgränsen på 0,13 ng/mL hos samtliga hästar. Våra resultat indikerar alltså att det efter en engångsdos bör vara mycket liten risk för fortsatt systemisk effekt såsom påverkan på mag-tarmkanalen och utveckling av kolik efter denna tid. Det är dock i dagsläget oklart kring vilken plasmakoncentration av atropin som ger en ökad risk för systemiska sidoeffekter och detta bör studeras vidare.

Atropin administreras vanligen upprepade gånger (itereras) vid behandling av t.ex. uveit hos häst och i vår studie har vi enbart studerat halveringstiden vid ett administreringstillfälle. Det vore mycket intressant att i framtida studier undersöka halveringstiden och plasmakoncentrationen vid upprepade administreringstillfällen. I studier genomförda av Ström *et al.*, (2014) och Williams *et al.*, (2000) har man studerat de kliniska effekterna efter topikalt administrerat atropin till häst. Resultaten från de båda studierna skiljer sig åt och sannolikt beror det på olika doseringsfrekvens och därmed olika stor dos atropin som administrerats. Hästarna i Williams *et al.* (2000), fick atropin i högre frekvens (varje timma) jämfört med studien utförd av Ström *et al.*, (2014). I den senare studien gavs atropin i dosintervall som rekommenderas vid behandling av uveit (var tredje till var sjätte timma) samt hästarna skrittades också vid hand tre gånger dagligen á 10 min. I studien utförd av Williams *et al.*, (2000) sågs signifikanta resultat avseende avsaknad av tarmmotorik och uppvisande av koliksymptom hos majoriteten av hästarna som ingick i studien. Enligt Ström *et al.*, (2014) sågs inget signifikant samband mellan den givna dosen och uppvisande av koliksymptom eller total avsaknad av tarmljud, även om en viss nedsättande påverkan på auskulterbare tarmljud kunde dokumenteras vid administrering var tredje timma. Då resultaten i vår studie indikerar att den terminala halveringstiden för atropin vid topikal giva sannolikt ligger på runt en timma så är det inte osannolikt att detta är förklaringen till skillnaderna i resultat mellan ovan nämnda studier. Vid frekvent administrering varje timma riskeras att plasmakoncentrationen stiger markant och en ackumulering av läkemedlet sker vilket leder till en stor risk för systemiska bieffekter såsom påverkan på tarmmotiliteten och utveckling av kolik.

KONKLUSION

I denna studie har plasmakoncentrationen och den terminala halveringstiden vid topikal och intravenös giva av atropin till häst undersökts. Resultaten indikerar att den terminala halveringstiden ligger på cirka 60 minuter hos häst vid topikal giva i ögat respektive cirka 100 minuter vid intravenös giva. Stora variationer i uppnådd plasmakoncentration vid topikal giva kunde ses mellan olika individer vilket kan ha flera förklaringar såsom olika

samarbetsvillighet mellan hästar och felkällor av olika slag som diskuterats ovan. Resultaten bör tolkas med viss försiktighet då detta är en liten studie som endast inkluderar åtta hästar.

KÄLLFÖRTECKNING

Adams, S.B, Lamar, C.H., Marty, J. (1984). Motility of the distal portion of the jejunum and pelvic flexure in ponies. Effect of six drugs. *American Journal of veterinary research*, 45, 4: 795-799.

Alain Regnier (2013) Clinical Pharmacology and Therapeutics Part 1: Drug Delivery I: *Veterinary Ophthalmology*. 5:e upplagan. Ames: Blackwell Publishing, 271-287.

Albanus, L., Sundwall, B., Vangbo, Winbladh, B. (1968) The fate of Atropine in the dog. *Acta pharmacol. Et toxicol*, 26: 571-582, 1968

Barlett, JD., Cullen, AP. (1984) Administration of ocular drugs. *Clinical Ocular Pharmacology*. Boston: Butterworth Publishers, 1984: 365-418.

Chun, DK., Shapiro, A., Abelson, MB. (2008). Ocular pharmacokinetics. In: *Abelson MB, ed. Principles and Practices of Ophthalmology*, Canada: Elsevier, 2008.

Cunha-Vaz, J.G (1979) The blood-Ocular barriers. *Survey of Ophthalmology*, 23: 5 march-april 1979

Davies, J.L., Stewart, T., Brazik, E., Gilger, B.C. (2003) the effect of topical administration of atropine sulfates on the normal equine pupil: influence of age, breed and gender. *Veterinary Ophthalmology* 6, 4, 329-332.

- Dhillon, S., Gill, K. (2006) Basic pharmacokinetics, I: *Clinical Pharmacokinetics*. RPS Publishing, 1-44. (Kap 1 ur en bok som heter Basic pharmacokinetics)
- Don A. Samuelson (2013). Ophthalmic Anatomy I: (Kirk N. Gelatt) *Veterinary Ophthalmology*. 5:e upplagan. Ames: Blackwell Publishing, 37-148.
- Grass, G.M., Robinson, J.R. (1988) Mechanisms of corneal drug penetration2: Ultra structural analysis of potential pathways for drug movement. *Journal of Pharmacokinetics Sci*. 77, 15-23.
- Hageman, S.L., Bosin, T.R., Harrison, S.D. (1984) Fundamental concepts in ocular pharmacology. In: Barlett JD, Janus SD, Eds *Clinical Ocular Pharmacology*. Boston: Butterworth Publishers, 1984; 3-35.
- Järvinen, K., Järvinen, T., Urtti, A. (1995) Ocular absorption following topical delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 16 (1995) 3-19
- Kaila, T., Korte, J.M., Saari, K.M. (1999) Systemic bioavailability of ocular applied 1% atropine eye drops. *Acta Ophthalmology. Scand*. 1999; 77: 193-196
- Lee VHL. (1985) Topical ocular drug delivery; Recent advances and future perspectives. *Pharmacy Intern* 1985; 6: 135-138
- Maley, K. Systemic absorption of topically administered drugs. *Compend Cont Ed Pract Vet* 2000; 22: 649-657.
- Normand G. Ducharme., Susan L. Fubini. (1983) Gastrointestinal complications associated with the use of atropine in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*.
- Paret, G., Mazkereth, R., Sella, R., Almog, S., Mayan, H., Lotan, D., Abraham, R.B., Barzilay, Z., Ezra, D. (1999) Atropine pharmacokinetics and pharmacodynamics following endotracheal versus endobronchial administration in dogs. *Resuscitation* 41 (1999) 57-62
- Patton, T. (1977) Pharmacokinetic evidence for improved ophthalmic drug delivery by reduction of instilled volume. *Journal Of Pharmacokinetics Sci* 1977; 66 1058-1059.
- Plumb, D.C. (2011). *Plumb's Veterinary Drug Handbook*, 7:e uppl. Iowa: Wiley-Blackwell
- Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M., Flower, R.J., Henderson, G. (2012) *Pharmacology*. 7:e upplagan. Spain: Elsevier Inc.
- Rubin, L.F., Wolfes, B.S. (1962) Mydriatics for canine ophthalmoscopy. *Journal of vet med assos* 1962; 140; 137-141.
- Sasaki H., Yamamura K.O., Nishida K., Nakamura J., Ichikawa M. (1996) Delivery of drugs to the eye by topical application. *Prog Ret Eyes Res* 1996; 583-620.
- Schoenwald, R.D., Deshpande, G.S., Retwisch, D.G., Barfknecht, C.F. Penetration into the anterior chamber via the conjunctival/scleral pathway. *Journal of Ocular pharmacology Therapy* 1997; 13: 41-59.
- Shell J. (1982) Pharmacokinetics of topical applied ophthalmic drugs. *Survey Ophthalmology* 1982; 26: 207-218.

Sjaastad, Ö.V., Hove, K., Sand, O. (2003) *Physiology of Domestic Animals*. 1:a upplagan Oslo: Scandinavian Veterinary Press.

Slatter, D. (2001) *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. 3:e upplagan. Pennsylvania: W.B Saunders Company.

Ström L., Dalin, F., Domberg M., Haubro Andersen P., Ekesten B., (2013). Topical ophthalmic atropine in horses – an experimental study. *I Conference Proceedings: BEVA congress, Birmingham, England, 11-13 September, 2014*

Urtti, A., Salminen L., Kujari H., Jäntti V. (1984) Effect of ocular pigmentation on pilocarpine pharmacology in the rabbit eye. II. Drug response. *Intern J Pharm* 1984; 19: 53-61

Weiss M, Hendrickson J. (1994) Information on drop size needs to be eyed closed. *American Journal of Hospital Pharmacology* 1994; 51: 2969-2970.

Williams, M.M., Spiess, B.M., Pascoe, P.J., O'Grady, M. (2000) Systemic effects of topical and subconjunctival ophthalmic atropine in the horse. *Veterinary Ophthalmology* 3, 193-199