

Glukokortikoider till häst - säker användning ur ett dopnings- och behandlingsperspektiv proj nr H1047221, slutrapport

Projektledare och huvudsökande: Carina Ingvast-Larsson

Bakgrund

Dopningskontroll är ett hjälpmedel inom hästsporten för att säkerställa ett gott djurskydd, att sporten genomförs på lika villkor samt även att endast sunda djur används i avelsarbetet. Djurskyddsaspekten innebär att endast friska djur tävlas och tränas för tävling samt att djuren får tillräcklig tid för rehabilitering efter en behandling. Enligt djurskyddslagen både i Sverige och i Norge får ett djur som tränas under tävlingslika förhållanden eller deltar i tävling på tävlingsbana inte utsättas för dopning eller andra otillbörliga åtgärder som påverkar djurets prestationsförmåga eller temperament. Djuren får inte heller tävlas eller tränas med tillåtna läkemedel som kan maskera smärta och inflammation eftersom konsekvenserna för djuret kan bli förvärring av skadan. Samband mellan läkemedlets plasmakoncentration och effekt är underlag både för säker och effektiv terapi samt inom antidopningsarbetet.

Projektets mål var att underlätta användning av glukokortikoider till häst för att trygga en god hästvelfärd i kombination med en regelrätt dopningskontroll. Glukokortikoider används i stor utsträckning eftersom läkemedlen är effektiva mot inflammatoriska processer.

Projektet innefattade tre delstudier med glukokortikoiden dexametason för att undersöka sambandet mellan koncentrationen av dexametason och effekten på olika biomarkörer, både i plasma och i inflammerad led. Även den kliniska effekten av dexametason på experimentellt framkallad aseptisk artrit undersöktes.

Syftet i studie 1 var att fastställa kinetiken av dexametason efter intramuskulär administration av långtidsverkande (svårösligt) dexametasonisonikotinat samt att mäta effekten av dexametason med hjälp av endogent kortisol som biomarkör. Försöket var godkänt av försöksdjursetisk nämnd (2008-10-31, C232/8). I studie 2 var syftet att ytterligare konfirmera sambandet mellan effekten på kortisol och koncentration av dexametason i plasma samt kartlägga sambandet mellan koncentration av dexametason och effekt på cytokiner (inflammationsmarkörer) och andra lämpliga biomarkörer. Försöket var godkänt av Uppsala djurförsöksetisk nämnd (2011-12-22, C333/11). Studie 3 utfördes i samarbete med Birgit Ranheim Institutt for mattrygghet og infeksjonbiologi (MatInf), Seksjon for farmakologi og toksikologi (FarmToks), Norges veterinærhøgskole. Etiskt tillstånd inhämtades från Forsøksdyrutvalget (2013/61618-1) innan försökstart. Syftet med studien var att följa koncentrationstidsförloppet i ledvätska och i plasma efter injektion av dexametasonnatriumfosfat i inflammerad led. Ytterligare syfte var att undersöka effekten av dexametason på aseptisk artrit på häst både på biomarkörer i ledvätska och kliniska symptom.

Material och metoder

I **Studie 1** behandlades sex varmblodiga travarvalackar med långtidsverkande dexametason (0,03 mg dexametasonisonikotinat/kg intramuskulärt - den av läkemedelsfirman rekommenderade dosen). Blodprov togs vid bestämda tidpunkter, dagligen i 5 dagar innan administration av dexametason och i 4 veckor efter administrationen. Spontankastad urin samlades en gång dagen innan dexametasongivningen och därefter i 4 veckor. Blodprover togs kl 9 på morgonen vid samma tidpunkt som innan administrering av dexametason. Efter administrering av dexametason togs blodprover enligt protokoll till och med dag 30.

Varmblodstravare (4 ston och 2 vallacker) användes även under **studie 2**. Dexametason-natriumfosfat med 3 olika doser eller placebo gavs som infusion under 3 h efter en intravenös start-dos för att snabbt erhålla önskad plasmakoncentration. Doserna var grundade på resultaten från första studien. Varje individ fick samtliga doser (placebo, låg, mellan och hög) i slumpmässig ordning. Mellan varje behandling var det minst en veckas *wash out*. Blodprover togs under och efter infusionen enligt ett fastställt protokoll. Metodutveckling och validering av ett hästspecifikt kommersiellt ELISA för kvantifiering av IL-10 och IL-1 β -receptorantagonist har utförts (Ahlberg, 2013; Bergenvall, 2013). Biokemiska markörer har utvärderats i samarbete med Harold Tvedten och medarbetare (resultat redovisas inom projektet H1247065), Institutionen för Kliniska vetenskaper, avdelning Klinisk kemi. Cytokinerna IFN- α , IL-4, IFN- γ , IL-17 och IL-10 analyserades med hjälp av sk Luminex i samarbete med Bettina Wagner, Cornell University, College of Veterinary Medicine. En metod att för isolera RNA och ge möjlighet att kvantifiera genuttrycket (mRNA) av interleukiner (IL-1 β , IL-10) sattes upp och utvärderades i ett pilotförsök. Helblod frystes in obehandlad (-70) för att sedan tinas i RNA konserverande medium. Totalt RNA kvantifierades med en RNA specific Quant-iT RiboGreen kit (Invitrogen) enligt medföljande instruktioner och integriteten bedömdes genom RNA elektrofores med efterföljande UV visualisering av 28S- och 18S-ribosomala RNA band för att få fram känd mängd av icke nedbrutet RNA. Sedan kördes realtids-RT-PCR med genspecifika primers för att mäta det kvantitativa genuttrycket. Pilotresultatet var positivt och material samlades under huvudstudien. När metoden utvärderades i större skala konstaterades att RNA utbytet var otillräckligt och kvaliteten på RNA sviktande varför ytterligare en metod att rena fram RNA ur provmaterialet utvärderades med likvärdigt resultat. RNA analyserna lyftes därför ur försöket eftersom fortsatta analyser omöjliggjordes inom projektets ekonomiska ramar.

I **studie 3** användes varmbloodstravare, 3 ston och 3 vallacker, i ett blindat, randomiserat *cross-over* försök. Lipopolysaccharid (LPS), 2 ng löst i 2 ml koksaltlösning, injicerades i karpaleden vid tid 0. Två timmar därefter behandlades hästarna med antingen dexametason-natriumfosfat (i individuella doser: 0,01, 0,03, 0,1, 0,3, 1 eller 3 mg/led) alternativt placebo (NaCl) intraartikulärt. Minst 3 veckor *wash-out* mellan behandlingarna. Efter induktion av inflammation samlades ytterligare prover av blod och ledvätska enligt fastställt protokoll. Innan induktionen av inflammationen samt vid varje provtagningstillfälle mättes ledomfång, lokal hudtemperatur, tryckkänslighet och kroppstemperatur. Hästarnas generella välfärd/smärtupplevelse utvärderades med *composite measure pain scale*, CMPS. Eventuell hälta utvärderas i trav (8 x 20 m rakt spår) både objektivt av klinikveterinär (n=3) med en 5-gradig skala samt objektivt med en sensorbaserad metod (*Lameness Locator*, LL) tillsammans med Marie Rhodin, institutionen för kliniska vetenskaper, SLU. En baslinje av samtliga kliniska variabler togs innan 0-provet. Både ledvätskeproverna och blodproven har analyserats för serum amyloid A (SAA) i samarbete med Stine Jacobsen vid Institut for Produktionsdyr og Heste, faggrupp Medicin og Kirurgi, Köpenhamns universitet. Ledvätskan har även analyserats för IL-1 β samt prostaglandin E₂ (PGE₂) med hjälp av kommersiella Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assays (ELISAs). Samtliga kemiska analyser av dexametason och kortisol i biologiskt material har utförts med hjälp av vätskekromatografi kopplad till masspektrometri (HPLC/MSMS) i samarbete med Ulf Bondesson och Mikael Hedeland, SVA.

De farmakokinetiska analyserna kopplade till effektmarkörer har utförts i samarbete med Johan Gabrielsson, Institutionen för Biomedicin och Veterinär Folkhälsovetenskap, SLU. Både i studie 1 och 2 har kortisolhämningen bestämts och kvantifierats med hjälp av en *turnover*-modell. I studie 2 tar modellen även hänsyn till den dygnsvariation kortisol uppvisar hos häst. Samtliga dosnivåer + placebo har samkörts i analysen vilket gör att parametrarna kan bestämmas med bättre precision.

Resultat

Långtidsverkande dexametason (dexametasonisonikotinat)

Koncentrationsförloppen av både dexametason och kortisol i plasma visas i fig. 1. Sänkningen av plasmakortisol är statistiskt signifikant mot baslinjen mellan timme 4 och 144.

Konc. ($\mu\text{g/L}$)

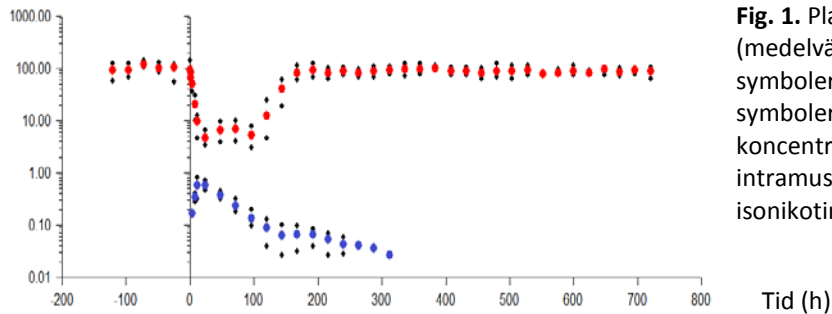


Fig. 1. Plasmakoncentrationen (medelvärden) av dexametason (blå symboler), endogent kortisol (röda symboler) samt högsta och lägsta uppmätta koncentration (svarta symboler) efter intramuskulär injektion av dexametasonisonikotinat, 0,03 mg/kg, till 6 hästar.

De individuella plasma- och urin koncentrationerna visas i fig. 2. Halveringstiden var $38,7 \pm 19$ h (medel \pm SD), maximala plasmakoncentrationen var $0,61 \pm 0,12$ $\mu\text{g/L}$, tiden till maximal plasmakoncentration 6,1 h. Dexametasonkoncentrationen i blod kunde kvantifieras upp till 9 dagar (LOQ = 0,025 $\mu\text{g/L}$). I urin var maximala uppmätta koncentration 3,24-5,48 $\mu\text{g/L}$ uppmätt i prov 22-36 timmar efter administrering av dexametason. Dexametason var kvantifierbart i urin (LOQ 0,15 $\mu\text{g/L}$) i upp till 14,5 dagar (medel = $9,8 \pm 3,1$ dagar). Den koncentration som ger halva maximala effekten (IC_{50}) var $0,06 \pm 0,04$ $\mu\text{g/L}$.

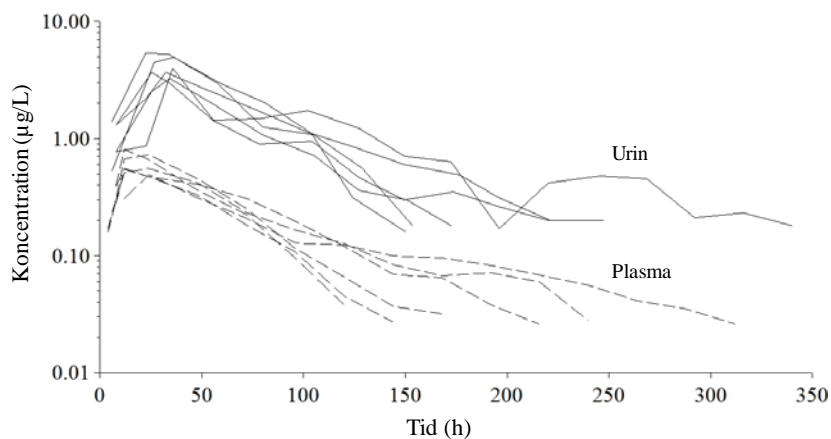


Fig. 2. Koncentrationen av dexametason i plasma (streckade linjer) och urin (heldragen linje) efter intramuskulär giva av dexametasonisonikotinat (0,03 mg/kg) till 6 hästar.

Kortidsverkande dexametason-natriumfosfat (studie 2 och 3)

Studie 2

Plasmakoncentrationen av dexametason under och efter infusionen av dexametasonlösningen visas i figur 3. Clearance var 0,51 L/h·kg (median, range 0,46 – 0,56), distributionsvolymen var 1,58 L/kg (1,51-2,01) och halveringstid var 2,4 h (2,0 – 2,6). Kortisolkoncentrationer över tid visas i figur 4 och medianvärdet för IC_{50} var 0,04 $\mu\text{g/L}$ (0,006-0,065 $\mu\text{g/L}$).

Inga kvantifierbara koncentrationer av cytokinerna IL-10 samt IL-1 RA kunde påvisas med hjälp av kommersiellt tillgängliga hästspecifika ELISA-kit eller cytokinerna IFN- α , IL-4, IFN- γ , IL-17 och IL-10 som analyserades med hjälp av sk Luminex.

Konc. ($\mu\text{g/L}$)

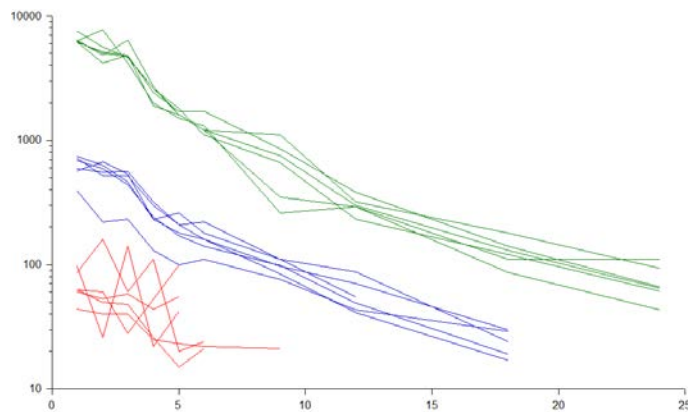


Fig. 3. Dexametasonkoncentrationer i plasma över tid för 6 hästar efter en bolusinjektion följt av 3 timmars infusion av dexametasonlösning i doserna (bolus + infusion) $0.1 + 0.07 \mu\text{g/kg}$ (röd), $1 + 0.7 \mu\text{g/kg}$ (blå) och $10 + 7 \mu\text{g/kg}$ (grön).

Tid (h)

Konc. ($\mu\text{g/L}$)

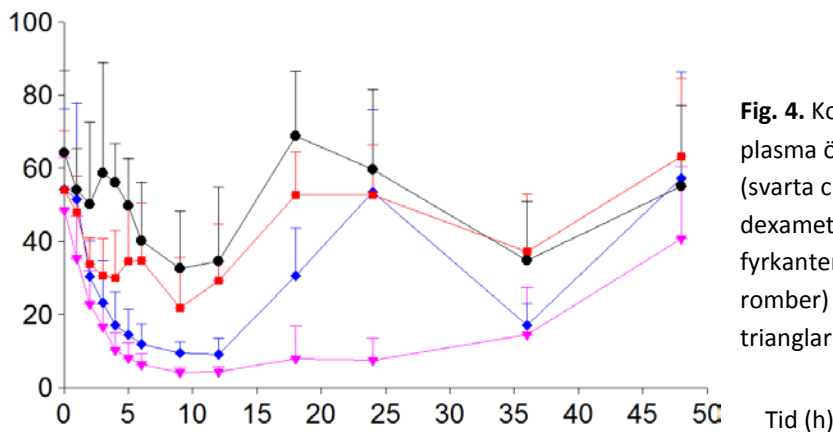


Fig. 4. Kortisolkoncentrationer (medel \pm SD) i plasma över tid efter administration av placebo (svarta cirklar) eller bolus + infusion av dexametason i låg dos ($0.1 + 0.07 \mu\text{g/kg}$, röda fyrkanter), mellandos ($1 + 0.7 \mu\text{g/kg}$, blå romber) samt hög dos ($10 + 7 \mu\text{g/kg}$, cerise trianglar).

Studie 3

Det inflammatoriska svaret på den intraartikulära LPS-injektionen uppvisade stor variation mellan individer. Samtliga hästar fortsatte bära vikt på behandlade benet, om än avlastat i vissa fall, och samtliga kunde förmås att röra sig i både skritt och trav utan större anmodan än vid baslinjemätningarna. Ingen häst fordrade understödande behandling eller kompletterande smärtlindring. Läkemedelskoncentrationerna analyserades i ledvätska samt i plasma från samtliga hästar och visas i fig. 5. Inga läkemedelskoncentrationer kunde kvantifieras i plasma från den häst som erhöll lägsta dosen dexametason ($0,01 \text{ mg}$). De farmakokinetiska analyserna är inte slutförda vid upprättandet av slutrapporten och kan därför inte redovisas. De preliminära analyserna indikerar dock att upptaget från den inflammerade leden till cirkulationen är snabb (Maximal koncentration i plasma noterades inom 40 minuter från dexametasoninjektion i leden) och halveringstiden i ledvätska är ca 1-3 timmar.

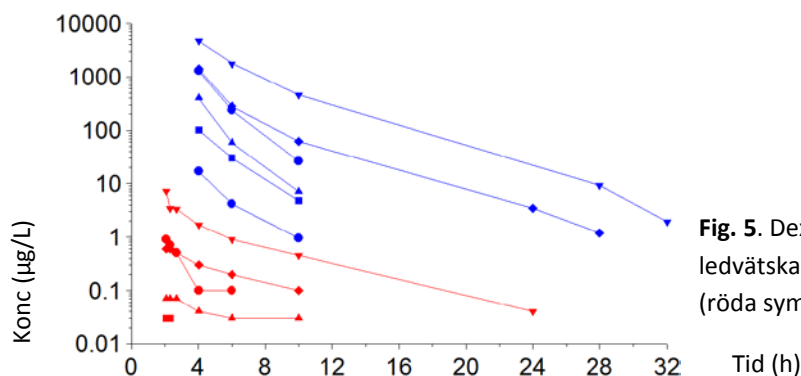


Fig. 5. Dexametasonkoncentrationer över i tid i ledvätska (blå symboler/blå linjer) samt i plasma (röda symboler/röda linjer).

De farmakodynamiska analyserna är inte färdigutförda vid upprättandet av slutrapporten och enbart preliminära data kan redovisas. Det förelåg ingen skillnad i rektaltemperatur mellan behandlingsomgångarna ($P=0,09$). Totala lokala temperaturhöjningen över karpaleden var signifikant högre efter LPS behandling jämfört med kontralateralt obehandlat ben ($P<0,001$). Det förelåg ingen signifikant skillnad mellan dexametason eller placebobehandling ($P=0,096$) om alla hästar inkluderades i analysen. Däremot, om hästen som fick lägsta dosen dexametason uteslöts var hudtemperaturen högre under placeboomgången ($P=0,046$). Det totala ledomfånget var signifikant högre efter LPS behandling jämfört med kontralateralt obehandlat ben ($P<0,03$). Det förelåg ingen skillnad mellan behandlingsomgångarna i vare sig LPS-behandlat ben ($P=0,14$) eller obehandlat ben ($P=0,55$). Det var ingen skillnad i totalscore på CMPS mellan grupperna ($P=0,87$). Hältan vid veterinärbedömning varierade mellan hästarna (variationsvidd 0,5-3,5 grader) och visas i fig. 6. Vid fem av tolv behandlingstillfällen påvisades hälta i frambenen innan induktion av inflammationen. Dessutom påvisades bakbenshälta hos fem hästar. För fyra av sex hästar var hältan lägre alternativt återgick till baslinjen snabbare efter behandling med dexametason i leden. Hältan hade antingen återgått till baslinjen eller noterades som 0,5 gradig 24 timmar efter LPS-injektionen.

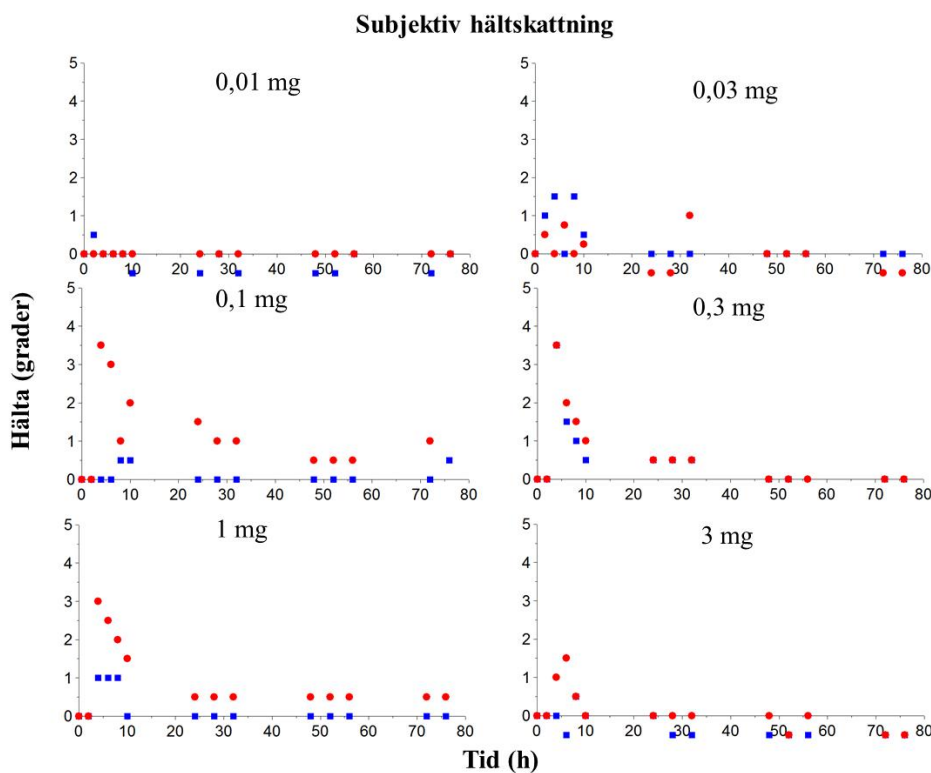


Fig. 6. Förändring i hälta över tid för sex hästarna uttryckt som förändring mot baslinjen (=0). Röda fyllda cirklar representerar LPS (2 ng/led) vid $t=0$ + NaCl behandling vid $t=2$ och blå fyllda kvadrater representerar LPS (2 ng/led) vid $t=0$ + dexametason-natriumfosfatbehandling vid $t=2$ (doser angivna i figuren). Negativa värden indikerar asymmetri/hälta på kontralateralt (obehandlat) ben. För hältgradering har Association of Equine Practitioners (AAEP) 5-gradiga skala använts.

Objektivt bedömt (LL) inducerade LPS behandlingen hälta hos fyra av sex hästar med fyrfaldig variation (figur 7). Hältan var mest uttalad fyra till sex timmar efter induktionen av inflammation och läkte ut inom 32 timmar på samtliga hästar. Intraartikulär dexametasonbehandling antingen förhindrade hältutvecklingen hos tre av hästarna och minskade graden av hälta samt påskyndade avläkningen hos den fjärde individen.

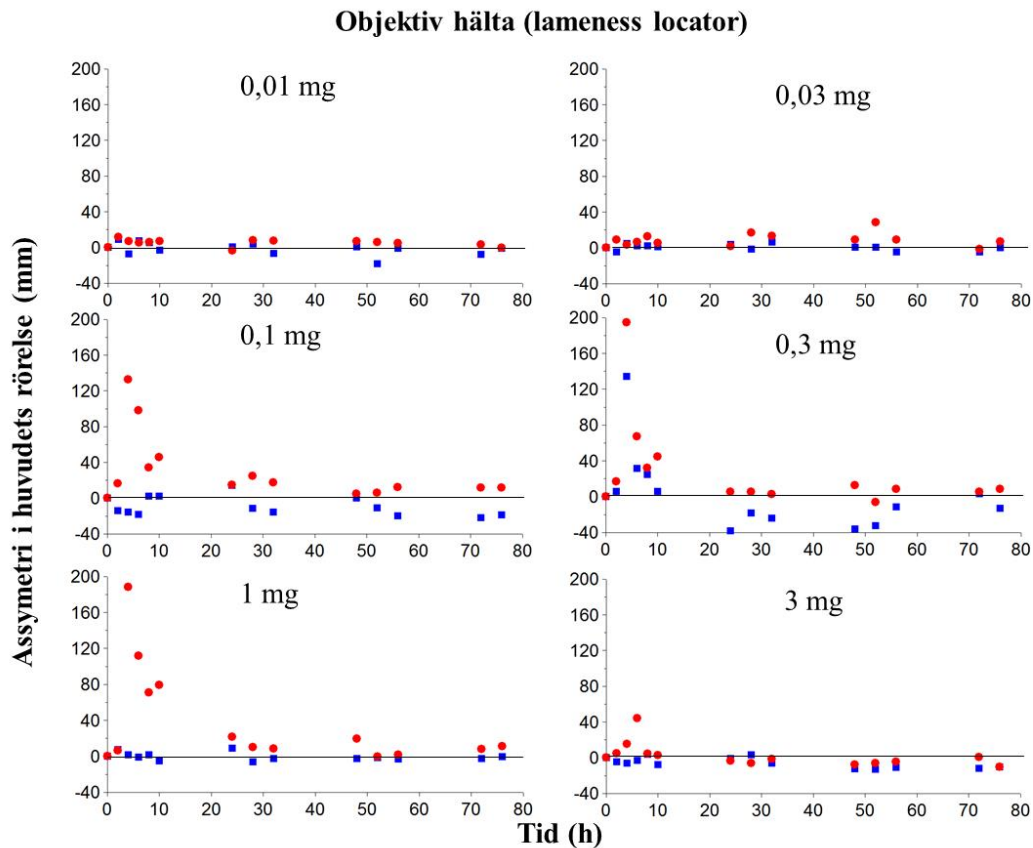


Fig. 7. Asymmetri (differens mellan höger och vänster ben) i huvudets vertikala rörelse över tid för sex hästar uttryckt som förändring mot baslinjen (=0). Röda fyllda cirklar representerar LPS (2 ng/led) vid t=0 + NaCl behandling vid t=2 och blå fyllda kvadrater representerar LPS (2 ng/led) vid t=0 + dexametason-natriumfosfatbehandling vid t=2 (doser angivna i figuren). Negativa värden indikerar asymmetri/hälta på kontralateralt (obehandlat) ben.

IL-1 β påvisades i koncentrationer över LLQ (3,2 ng/mL) hos 5 av de 6 placebobehandlade hästarna 4-10 h efter LPS-provokation. Koncentrationen varierade mellan 10 – 51 ng/mL. Efter injektion av dexametason kunde IL-1 β påvisas i ledvätskan från 2 av hästarna 4-8 h efter LPS-provokation. Koncentrationen varierade mellan <3,2-20 ng/mL. Koncentrationerna av PGE₂ följde samma mönster.

Diskussion

Dexametasons kinetik hos den varmblodiga travaren överensstämmer väl med tidigare publicerade data för fullblod (Cunningham et al., 1996; Soma et al., 2005; Grady et al., 2010; Soma et al., 2013). Det finns inga tidigare studier rapporterade på häst som har påvisat en relation mellan plasmakoncentrationen och effekten av glukokortikoider. Resultaten av analyserna med hjälp av *turnover*-modellen mellan studie ett och två stämmer överens och stärker slutsatsen att det existerar ett samband mellan plasmakoncentration och hämning av kortisolnivåerna även då en baslinje analys inkluderats. Vi har därmed kunnat vederlägga hypotesen att det saknas ett samband mellan effekten av glukokortikoider och plasmakoncentration (Toutain et al., 1984; Soma et al., 2005; Grady et al., 2010; Soma 2013). Användandet av turnovermodellen möjliggör också framtida utvärdering av kortisolanalyser, t.ex. dexametasonhämningstest vid diagnos av Cushings sjukdom hos häst (Ekstrand et al., 2015, *in press*). De preliminära resultaten från analysen av koncentrationseffektsambandet mellan dexametason och metaboliska biomarkörer pekar på mer än en tiofaldig högre potensvärde (EC₅₀) för att höja plasmakoncentrationen av glukos (Ekstrand et al., manuskript).

ELISA-analyserna hade för dålig känslighet för att kunna kvantifiera koncentrationen av de undersökta biomarkörerna i plasma från friska hästar (Ahlberg, 2013; Bergenvall 2013). Vid analyserna utförda vid Cornell University påvisades inga samband mellan plasma exponeringen av dexametason och uttrycket i plasma av cytokinerna INF- α , INF- γ , IL-4 och IL-17. Inga plasmakoncentrationer av IL-10 var högre än detektionsgränsen för analysen varför jämförelse mellan exponerad och oexponerad omöjliggjordes. Det är rimligt att anta att basaluttrycket av cytokiner är lågt i plasma hos den friska hästen. IL-10 har till exempel rapporterats i så låga koncentrationer att det inte är detekterbart (LOD 4 pg/ml respektive 15 pg/ml) hos alla friska vuxna hästar och föl samt föl med sepsis (Burton *et al.*, 2009; Lavoie-Lamoureux *et al.*, 2012). En tänkbar anledning till de negativa resultaten är att cytokinuttrycket i plasma är för lågt för att detekteras med de idag tillgängliga analysmetoderna, även efter behandling med dexametason som stimulerar syntesen. En annan tänkbar anledning är för låg alternativt för kort exponering av dexametason för att stimulera en syntes av IL-10 i den friska hästen eller att de mycket snabba tidsförlopp som många cytokiner uppvisar gjorde att vi missade en eventuell påverkan på grund av begränsat antal blodprover. Det är möjligt att en inflammationsmodell med systemisk påverkan (till exempel intravenös administration av LPS) skulle ge bättre svar på frågeställningen hur cytokinuttrycket påverkas av glukokortikoidbehandling.

Kinetiken av dexametason i leden visar liknande tidsförlopp som i plasma vilket indikerar att vid behandling med lättlösligt dexametason intraartikulärt är risken minimal att verksam substans kvarhålls i inflammerad led vilket har betydelse för värdering av karensstider inför tävling.

Kombinationen LPS + upprepad ledpunktion skapade en lokal reaktion i leden utan systemisk påverkan som manifesterades i förhöjd hudtemperatur över leden och ledfyllnad men inte feber. Avsaknaden av signifikant skillnad i svullnad och hudtemperatur mellan dexametasonbehandling och placebo är troligen en kombination av försöksdesign (individuella doser) och kort duration på inflammationsmodellen. En inflammationsmodell som varade upp till två dygn hade varit önskvärt men svårt att försvara av etiska skäl då samtliga djur även placebobehandlades. Veterinärbedömning, LL samt markörer i ledvätska visar emellertid samma mönster att dexametasonbehandlingen har effekt mot inflammation även i doser lägre än vad som idag används kliniskt (rekommenderad dos upp till 10 mg). Notera gärna hästen doserad med 0,3 mg dexametason (fig. 7). Den var innan LPS kategoriserad som ohalt av klinikveterinär och obestämt assymetrisk med lameness locator. Efter dexametasonbehandling visade den på hälta på motsatt ben vilket troligen indikerar att den hade besvär från båda frambenen men dexametasonbehandlingen släckte hälta i det behandlade benet så den kontralaterala hälta blev detekterbar.

Resultatet från tryckalgotriin redovisas ej då flera hästar visade på god inlärningsförmåga inför testmetodiken vilket föranledde både osäkerhet ifall visad reaktion var smärtframkallad eller framkallad av förväntan inför kommande smärta samt flera mätpunkter utan uppmätta resultat eftersom hästarna genast drog undan benet. Av den orsaken har ingen ytterligare tolkning av resultatet utförts.

En fördjupad PKPD-analys kommer att genomföras på samtliga effektvariabler i syfte att ge mer information om relationen mellan koncentration i ledvätska och effekt på inflammationsmarkörer och även koncentration i plasma och effekt på metabola biomarkörer.

Publikationer

Rapporter i vetenskaplig tidskrift och proceedings

Ekstrand C, Bondesson U, Gabrielsson J, Hedeland M, Kallings P, Olsén L, Ingvast-Larsson C. Plasma concentration-dependent suppression of endogenous hydrocortisone in the horse after

intramuscular administration of dexamethasone-21-isonicotinate. *J Vet Pharmacol Ther.* 2015 Jun;38(3):235-42. doi: 10.1111/jvp.12175. Epub 2014 Nov 3.

Carl Ekstrand, Ulf Bondesson, Ulrika Falkenö, Johan Gabrielsson, Mikael Hedeland, Peter Kallings, Lena Olsén, Harold Tvedten, Carina Ingvast-Larsson. Additional evidence for dexamethasone screening limits. Proceedings, 20th Int conference of Racing Analysts and Veterinarians, Mauritius, September 20 - 27, 2014. Manuskript.

Carl Ekstrand, Carina Ingvast-Larsson, Lena Olsén, Mikael Hedeland, Ulf Bondesson, Johan Gabrielsson. 2015. A quantitative approach to analysing cortisol response in the horse. *J Vet Pharmacol Ther*, under tryckning.

Konferenser och workshops

C Ekstrand, PK/PD-modelling of cortisol turnover in horses". Oral presentation, Workshop, 12th International Congress of the European Association of Veterinary Pharmacology and Toxicology (EAVPT 2012), 8–12 July 2012, Noordwijkerhout, The Netherlands.

U Bondesson, J Gabrielsson, M Hedeland, P Kallings, C Ingvast-Larsson. Dexamethasone in horses: Pharmacokinetics and the use of a turnover model to estimate the pharmacodynamic effect on endogenous cortisol, 2012. 19th Int conference of Racing Analysts and Veterinarians, Philadelphia, Pennsylvania, September 15-22, 2012. Abstract and oral presentation.

Carl Ekstrand, Ulf Bondesson, Ulrika Falkenö, Johan Gabrielsson, Mikael Hedeland, Peter Kallings, Lena Olsén, Harold Tvedten, Carina Ingvast-Larsson. Additional evidence for dexamethasone screening limits. 20th Int conference of Racing Analysts and Veterinarians, Mauritius, September 20 - 27, 2014. Abstract and oral presentation.

Carl Ekstrand, Carina Ingvast-Larsson, Lena Olsén, Mikael Hedeland, Ulf Bondesson, Johan Gabrielsson. A quantitative approach to analysing hydrocortisone response in the horse. 13th International Congress of the European Association of Veterinary Pharmacology and Toxicology, Nantes, Frankrike 19-22 juli 2015. *J Vet Pharmacol Ther.* 2015, 38: supplement 1. Abstract and poster presentation. Postern kommer även att presenteras på VH-fakultetens forskardag 2015-10-14.

Examensarbeten

Ahlberg, Malin, 2013. *Validering av ELISA för analys av equint IL-1 RA i plasma*. Second cycle, A2E. Uppsala: SLU, Dept. of Biomedical Sciences and Veterinary Public Health.

Bergenwall, Sebastian, 2013. *Dexametasons effekt på IL-10 hos häst*. Second cycle, A2E. Uppsala: SLU, Dept. of Biomedical Sciences and Veterinary Public Health.

Ensley Hellum, Christine, 2014. Validation of the Equinosis Lameness locator[®] against a veterinarian's opinion, while examining the effect of dexamethasone in horses with lipopolysaccharide-induced synovitis. Year 3 research project, School of Veterinary Medicine and Science, University of Nottingham. PROJECT SUPERVISOR: Dr Stuart Paine.

Populärvetenskapligt

Carl Ekstrand. 2015 På väg mot säkrare kortisonbehandling av häst? Framtidens djurhälsa och djurvälstånd, SLU, Forskningsnytt. <http://www.slu.se/sv/centrumbildningar-och-projekt/framtidens-djurhalsa-och-djurvalfard/>

Ekstrand, C. 2013. Seminarium 28/2 2013, SVA. Glukokortikoider till häst – säker användning ur ett dopnings- och behandlingsperspektiv.

Ekstrand, C. 2013. Seminarium 4/4 2013, Läkemiddelsverket. Glukokortikoider till häst – säker användning ur ett dopnings- och behandlingsperspektiv.

Ekstrand, C. 2014. Seminarium 4/12 2014, SVA. Lite dexametason, lite cetirizin. Lite häst, lite hund.

Planerade publikationer

Minst två ytterligare publikationer i refereegranskade vetenskapliga tidskrifter planeras. Artiklar kommer även att skickas in för publikation i Svensk Veterinärtidning samt ytterligare populärvetenskapliga publikationer via Hästsverige och SLU/SVA Hippocampus lunchseminarieserie.

Slutsats

Det påvisade sambandet mellan plasmakoncentrationer av dexametason och effekt har stor betydelse för optimal terapi och antidopningsarbetet. Säkrare doseringsanvisningar för olika beredningar av dexametason kan i framtiden minimera biverkningarna men med bibehållen effektiv terapi och följaktligen öka djurvälståndet. Dexametasonbehandling i led hade effekt mot inflammation med doser lägre än vad som idag rekommenderas, vilket indikerar möjligheten att med lägre doser bibehålla effektiv terapi med minskad risk för biverkningar. Inom antidopningsarbetet som kontrollerar användningen av tillåtna läkemedel har de nya kunskaperna om koncentration- och effektsambandet samt kartläggningen av kinetiken efter intramuskulär injektion av dexametasonisonikotinat stor betydelse för att trygga adekvat användning av dexametason till tävlingshästar. Det säkerställer ett gott djurskydd och att sporten genomförs på lika villkor. Den utarbetade farmakokinetik/farmakodynamikmodellen för dexametasons hämmande effekt på kortisol kan vara ett användbart verktyg för att optimera protokollet av dexametasonhämningstest för att diagnostisera Cushings sjukdom (*Pituitary Pars Intermedia Dysfunction*).

Ytterligare forskning är angeläget för att:

- undersöka farmakokinetiken och effekten på kliniskt relevanta biomarkörer för andra glukokortikoider som används systemiskt till häst
- i synovia undersöka kinetiken och dynamiken av långtidsverkande glukokortikoidläkemedel som används lokalt mot ledinflammationer

Resultatförmedling till näringen

Carl Ekstrand. 2015 På väg mot säkrare kortisonbehandling av häst? Framtidens djurhälsa och djurvälstånd, SLU, Forskningsnytt. <http://www.slu.se/sv/centrumbildningar-och-projekt/framtidens-djurhalsa-och-djurvalfard/>

Carl Ekstrand har även varit inbjuden och presenterat resultat i samband med möten inom NEMAC (Nordic Equine Medication and Antidoping Committee).

Referenser

Ahlberg, Malin, 2013. *Validering av ELISA för analys av equint IL-1 RA i plasma*. Second cycle, A2E. Uppsala: SLU, Dept. of Biomedical Sciences and Veterinary Public Health.

Bergenwall, Sebastian, 2013. *Dexametasons effekt på IL-10 hos häst*. Second cycle, A2E. Uppsala: SLU, Dept. of Biomedical Sciences and Veterinary Public Health.

- Burton A.B, Wagner B, Erb H.N, Ainsworth D.M. (2009). Serum interleukin-6 (IL-6) and IL-10 concentrations in normal and septic neonatal foals. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 132: 122–128
- Cunningham, F. E., Rogers, S., Fischer, J. H. & Jensen, R. C. (1996). The pharmacokinetics of dexamethasone in the Thoroughbred racehorse. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 19(1): 68-71.
- Lavoie-Lamoureux A, Leclere M, Lemos K, Wagner B, and Lavoie J-P. (2012). Markers of Systemic Inflammation in Horses with Heaves. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 26:1419–1426
- Grady, J. A., Davis, E. G., KuKanich, B. & Sherck, A. B. (2010). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of dexamethasone after oral administration in apparently healthy horses. *American Journal of Veterinary Research* 71(7): 831-839.
- Soma, L. R., Uboh, C. E., Luo, Y., Guan, F., Moate, P. J. & Boston, R. C. (2005). Pharmacokinetics of dexamethasone with pharmacokinetic/pharmacodynamic model of the effect of dexamethasone on endogenous hydrocortisone and cortisol in the horse. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 28(1): 71-80.
- Soma, L. R., Uboh, C. E., Liu, Y., Li, X., Robinson, M. A., Boston, R. C. & Colahan, P. T. (2013). Pharmacokinetics of dexamethasone following intra-articular, intravenous, intramuscular, and oral administration in horses and its effects on endogenous hydrocortisone. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 36(2): 181-191.
- Toutain PL, Brandon RA, de Pomyers H, et al. Dexamethasone and prednisolone in the horse: pharmacokinetics and action on the adrenal gland. *Am J Vet Res* 1984;45:1750–1756.