

**SUUN KAUTTA ANNETTAVAN JA INHALOITAVIEN
KORTIKOSTEROIDIEN VAIKUTUS VEREN
KORTISOLITASOON TERVEELLÄ KOIRALLA**

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma

Noora Salin

Helsingin yliopisto

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto

Sisätaudit

2013

Tiedekunta - Fakultet – Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto - Avdelning – Department Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto	
Tekijä - Författare – Author Noora Salin			
Työn nimi - Arbetets titel – Title Suun kautta annettavan ja inhaloitavien kortikosteroidien vaikutus veren kortisolitasoon terveellä koiralla			
Oppiaine - Läroämne – Subject Sisätaudit			
Työn laji - Arbetets art – Level Lisensiaatin tutkielma	Aika - Datum – Month and year 05/2013	Sivumäärä - Sidoantal – Number of pages 31	
Tiivistelmä - Referat – Abstract			
<p>Krooniset hengitysteiden sairaudet kuten krooninen keuhkoputkentulehdus ovat yleisiä koirilla. Perinteisesti osana niiden hoitoa on käytetty suun kautta annettavia kortikosteroideja lievittämään tulehdusoireita. Kortikosteroidien pitkäaikaiseen käyttöön liittyy useita haittavaikutuksia, joista merkittävin on elimistön oman kortisolituotannon heikentyminen. Tällä on merkitystä erityisesti kortikosteroidihoidon lopettamisen yhteydessä, jolloin riskinä on elimistön huomattava kortisolivajaus vakavin seurauksin.</p> <p>Kortikosteroidihoidon aiheuttamien haittavaikutusten vähentämiseksi on alettu kehittää inhalaationa annettavia kortikosteroideja myös eläinten käyttöön. Inhalaatioissa lääkeaine saadaan suoraan kohdekudokseen, jolloin tarvittava lääkeainemäärä on pienempi kuin suun kautta lääkittäessä ja näin ollen myös haittavaikutusten määrä vähäisempi. Ihmisten astman ja muiden kroonisten hengitystiesairauksien hoidossa inhaloitavat kortikosteroidit ovat olleet jo pitkään yleisin hoitomuoto. Koirilla inhalaation käytöstä ja vaikutuksista on kuitenkin hyvin vähän julkaistua tietoa. Jotta inhalaatio-hoitoa voitaisiin kehittää edelleen, tarvittaisiin aiheesta lisää tutkimuksia.</p> <p>Tämän tutkielman tavoitteena oli vertailla suun kautta annettavan prednisolonin sekä inhaloitavien budesonidin ja flutikasonipropionaatin vaikutusta veren kortisolitasoon terveellä koiralla. Tutkimuksen hypoteesina oli, että inhaloitavat kortikosteroidit heikentävät vähemmän elimistön omaa kortisolituotantoa kuin suun kautta annettava prednisoloni. Tutkimuksessa käytettiin kuutta beagle-rotuista koekoira, jotka jaettiin satunnaisesti neljään ryhmään (n=6 koira/ryhmä): (1) prednisoloni suun kautta 1 mg/kg 24 tunnin välein, (2) inhaloitava budesonidi 200 µg 12 tunnin välein, (3) inhaloitava flutikasonipropionaatti 250 µg 12 tunnin välein sekä (4) plasebo-inhalaatio huoneilmalla 12 tunnin välein. Hoitoa annettiin kussakin ryhmässä 4 viikon ajan ja jokaista lääkitysjaksoa seurasi 4 viikon puhdistusjakso. Koirien lisämunaisten kortisolituotantoa hoitajaksojen aikana tutkittiin ACTH-stimulaatiotestillä, joka tehtiin hoitajakson päivinä 0, 28 ja 35.</p> <p>Neljän viikon lääkitysjakson jälkeen prednisoloni oli laskenut veren kortisolin perustasoa merkittävästi verrattuna plaseboon (P = 0.016) tai budesonidiin (P = 0.029). Lisäksi ACTH-stimuloitu veren kortisolihuipputaso oli merkittävästi alhaisempi sekä prednisoloni- että flutikasonipropionaatti -ryhmissä verrattuna plasebo- ja budesonidi -ryhmiin (P < 0.001 kaikissa tapauksissa). Tulosten perusteella suun kautta annettava prednisoloni ja inhaloitava flutikasonipropionaatti lamasivat koirien omaa kortisolituotantoa merkittävästi, kun taas budesonidi ei saanut aikaan elimistön oman kortisolituotannon huomattavaa heikentymistä. Saamamme tulokset olivat siis hypoteesin mukaisia budesonidin osalta ja antavat selkeitä viitteitä siitä, että inhaloitava budesonidi olisi turvallisempi vaihtoehto koirien kroonisten hengitystiesairauksien hoidossa kuin suun kautta annettava prednisoloni. Väitettä tukee myös ihmislääketieteessä saadut hoitotulokset sekä eläinlääketieteessä tehtyjen hoitokokeiden tulokset. Lisää tutkimusta tarvitaan vielä selvittämään inhaloitavien kortikosteroidien muita haittavaikutuksia sekä niiden kliinistä käyttöä koirien hengitystiesairauksien hoidossa.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords kortikosteroidit, inhalaatio, koira, budesonidi, flutikasonipropionaatti, prednisoloni			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Viikin kampuskirjasto			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) – Instruktor och ledare – Director and Supervisor(s) Professori Thomas Spillmann Minna Rajamäki, Marika Melamies			

SISÄLLYSLUETTELO

1 KIRJALLISUUSKATSAUS	4
1.1 Johdanto.....	4
1.2 Kortikosteroidien synteesi ja erittyminen.....	5
1.3 Kortikosteroidien vaikutukset elimistössä.....	6
1.4 Kortikosteroidien lääkinällinen käyttö.....	8
1.5. Kortikosteroidien haittavaikutukset	8
1.6 Inhaloitavat kortikosteroidit	10
1.7 Inhaloitavien kortikosteroidien käyttö koirilla	13
2 AINEISTO JA MENETELMÄT	14
2.1 Työn tausta ja tarkoitus.....	14
2.2 Eläimet.....	15
2.3 Tutkimuksen suoritus.....	15
3 TULOKSET	17
4 POHDINTA	21
5 KIRJALLISUUSLUETTELO	27

1 KIRJALLISUUSKATSAUS

1.1 Johdanto

Krooniset hengitysteiden sairaudet kuten krooninen keuhkoputkentulehdus, henkitorven kollapsi ja keuhkoeosinofilia ovat yleisiä koirilla. Perinteisesti kroonisten hengitystieinfektioiden hoidossa on käytetty yhtenä osana suun kautta annettavia kortikosteroideja. (Hawkins 2003a,b) Pitkäaikaisesti käytettynä kortikosteroidien on kuitenkin havaittu aiheuttavan elimistön oman kortikosteroidituotannon heikentymistä sekä useita muita systeemisiä, eli koko elimistöä koskevia, haittavaikutuksia, kuten lisääntynyttä juomista, virtsaamista ja ruokahalua sekä lihaskatoa ja ihomuutoksia (Huang ym. 1999).

Inhalaationa annettavia kortikosteroideja on kehitetty alun perin ihmisten hengitystiesairauksien hoitoon, jotta saataisiin vähennettyä systeemisten kortikosteroidien tarvetta ja samalla niiden aiheuttamia haittavaikutuksia (Barnes ym. 1998). Inhalaatiossa lääkeaine saadaan suoraan kohdekudokseen, jolloin tarvittava lääkeannos on pienempi kuin suun kautta lääkittäessä. Samalla systeemiseen verenkiertoon päätyvä kortikosteroidimäärä tulee pienemmäksi ja sen aikaansaamat ei-toivotut systeemiset haittavaikutukset jäävät vähäisemmiksi. (Rohatagi ym. 1999) Ihmisillä inhaloitavien kortikosteroidien käyttö on jo suurelta osin korvannut suun kautta annettavat kortikosteroidit astman ja muiden kroonisten hengitystiesairauksien hoidossa (Barnes ym. 1998), ja on nykyään yleistymässä pieneläimillä ja hevosilla (Padrid 2000, Giguere ym. 2002, Kirschvink ym. 2006). Inhaloitavien kortikosteroidien vaikutusta koirilla on tutkittu hyvin vähän, ainoa julkaisu on kontrolloimattomasta tapausarjasta (Bexfield ym. 2006).

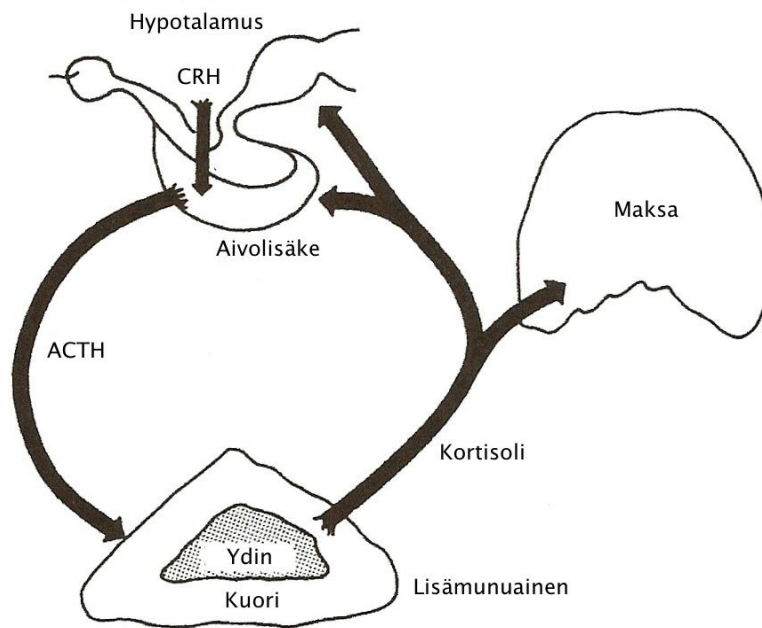
Tämän tutkimuksen tavoitteena on vertailla suun kautta annettavan prednisolonin sekä inhaloitavien budesonidin ja flutikasonipropionaatin vaikutusta veren kortisolitasoon terveellä koirilla. Vertailussa on mukana myös plaseboryhmä. Tutkimuksen hypoteesina on, että inhaloitavat kortikosteroidit heikentävät vähemmän elimistön omaa

kortisolituotantoa ja laskevat vähemmän veren kortisolitasoa kuin suun kautta annettava prednisoloni.

1.2 Kortikosteroidien synteesi ja erittyminen

Kortikosteroidit ovat lisämunuaiskuoren tuottamia steroidihormoneja ja ne vaikuttavat nisäkkäillä lähes jokaisen solun toimintaan (Sjaastad ym. 2003). Kortikosteroidit syntetisoidaan kolesterolista ja ne jaotellaan glukokortikoideihin, mineralokortikoideihin ja lisämunuaisperäisiin sukupuolihormoneihin. Näistä ehdottomasti tärkein ryhmä on glukokortikoidit, sillä yli 95 % lisämunuaiskuoren erittämistä kortikosteroideista on glukokortikoideja. Se on myös hoidossa tärkein ryhmä, sillä lääkinnallisesti käytettävät kortikosteroidit ovat lähes yksinomaan glukokortikoideja. (McDonald & Langston 1995) Glukokortikoideja ovat kortisoli, kortikosteroni ja deoksikortisoli, joista tärkein on kortisoli, sillä se vastaa lähes kaikista glukokortikoidien fysiologisista vaikutuksista (Chastain 1989).

Glukokortikoidien synteesiä ja erittymistä lisämunuaiskuoresta stimuloi aivolisäkkeen etulohkosta vapautuva kortikotropiini eli adrenokortikotrooppinen hormoni (ACTH). ACTH:n vapautumista puolestaan säätelee väliaivojen pohjassa sijaitsevasta hypotalamuksesta erittyvä kortikotropiinin vapauttajahormoni (CRH). CRH:n erittymistä taas stimuloi plasman alhainen kortisolitaso. Plasman kohonnut kortikosteroiditaso, erityisesti kortisoli, puolestaan estää ACTH:n erittymistä suoraan sekä epäsuorasti estämällä CRH:n tuotantoa. Tätä järjestelmää kutsutaan hypotalamus-aivolisäke-lisämunuaiskuori-akseliksi (Kuva 1). Myös stressi voi vaikuttaa ACTH:n vapautumiseen aivolisäkkeestä lisäämällä CRH:n erittymistä ja sitä kautta nostaa veren kortikosteroiditasoa. (McDonald & Langston 1995) Tämä auttaa elimistöä pitämään yllä sisäistä tasapainoaan, eli homeostaasia, stressin aikana. Homeostaasin ylläpito onkin endogeenisten eli elimistössä luonnostaan muodostuvien kortikosteroidien tärkein tehtävä. (Sousa 2009)



Kuva 1. Normaali hypotalamus-aivolisäke-lisämunuaiskuori-akseli eli HPA-akseli (Chastain 1989).

ACTH:lla ei ole yhtä suurta vaikutusta mineralokortikoidien synteisiin, vaan sitä säätelee pääasiassa reniini-angiotensiinijärjestelmä ja veren kaliumtaso. Lisämunuaisperäisten sukupuolihormonien säätelymekanismi ei ole vielä täysin tunnettu. (Gupta ym. 2008)

1.3 Kortikosteroidien vaikutukset elimistössä

Kortikosteroideilla on elimistön homeostaasin ylläpitoon liittyen lukuisia tehtäviä ja vaikutuksia elimistössä, kuten hiilihydraatti-, proteiini- ja rasvametabolian säätely (Sousa 2009). Korkea veren kortikosteroiditaso lisää plasman glukoosipitoisuutta stimuloimalla glukoosin uudismuodostusta maksassa esimerkiksi aminohapoista. Samalla kun veren glukoosipitoisuus nousee, lisääntyy vastaavasti insuliinin erityminen. Kortikosteroidit edistävät myös varastohiilihydraatti glykokeenin synteesiä maksassa.

Elimistössä ollessa kortikosteroidivajausta, voivat maksan glykogeenivarastot ehtyä ja seurauksena olla hypoglykemia eli verensokeritason lasku. (McDonald & Langston 1995) Korkea kortikosteroiditaso lisää plasman rasva- ja aminohappopitoisuutta stimuloimalla rasvojen ja proteiinien hajotusta. Rasvan hajottamista ei kuitenkaan tapahdu kaikkialla rasvakudoksessa vaan tietyissä kohdissa kehoa, erityisesti sen ääriosissa. Vatsan alueella rasvakudosta taas päinvastoin muodostetaan, jolloin kortikosteroidien vaikutuksesta rasvakudos ikään kuin uudelleen jakautuu kehon ääriosista keskivartaloon. (Chastain 1989, Sjaastad ym. 2003)

Kortikosteroidit vaikuttavat kasvuun ja kehitykseen negatiivisesti hajottamalla proteiineja, mutta myös estämällä DNA-synteesiä ja kasvuhormonin eritystä (McDonald & Langston 1995, Sjaastad ym. 2003). Seurauksena ovat muun muassa kasvun hidastuminen, lihasmassan vähentyminen, ihon oheneminen sekä osteoporoosi eli luukato (Gupta ym. 2008). Vaikutukset ilmenevät kuitenkin vasta silloin, kun kortikosteroidien pitoisuus plasmassa on ollut koholla pitkään (Sjaastad ym. 2003). Osteoporoosin kehittymiseen vaikuttaa myös kortikosteroidien aiheuttama elimistön negatiivinen kalsiumtasapaino, sillä kortikosteroidit estävät D-vitamiinin aktivoitumisen, vähentävät kalsiumin imeytymistä suolistosta sekä lisäävät sen eritystä virtsaan ja ulosteisiin (Chastain 1989, Gupta ym. 2008). Hypokalsemiaa ei kuitenkaan kehity jos lisäkilpirauhaset toimivat normaalisti (Chastain 1989). Kortikosteroidit vaikuttavat kalsiumin lisäksi muidenkin elektrolyyttien eritykseen, sillä yksi kortikosteroidien tehtävistä on pitää yllä kehon elektrolyyttitasapainoa. Kortikosteroidit säätelevät myös kehon nestetasapainoa estämällä veden siirtymistä solujen sisälle sekä lisäämällä virtsaneritystä. (Chastain 1989, Gupta ym. 2008)

Kortikosteroideilla on korkeilla pitoisuuksilla tulehdusta ehkäiseviä ja immuunivastetta heikentäviä vaikutuksia. Ne vähentävät kudosauriassa vapautuvien ja aktivoituvien tulehdusvälittäjäaineiden, kuten prostaglandiinien ja sytokiinien, synteesiä, tulehdussolujen kulkeutumista vaurioalueelle sekä verisuonten läpäisevyyttä. Myös lymfosyyttien määrä verenkierrossa laskee ja vasta-aineiden tuotanto vähenee. Kortikosteroidien tulehdusta ehkäisevillä toimilla on tärkeä merkitys stressin aikana, jolloin ne suojelevat elimistöä kudosaurioilta, jotka sen omat puolustusmekanismit voisivat saada aikaiseksi. Tämän vuoksi kortisolin sanotaankin olevan elimistön yksi tärkeimmistä stressihormoneista ja sen pitoisuus plasmassa nousee voimakkaasti

stressin aikana. Lisäksi kortikosteroidit osallistuvat verenpaineen ylläpitoon tehostamalla verisuonia supistavien aineiden, kuten noradrenaliinin, vaikutuksia. (Sjaastad ym. 2003, Gupta ym. 2008)

1.4 Kortikosteroidien lääkinällinen käyttö

Kortikosteroidien lääkinällinen käyttö alkoi vuonna 1949, jolloin kortisonia käytettiin onnistuneesti ihmisillä nivelreuman hoitoon (Chastain 1989). Nykyään kortikosteroidit ovat eläimillä yksi yleisimmin käytetyistä lääkeaineryhmistä (Sousa 2009). Kortikosteroidien käytölle on yleisesti ottaen viisi perusindikaatiota: (1) elimistön vähentynyt kortikosteroidien tuotanto, (2) akuutin ja kroonisen tulehduksen ehkäisy, (3) immuunivasteen heikentäminen, (4) kasvaimen kemoterapeuttinen hoito sekä (5) shokin tai trauman hoito (McDonald & Langston 1995). Kortikosteroidien käytön hyödyllisyydestä osana shokin hoitoa ei kuitenkaan ole yksimielisyyttä ja asia onkin ollut pitkään tutkimuksen kohteena (Lefering & Neugebauer 1995).

Eläinlääketieteessä yleisin syy kortikosteroidien käytölle on niiden tulehdusta ehkäisevät ja immuunipuolustusjärjestelmään vaikuttavat ominaisuudet (McDonald & Langston 1995). Kortikosteroideja käytetään muun muassa monien kroonisten tulehdusten hoidossa. Koirillakin yleisesti esiintyvissä ei-tarttuvissa hengitysteiden tulehduksissa suun kautta annettavien kortikosteroidien on aikoinaan todettu olevan tehokkain hoitomuoto (Szelfler 1991, Kuehn 2004, Mason & Johnson 2004). Suun kautta annettaessa kortikosteroidiannoksen on kuitenkin oltava verrattain suuri, jotta lääkeaineen pitoisuus keuhkoissa saataisiin riittävän suureksi. Samalla myös systeemiseen verenkiertoon imeytyvä lääkeainemäärä tulee olemaan suuri, mistä voi olla seurauksena merkittäviä haittavaikutuksia. Ei-toivotut systeemiset haittavaikutukset voivat joskus olla jopa niinkin vakavia, että hoito joudutaan keskeyttämään kokonaan. (Barnes ym. 1998, Padrid 2006)

1.5. Kortikosteroidien haittavaikutukset

Pitkäaikaisessa kortikosteroidihoidossa ilmenevät haittavaikutukset ovat paljolti samoja kuin oireet luonnollisesti ilmenevässä lisämunuaiskuoren liikatoiminnassa (Cushingin

oireyhtymä). Tyypillisimpiä yleistutkimuksessa tehtäviä löydöksiä koirilla ovat paikallinen tai yleistynyt karvapeitteen oheneminen tai karvattomuus, ihotulehdukset, lisääntynyt virtsaaminen, juominen ja ruokahalu, uneliaisuus, suurentunut maksa, riippuva vatsa, lihavuus sekä raajojen lihaskato (Huang ym. 1999, Sousa 2009). Laboratoriotestien yleisimpiä löydöksiä ovat imusolujen eli lymfosyyttien ja eosinofiilien niukkuus sekä kohonneet alkalisen fosfataasin (AFOS), alaniiniaminotransferaasin (ALAT) ja aspartaattitransferaasin (ASAT) arvot, sekä veren korkea kolesteroli-, glukoosi- ja triglyseridipitoisuus (Huang ym. 1999, Nelson 2003).

Merkittävin kortikosteroidien aiheuttama haittavaikutus on pitkäaikaisesta käytöstä aiheutuva elimistön oman kortisolituotannon lamaantuminen. Ulkopuolelta elimistöön tulevat kortikosteroidit estävät ACTH-hormonin vapautumisen aivolisäkkeestä, jolloin lisämunuaiskuori ei saa tarvittavaa ärsykettä kortisolin tuotantoon. Kortikosteroidihoidon lopettamisen jälkeen elimistön oman kortisolituotannon palautuminen normaaliksi vie aikaa. Palautumisaika on sitä pidempi mitä suurempaa annosta on käytetty ja mitä pidempi hoitajakso on ollut. Lopetettaessa kortikosteroidien käyttö, tulee hoitajakson lopulla kortikosteroidiannosta alkaa laskea asteittain siten, ettei elimistöön tule huomattavaa kortisolivajausta. Kortisoli on vastuussa muun muassa verenpaineen sekä energiatasapainon ylläpidosta fyysisen stressin aikana (kuten kuumesairaus, fyysinen vamma, leikkaus). Näin ollen elimistön kohdatessa jonkin stressitekijän kortisolivajauksen aikana, voi seurauksena olla vakava verenpaineen ja/tai verensokerin lasku, joka edelleen voi johtaa kohtaukseen, verenkiertokollapsiin tai jopa koomaan. Kortisolivajauksen oireita on esitetty taulukossa 1. Kortisolivajauksen oireet eivät ilmene ennen kortikosteroidilääkityksen lopettamista ja ne voivat olla joskus vaikea huomata. Äkillisen stressin yllättäessä oireet taas ilmenevät nopeasti. Tämän vuoksi kortikosteroidiannoksen asteittainen lasku hoidon jälkeen on ensiarvoisen tärkeää, jotta elimistön oma kortisolituotanto pääsee palautumaan normaaliksi eikä äkillistä kortisolivajausta synny. (Chastain 1989, Sousa 2009)

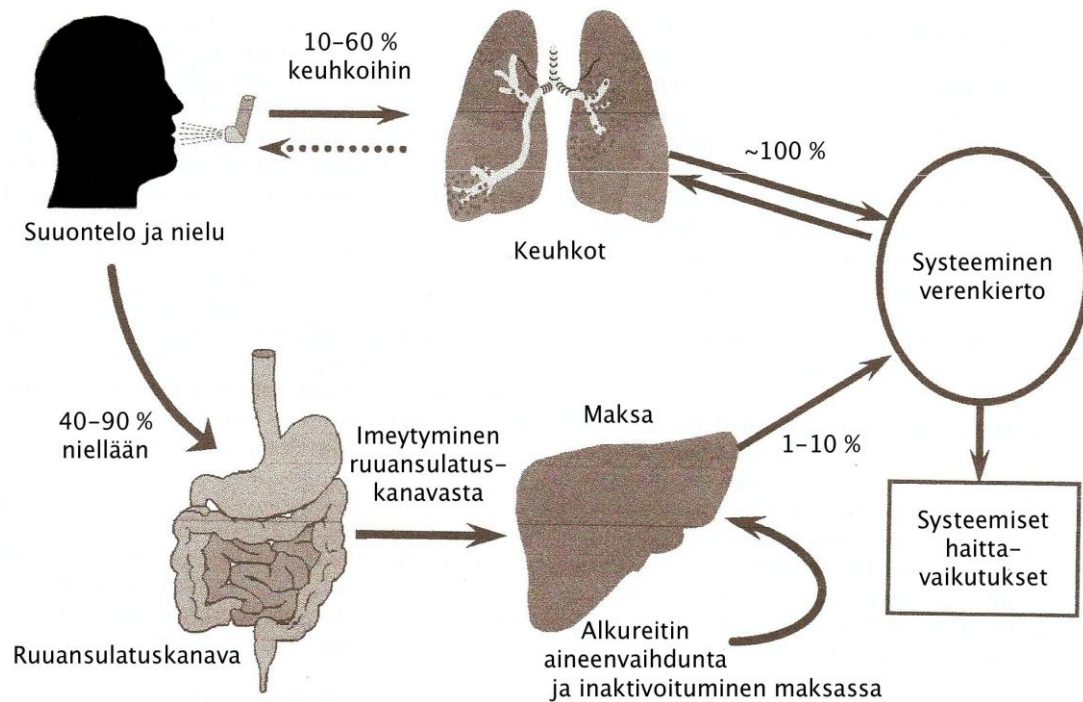
Taulukko 1. Kortisolivajauksen oireita.

Väsymys
Heikkous
Pahoinvointi
Ruokahaluttomuus
Oksentelu
Ripuli
Painon lasku
Matala verenpaine
Matala verensokeri
Kohtaukset
Verenkierron kollapsi
Kooma

1.6 Inhaloitavat kortikosteroidit

Inhaloitavia kortikosteroideja ryhdyttiin kehittämään hengitystiesairauksien hoitoon ihmiselle tavoitteena saada vähennettyä systeemisten kortikosteroidien tarvetta ja samalla niiden aiheuttamia systeemisiä haittavaikutuksia (Barnes ym. 1998). Inhalaatiossa lääkeaine saadaan suoraan kohdekudokseen, eli hengitysteihin, jolloin niitä käytettäessä myös tarvittava lääkeannos on pienempi kuin suun kautta annettaessa. Ihmisille tehdyissä tutkimuksissa on havaittu, että lääkeaineesta ja lääkkeenantolaitteesta eli inhalaattorista riippuen 10-60 % inhaloitavasta kortikosteroidimäärästä kulkeutuu keuhkoihin ja muu osa (40-90 %) päätyy suuontelosta nieltynä ruuansulatuskanavaan. Ruuansulatuskanavasta lääkeaineet imeytyvät ja kulkeutuvat edelleen alkureitin aineenvaihdunnan jälkeen systeemiseen verenkiertoon (Kuva 2). Alkureitin aineenvaihdunnassa lääkeaineesta riippuen jopa 90-99 % siitä inaktivoituu maksassa ja systeemiseen verenkiertoon päätyy vain pieni määrä lääkeainetta. Koska inhaloitavalta lääkkeeltä ei toivota terapeutista tehoa systeemisen imeytyvyyden ja verenkierron kautta, ruuansulatuskanavaan päätyvän lääkeaineen systeeminen vaikutus on pyrittykin saamaan mahdollisimman alhaiseksi ja inaktivoituminen maksassa mahdollisimman suureksi. Tutkimusten mukaan kuitenkin

myös hengitysteihin päätyvästä kortikosteroidimäärästä lähes kaikki imeytyy lopulta systeemiseen verenkiertoon ja tämä lääkeainemäärä aiheuttaakin pääosan inhaloitavien kortikosteroidien systeemisistä haittavaikutuksista. (Lipworth 1996, Rohatagi ym. 1999, Martin ym. 2002)



Kuva 2. Inhaloitavan kortikosteroidiannoksen kulkeutuminen elimistössä (mukailtu Ahmet ym 2011).

Inhalaatiossa keuhkoihin päätyvään lääkeainemäärään vaikuttavat useat tekijät kuten inhalaattori, lääkeaineen partikkelikoko, inhalaatiotekniikka sekä inhaloitavan kortikosteroidin fyysiset ominaisuudet. Inhaloitavan kortikosteroidin partikkelikoko vaikuttaa suoraan lääkeainemäärään, joka kulkeutuu alempiin hengitysteihin. Pienet partikkelit pääsevät kulkemaan keuhkoputkiin, kun taas suuremmat partikkelit jäävät suuonteloon ja nieluun, josta ne päätyvät nieltynä ruuansulatuskanavaan. Inhalaation

jälkeen systeemiseen verenkiertoon päätyneestä kortikosteroidista osa sitoutuu plasman proteiineihin. Proteiineihin sitoutuminen tekee lääkeaineesta farmakologisesti inaktiivisen. Näin ollen mitä suuremmassa määrin lääkeaine sitoutuu proteiineihin, sitä vähemmän se kykenee aiheuttamaan systeemisiä haittavaikutuksia. (Derendorf ym. 2006, Ahmet ym. 2011) Muun muassa flutikasonipropionaatilla ja budesonidilla on todettu proteiineihin sitoutuvan lääkeaineen osuuden ja elimistön oman kortisolituotannon lamaan tumisen välillä olevan juuri tällainen käänteinen korrelaatio (Derendorf & Hochhaus 2006).

Systeemiseen verenkiertoon päätyvät kortikosteroidit metaboloidaan pääasiassa maksassa. Kortikosteroidien kokonaispuhdistuma eli teoreettinen plasmatilavuus, jonka elimistö puhdistaa kokonaan lääkeaineesta aikayksikössä vastaa näin ollen maksan verenkierron nopeutta. Puoliintumisaika taas kertoo siitä, millä aikavälillä plasman lääkeainepitoisuus alenee puoleen. Mitä lyhyempi puoliintumisaika ja tehokkaampi kokonaispuhdistuma kortikosteroidilla on sitä lyhyemmän ajan elimistö altistuu lääkeaineelle. Tämä vaikuttaa osaltaan systeemisten haittavaikutusten määrään. (Derendorf ym. 2006, Ahmet ym. 2011)

Nykyisin inhaloitavat kortikosteroidit ovat jo vakiintunut hoitomuoto ihmisten jatkuvan ja pitkäaikaisen astman sekä kroonisen keuhkoputkentulehduksen hoidossa (Barnes ym. 1998). Inhaloitavien kortikosteroidien systeemisistä haittavaikutuksista tehdyn meta-analyysin mukaan näyttäisi, että vertailukelpoisia annoksia käytettäessä kaikki inhaloitavat kortikosteroidit aiheuttavat vähemmän haittavaikutuksia kuin suun kautta annettavat kortikostreoidit. Toisaalta eri inhaloitavien kortikosteroidienkin välillä on havaittu olevan eroja haittavaikutusten suuruudessa. (Lipworth 1999) Esimerkiksi inhaloitavien flutikasonipropionaatin ja budesonidin on todettu ihmisillä lamaavan elimistön omaa kortisolituotantoa merkittävästi vähemmän kuin suun kautta annettavan prednisolonin, mutta vertailtaessa flutikasonipropionaattia ja budesonidia keskenään, on flutikasonipropionaatin havaittu lamaavan elimistön omaa kortisolituotantoa selvästi enemmän kuin budesonidin. Eri kortikosteroidien välisiin eroihin vaikuttavat muun muassa niiden erilaiset farmakologiset ominaisuudet. (Jennings ym. 1991, Clark ym. 1996, Clark & Lipworth 1997, Sorkness ym. 1999)

1.7 Inhaloitavien kortikosteroidien käyttö koirilla

Inhaloitavien kortikosteroidien käyttö on yleistymässä myös eläinten hengitystiesairauksien, kuten kissojen astman, koirien kroonisen keuhkoputkentulehduksen ja hevosten puhkurin, hoidossa (Padrid 2000, Giguere ym. 2002, Bexfield 2006, Kirschvink ym. 2006). Inhaloitavien kortikosteroidien käytöstä ja vaikutuksista koirilla on kuitenkin vain vähän julkaistua tietoa. Bexfield ym. (2006) tekemässä retrospektiivisessä tutkimuksessa todettiin inhaloitavien kortikosteroidien tehonneen koirien kroonisen keuhkoputkentulehduksen ja keuhkoeosinofilian oireisiin ja vähentäneen eläinten omistajien havaitsemia haittavaikutuksia verrattuna suun kautta annettaviin kortikosteroideihin. Tutkimuksessa koirilla, joiden hengitystiesairautta hoidettiin ainoastaan inhaloitavilla kortikosteroideilla, todettiin omistajien suorittaman arvion perusteella parannusta kliinisissä oireissa, eikä selviä haittavaikutuksia havaittu. Osalla näistä koirista oli aikaisemmin ollut käytössä suun kautta annettava tai parenteraalinen, eli muuta tietä kuin ruuansulatuskanavan kautta (esim. injektiona) annettava kortikosteroidilääkitys. Osalla tutkimuksessa mukana olleista koirista inhaloitavia kortikosteroideja käytettiin yhdessä suun kautta annettavien kortikosteroidien kanssa. Näillä koirilla omistajien havaitsevat haittavaikutukset, kuten lisääntynyt juominen ja virtsaaminen sekä lihasheikkous vähenivät verrattuna aikaisempaan, jolloin kortikosteroideja annettiin vain suun kautta tai parenteraalisesti. Myös omistajien havaitsemissa kliinisissä oireissa, kuten yskä ja heikentynyt rasituksensietokyky, todettiin parannusta yhdistelmähoidolla verrattuna pelkästään suun kautta annettavaan tai parenteraaliseen hoitoon. Tutkimus on ainoa inhaloitavien kortikosteroidien kliinistä käyttöä koirilla koskeva julkaistu tutkimus. Tutkimuksessa kuitenkin sekä hoitovasteen että haittavaikutusten arvioinnin suorittivat koirien omistajat ja tällaisella subjektiivisella arvioinnilla voi olla huomattavia plasebovaikutuksia. Tutkimuksessa ei myöskään vertailtu kortikosteroidilääkitysten vaikutuksia elimistön omaan kortisolituotantoon tai selvitetty laboratoriotutkimuksilla lääkitysten mahdollisesti aiheuttamia muutoksia verenkuvaan, elinarvoihin ja virtsanäytteiden tuloksiin.

Terveillä koirilla inhaloidun flutikasonipropionaatin on todettu lamaavan elimistön omaa kortikosteroidituotantoa vähemmän kuin suun kautta annetun prednisonin ja voivan mahdollisesti vähentää suun kautta annettavaan kortikosteroidihoitoon liittyviä

systemivaikutuksia (Cohn ym. 2008). Inhaloitavan budesonidin käytöstä koirilla ja sen vaikutuksista elimistön omaan kortisolituotantoon ei löydy julkaistua tietoa. Suun kautta annettuna budesonidin on kuitenkin havaittu heikentävän merkittävästi elimistön omaa kortisolituotantoa hoidettaessa sillä koiran tulehduksellista suolistosairautta 30 vuorokauden ajan (Tumulty ym. 2004).

Julkaistujen tutkimustulosten vähäisyyden lisäksi inhaloitavien kortikosteroidien kliinistä käyttöä koirilla rajoittaa myös lääkeaineen annostelun haastavuus. Koska koira on ehkä mahdotonta kouluttaa käyttämään ihmisille suunniteltuja inhalaattoreita, annostellaan koirilla lääkkeet varta vasten inhalaatiotarkoitukseen suunniteltujen inhalaatiokammion ja inhalaatiomaskin avulla. Maski kiinnitetään inhalaatiokammion toiseen päähän ja toiseen päähän tulee lääkeampulli. Maski asetetaan tiiviisti koiran kuonon ympärille ja lääkeaine annostellaan ampullista inhalaatiokammioon, josta koira hengittää lääkeaineen nenän kautta. Maskin pitäminen tarpeeksi tiiviisti koiran kuonon ympärillä vaatii kuitenkin harjoittelua ja tottumista sekä eläimen että omistajan taholta, jotta lääkeainetta päätyisi keuhkoihin riittävä määrä. Bexfield ym. (2006) tutkimuksessa koira oppi sietämään inhalaatiohoitoa hyvin 1-2 viikon päivittäisellä harjoittelulla.

2 AINEISTO JA MENETELMÄT

2.1 Työn tausta ja tarkoitus

Tässä tutkimuksessa pyrittiin vertailemaa suun kautta annettavan prednisolonin sekä inhaloitavien budesonidin ja flutikasonipropionaatin vaikutusta veren kortisolitasoon terveellä koiralla. Tutkimus on plasebokontrolloitu. Kontrolliryhmä hengitti huoneilmaa inhalaatiokammion ja -maskin läpi. Tutkimuksen olettamuksena oli, että inhaloitavat kortikosteroidit heikentävät vähemmän elimistön kortisolituotantoa ja laskevat veren kortisolitasoa kuin suun kautta annettava prednisoloni. Lisensiaatin tutkielma on osa ELL Marika Melamiehen väitöskirjatyötä, jossa tutkitaan laajemmin suun kautta annettavan ja inhaloitavien kortikosteroidien systemivaikutuksia terveellä koiralla.

Veren kortisolitason lisäksi väitöskirjatyössä tukittiin kortikosteroidilääkitysten vaikutuksia koirien verenkuvaan, elinarvoihin ja virtsanäytteen tuloksiin.

2.2 Eläimet

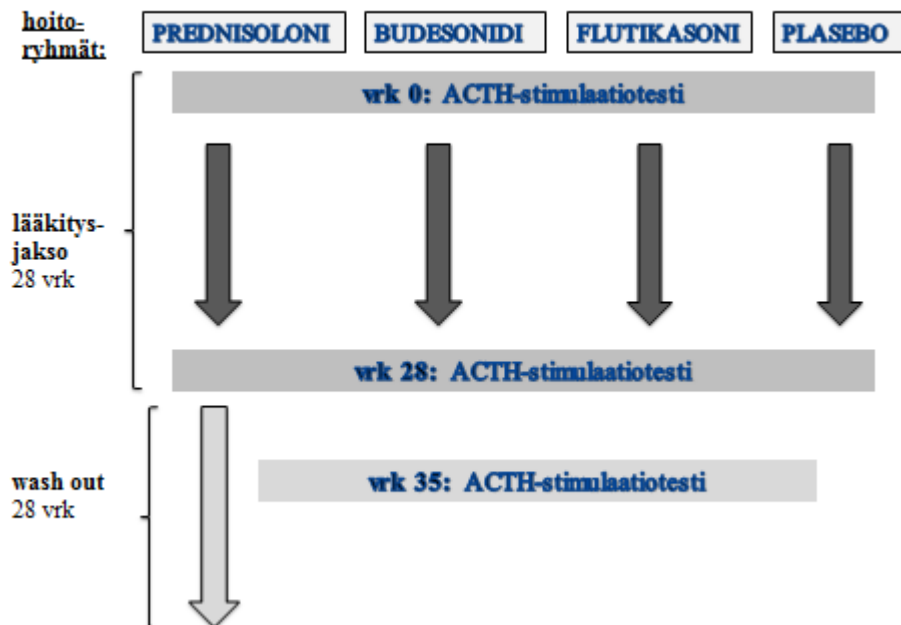
Tutkimuksessa käytettiin kuutta Helsingin yliopiston eläinlääketieteellisen tiedekunnan kliinisen eläinlääketieteen laitoksen tervettä koekoira. Koirat olivat steriloituja narttuja ja rodultaan beagleja. Tutkimuksen alkaessa kaikki koirat olivat iältään 2,5 vuotta ja niiden keskipaino oli 13,5 kg (vaihteluväli 10,9-14,8 kg). Koirien terveys varmistettiin kliinisellä tutkimuksella, johon kuuluivat yleistutkimus, keuhkojen ja sydämen auskultaatio, rintaontelon röntgenkuvaus, EDTA-laskimoverinäyte (josta tutkittiin kokonaisvalkosolunäärä, valkosolujen erittelylaskenta sekä punasolujen tilavuusosuus), seerumiverinäyte (josta tutkittiin alaniiniaminotransferaasi, alkalien fosfataasi, urea, kreatiniini, elektrolyytit, albumiin ja kokonaisproteiinit) sekä valtimoverinäyte (josta tutkittiin happiosapaine, hiilidioksidiosapaine, pH sekä hapen verialveoliero). Lisäksi otettiin virtsanäyte ja ulostenäyte, joka tutkittiin sisäloisten varalta. Koe-eläinlupa tutkimusta varten saatiin koe-eläintoimikunnalta 31.5.2007, muutoslupa I 6.3.2008.

2.3 Tutkimuksen suoritus

Tutkimuksen eteneminen on esitetty kuvassa 3. Koirat jaettiin satunnaisesti neljään ryhmään (n=6 koira/ryhmä). Ryhmät olivat (1) prednisoloni suun kautta (Prednisolon, Leiras) 1 mg/kg 24 tunnin välein, (2) inhaloitava budesonidi (Pulmicort HFA, AstraZeneca) 200 µg 12 tunnin välein, (3) inhaloitava flutikasonipropionaatti (Flixotide Evohaler, GlaxoSmithKline) 250 µg 12 tunnin välein sekä (4) kontrolliryhmä, jossa käytettiin inhalaatiomaskiin (Kruuse) kiinnitettyä inhalaatiokammiota (AeroDawg, Trudell Medical International) ilman lääkettä 12 tunnin välein. Jokainen koira kävi läpi kaikki neljä hoitovaihtoehtoa satunnaisessa järjestyksessä.

Ennen inhaloitavan lääkkeen annostelua lääkeampullia ravistettiin kunnolla ja ampulli kiinnitettiin tiiviisti inhalaatiokammioon, jossa maski oli jo valmiiksi kiinnitettynä. Inhalaatiomaski asetettiin tiiviisti koiran kuonolle siten, että se peitti koiran nenän ja suun. Tämän jälkeen inhalaatiokammioon ruiskutettiin lääkeaine ja maskia pidettiin

tiivisti koiran kuonolla kahdeksan sisäänhengityksen ajan. Kontrolliryhmä hengitti huoneilmaa inhalaatiokammion ja -maskin läpi.



Kuva 3. Tutkimuksen eteneminen hoitojakson aikana.

Hoitoa annettiin kussakin ryhmässä 28 vuorokauden ajan ja jokaista lääkitysjaksoa seurasi 28 vuorokauden puhdistumisjakso (wash out), jonka aikana lääkkeen vaikutusten annettiin poistua ja elimistön palautua kokeen alussa olleelle tasolle. Hoitojakson päivinä 0, 28 ja 35 koirille tehtiin ACTH-stimulaatiotesti. Verinäytteet kortisolitason mittausta varten otettiin etujalan ulommasta iholaskimosta (vena cephalica). Näytteenottotilanne ja -ympäristö pyrittiin vakioimaan mahdollisimman tarkasti, jotta vältettäisiin stressin aiheuttama veren kortisolitason nousu. Näytteet otettiin aina samassa tilassa samaan vuorokaudenaikaan ja näytteenoton suorittivat aina samat kaksi henkilöä.

Koirien lisämunaisten toimintaa ja niiden kortisolituotantoa hoitojaksojen aikana tutkittiin ACTH-stimulaatiotestillä. ACTH-stimulaatiotesti tehtiin aina ennen

hoitojakson alkamista, lääkitysjakson viimeisenä päivänä sekä viikko lääkitysten lopettamisen jälkeen. Testissä käytettiin ACTH:n synteettistä analogia (Synachten, Alliance; 5 µg/kg), joka annosteltiin suonensisäisesti ja annosruisku huuhdeltiin vielä 5 ml:lla fysiologista suolaliuosta. Verinäyte kortisolimääritystä varten otettiin ennen ACTH:n antoa, sekä 60 minuuttia ACTH:n annon jälkeen. Seeruminäytteet kortisolimääritystä varten säilytettiin -80 °C lämpötilassa näytteen analysointiin saakka. Kortisolimääritykset suoritti laborantti, joka oli sokkoutettu hoitojen suhteen. Näytteet analysoitiin kaupallisella radioimmunologisella menetelmällä (RIA), joka on validoitu eli käyttökelpoinen koirille (Coat-A-Count Cortisol, Siemens Healthcare Diagnostics).

3 TULOKSET

ACTH-stimulaatiotestin tulokset on esitetty taulukossa 2 sekä kuvissa 4 ja 5. Lääkitysjakson päivänä 0 ei havaittu tilastollisesti merkittävää eroa kortisolin perustasossa tai ACTH-stimuloidussa kortisolin huipputasossa, kun hoitoryhmiä verrattiin plasebo-ryhmään. Tilastollisesti merkittävää eroa veren kortisolitasoissa ei havaittu myöskään plasebo- ja budesonidi -ryhmien välillä 28 vuorokauden lääkitysjakson jälkeen verrattuna päivään 0 ($P > 0.05$ kaikissa tapauksissa).

Lääkitysjakson päivänä 28 prednisoloni oli laskenut selvästi kortisolin perustasoa verrattuna plaseboon ($P = 0.016$) tai budesonidiin ($P = 0.029$) (Kuva 4). Lisäksi ACTH-stimulaatiotestin jälkeinen kortisolin huipputaso oli päivänä 28 merkittävästi alhaisempi sekä prednisoloni- että flutikasonipropionaatti -ryhmissä verrattuna plasebo- ja budesonidi -ryhmiin (Kuva 5; $P < 0.001$ kaikissa tapauksissa).

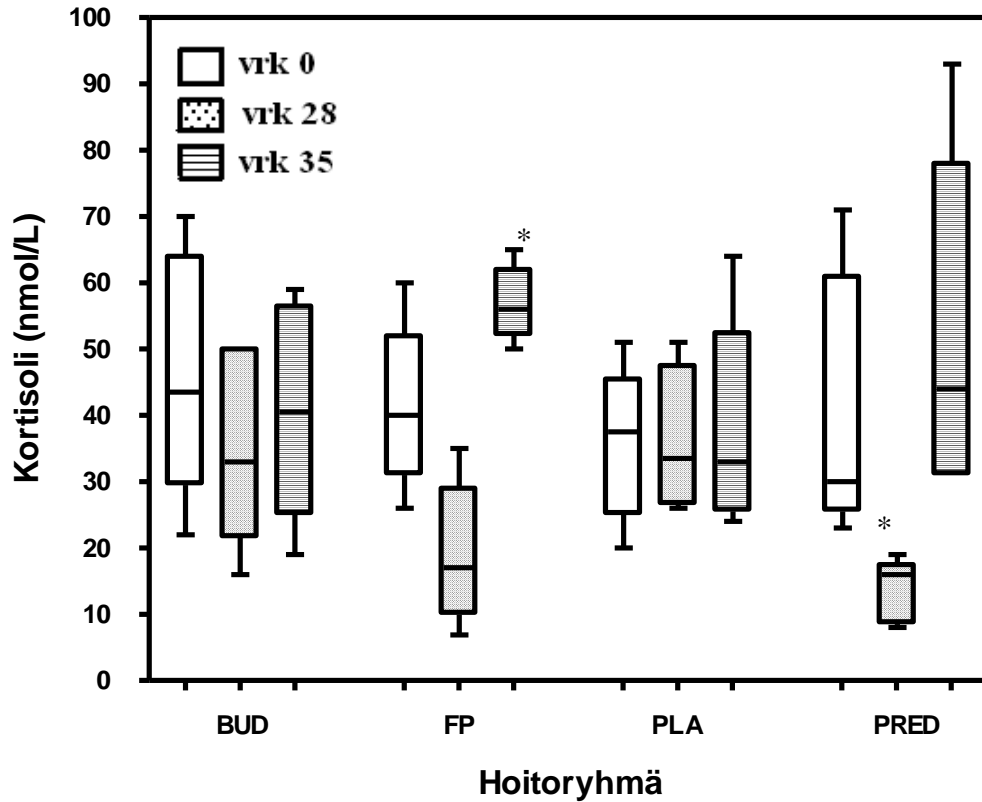
Viikko lääkitysten lopettamisen jälkeen, eli hoitojakson päivänä 35, havaittiin flutikasonipropionaatti-ryhmässä merkittävä nousu kortisolin perustasossa verrattuna päivään 28 ($P < 0.001$). Kortisolitaso oli jopa korkeampi kuin plasebo-ryhmässä (Kuva 4; $P = 0.035$). Merkittävää eroa ei kuitenkaan havaittu verrattaessa flutikasonipropionaatti-ryhmän päivän 35 kortisolin perustasoa päivän 0 perustasoon

($P = 0.099$). Päivänä 35 ei havaittu merkittävää eroa ACTH-stimuloidussa kortisolin huipputasossa eri hoitoryhmien kesken (Kuva 5).

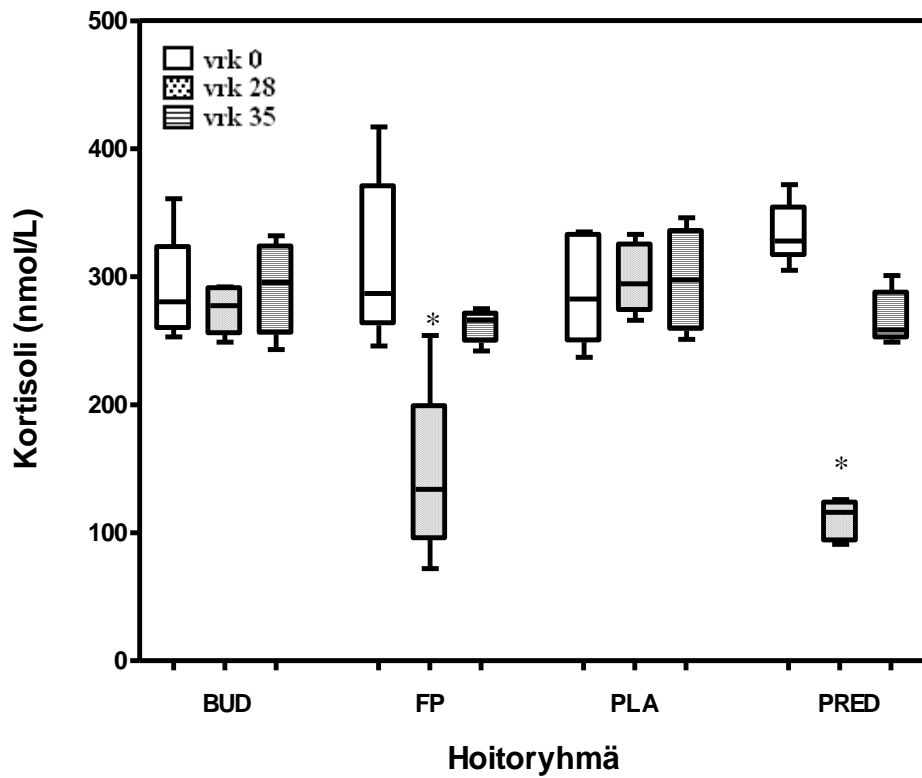
Taulukko 2. ACTH-stimulaatiotestin tulokset (keskiarvo \pm keskihajonta (vaihteluväli)) neljässä hoitoryhmässä. FP flutikasonipropionaatti; BUD budesonidi.

** Tilastollisesti merkittävä ero verrattuna plaseboon tai budesonidiin, $p < 0,001$.*

Kortisoli (nmol/L)	vrk 0	vrk 28	vrk 35
<i>Plasebo</i>			
perustaso (0h)	36 \pm 10 (20-51)	36 \pm 10 (26-51)	37 \pm 14 (24-64)
huipputaso (1h)	288 \pm 40 (237-335)	298 \pm 25 (266-333)	297 \pm 38 (251-346)
<i>Prednisoloni</i>			
perustaso (0h)	39 \pm 18 (23-71)	14 \pm 4 (8-19)	51 \pm 25 (31-93)
huipputaso (1h)	333 \pm 22 (305-372)	111 \pm 15 (91-126)*	266 \pm 20 (249-301)
<i>FP</i>			
perustaso (0h)	42 \pm 11 (26-60)	20 \pm 10 (11-35)	55 \pm 7 (45-65)
huipputaso (1h)	314 \pm 59 (246-417)	156 \pm 67 (72-254)*	267 \pm 18 (242-294)
<i>BUD</i>			
perustaso (0h)	46 \pm 17 (22-70)	35 \pm 14 (16-50)	41 \pm 15 (19-59)
huipputaso (1h)	288 \pm 38 (253-361)	274 \pm 19 (249-292)	292 \pm 35 (243-332)



Kuva 4. Veren kortisolin perustaso (nmol/L) neljässä hoitoryhmässä (BUD budesonidi; FP flutikasonipropionaatti, PLA plasebo, PRED prednisoloni) hoitajakson päivinä 0, 28 ja 35. Normaaliarvo on välillä 0 ja 100 nmol/L. Paksu viiva laatikon sisällä on mediaani ja laatikon ylin ja alin reuna ovat vastaavasti 75 ja 25 prosenttipisteet. Pienin ja suurin arvo on merkitty viiksellä. Tilastollisesti merkittävää eroa kuvataan tähdellä (*).



Kuva 5. Veren kortisolin ACTH-stimuloitu huipputaso (nmol/L) neljässä hoitoryhmässä (BUD budesonidi; FP flutikasonipropionaatti; PLA plasebo; PRED prednisoloni) hoitojakson päivinä 0, 28 ja 35. Normaaliarvo on välillä 200 ja 600 nmol/L. Paksu viiva laatikon sisällä on mediaani ja laatikon ylin ja alin reuna ovat vastaavasti 75 ja 25 prosenttipisteet. Pienin ja suurin arvo on merkitty viiksellä. Tilastollisesti merkittävää eroa kuvataan tähdellä (*).

4 POHDINTA

Tutkimuksen tarkoituksena oli vertailla suun kautta annettavan prednisolonin sekä inhaloitavien budesonidin ja flutikasonipropionaatin vaikutuksia veren kortisolitasoon. Vertailussa oli mukana myös plaseboryhmä. Tutkimuksessa lääkitysjakson pituus oli neljä viikkoa, jonka jälkeen lääkitysten vaikutuksia elimistön omaan kortisolituotantoon tutkittiin vertaamalla ACTH-stimulaatiotestin tuloksia tilanteeseen ennen lääkityksen alkamista. Tuloksia vertaamalla saatiin tietoa onko annettu kortikosteroidilääkitys vaikuttanut elimistön omaan kortisolituotantoon. ACTH-stimulaatiotesti tehtiin myös viikko lääkityksen lopettamisen jälkeen. Vertaamalla tätä tulosta tilanteeseen ennen lääkityksen alkamista saatiin tietoa missä määrin elimistön oma kortisolituotanto on palautunut lääkityksen lopettamisen jälkeen.

ACTH-stimulaatiotesti on suhteellisen luotettava ja nopea tapa lisämunuaisen toimintahäiriöiden diagnosoimiseen koirilla (Nelson 2003, Lathan ym. 2008). ACTH eli adrenokortikotrooppinen hormoni on aivolisäkkeen erittämä hormoni, joka saa aikaan lisämunuaisissa steroidien, mukaan lukien kortisolin, tuotannon lisääntymisen (McDonald & Langston 1995). ACTH-stimulaatiotestissä tätä samaa hormonia tai sen synteettistä analogia annostellaan suonon- tai lihaksensisäisenä injektiona. Seerumin kortisolitaso määritetään verinäytteestä ennen ACTH:n annostelua sekä tunti annostelun jälkeen ja näitä tuloksia verrataan keskenään.

Terveellä koiralla ACTH-injektion annon jälkeen seerumin kortisolitaso nousee hieman. Vasteen puuttuminen ACTH-injektiolle voi viitata mm. kortikosteroidihoidon aiheuttamaan elimistön oman kortisolituotannon lamaanumiseen tai lisämunuaiskuoren kasvaimen. Lisämunuaisen liikatoiminnasta kärsivällä koiralla kortisolitaso taas yleensä nousee huomattavasti. Kuitenkin noin viidenneksellä lisämunuaisen liikatoiminnasta kärsivällä koiralla tulos asettuu normaalirajoihin, joten normaali testituloks ei poissulje lisämunuaisen toimintahäiriötä. Tämän vuoksi ACTH-stimulaatiotestin tulosta ei pitäisi käyttää yksinään lisämunuaisen toimintahäiriöiden diagnosointiin tai diagnoosin poissulkemiseen, vaan esitiedot ja kattava kliininen yleistutkimus on oltava aina osa diagnostiikkaa. (Nelson 2003) Tähän tutkimukseen

mukaan otetuilla koirilla ei terveeksidentamisympäristössä todettu sairauksia, jotka olisivat vaikuttaneet kokeeseen osallistumiseen. Voidaan siis olettaa, että tutkimuksessa saadut ACTH-stimulaatiotestin tulokset antavat oikeanlaista tietoa tutkittujen kortikosteroidien vaikutuksista elimistön omaan kortisolituotantoon.

Tutkimuksen olettamuksena oli, että inhaloitavat budesonidi ja flutikasonipropionaatti lamaavat vähemmän elimistön omaa kortisolituotantoa terveellä koiralla kuin suun kautta annettava prednisoloni. Koska inhaloitavien budesonidin ja flutikasonipropionaatin käytöstä koirilla on vain vähän julkaistua tietoa, valittiin tutkimuksessa käytetyt inhaloitavien kortikosteroidien annokset (budesonidi 200 µg 12 tunnin välein; flutikasonipropionaatti 250 µg 12 tunnin välein) soveltaen saatavilla olevia lasten astman hoitosuosituksia (Campbell ym. 1998, Busse ym. 2008, Levy ym. 2009). Suun kautta annettavan prednisolonin annokseksi (1 mg/kg 24 tunnin välein) valittiin koirien kroonisen keuhkoputkentulehduksen hoidossa yleisesti käytössä oleva annos (McKiernan 2000).

Tutkimuksessa koirat jaettiin ryhmiin ja eri ryhmiä lääkittiin neljän viikon ajan. Lääkitysjaksoa seurasi aina neljän viikon pituinen puhdistautumisjakso. Viikon kuluttua lääkitysten loppumisesta koirille tehtiin ACTH-stimulaatiotesti, jonka avulla tutkittiin elimistön oman kortisolituotannon palautumista lääkitysjakson jälkeen. Verrattaessa eri hoitoryhmiä plasebo-ryhmään, ei lääkitysjakson päivänä 0 havaittu tilastollisesti merkittävää eroa kortisolin perustasossa tai ACTH-stimuloidussa kortisolin huipputasossa. Myös päivänä 35 kortisolin perus- ja huipputaso oli viiterajojen sisällä kaikissa hoitoryhmissä. Tämä viittaa siihen, että neljän viikon puhdistautumisjakso oli riittävän pituinen ja elimistön oma kortisolituotanto oli palautunut jo viikon kuluttua lääkitysten lopettamisesta. Aikaisemmillä lääkitysjaksoilla ei näin ollen ollut vaikutusta seuraavien lääkitysjaksojen tuloksiin. Elimistön oman kortisolituotannon palautumista terveellä koiralla pitkäkestoisen kortikosteroidilääkityksen jälkeen on tutkinut Moore & Hoenig (1992). Heidän tutkimuksessaan koirille annettiin prednisonia annoksella 0,55 mg/kg kaksi kertaa vuorokaudessa viiden viikon ajan. Päivittäinen lääkeannos on lähes vastaava kuin omassa tutkimuksessamme (prednisoloni 1 mg/kg kerran vuorokaudessa). Moore & Hoenig havaitsivat tutkimuksessaan elimistön oman

kortisolituotannon palautuvan täysin alkuperäiselle tasolleen kaksi viikkoa lääkityksen lopettamisesta. Tämän tulos antaa myös viitteitä siitä, että tutkimuksessa käyttämämme neljän viikon puhdistautumisjakso on riittävän pitkä terveelle koiralle elimistön oman kortisolituotannon palautumiseen lääkitysjakson jälkeen.

Pitkäkestoinen kortikosteroidilääkitys aiheuttaa elimistön oman kortisolituotannon lamaantumista (Chastain 1989). Tutkimuksen olettamuksena oli, että inhaloitavat budesonidi ja flutikasonipropionaatti lamaavat vähemmän elimistön omaa kortisolituotantoa terveellä koiralla kuin suun kautta annettava prednisoloni. Saamiemme tulosten perusteella inhaloitava flutikasonipropionaatti kuitenkin lamasi elimistön omaa kortisolituotantoa lähes samassa määrin kuin suun kautta annettava prednisoloni, kun taas budesonidi ei saanut aikaan veren kortisolitason laskua neljän viikon lääkitysjakson aikana. Toisaalta flutikasonipropionaatilla veren kortisolitason havaittiin olevan merkittävästi alhaisempi verrattuna plaseboon päivänä 28 ainoastaan ACTH-stimulaatiotestin jälkeen, kun taas prednisolonilla kortisolitason lasku oli merkittävä päivänä 28 jo ennen ACTH-stimulaatiotestiä sekä sen jälkeen. Syynä tähän voi olla esimerkiksi se, että inhalaatioissa systeemiseen verenkiertoon päätyvä lääkeainemäärä on pienempi kuin suun kautta annosteltaessa ja täten myös systeemiset haittavaikutukset ovat vähäisemmät. Tulosten perusteella voidaan siis olettaa, että inhaloitava flutikasonipropionaatti on kuitenkin turvallisempi vaihtoehto kuin suun kautta annettava prednisoloni. Samaan tulokseen päätyivät Cohn ym. (2008) tutkimuksessaan, jossa he tutkivat inhaloitavan flutikasonipropionaatin ja suun kautta annettavan prednisonin endokriinisiä ja immunologisia vaikutuksia terveellä koiralla. Tutkimuksessa havaittiin kortisolilin perustason olevan alhaisempi prednisoni-ryhmässä kuin flutikasonipropionaatti-ryhmässä. Tutkimuksessa havaittiin lisäksi kortisolilin ACTH-stimuloidun huipputason olevan merkittävästi alhaisempi prednisoni-ryhmässä kuin flutikasonipropionaatti- ja plasebo-ryhmissä kolmen viikon lääkitysjakson jälkeen. Tämä tulos taas poikkesi omista tuloksistamme, joissa ei havaittu neljän viikon lääkitysjakson jälkeen merkittävää eroa kortisolilin huipputasossa prednisoloni- ja flutikasonipropionaatti-ryhmissä. Koska tutkimuksissa käytettiin lähes samoja lääkeannoksia, se ei voi täysin selittää tuloksissa havaittuja eroja. Muita syitä tulosten eroavaisuudelle voivat olla muun muassa lääkkeen annostelijan taidot ja tekniikka,

yksilöiden väliset erot lääkkeen aikaansaamassa vasteessa sekä muut sattuman aiheuttamat otantavirheet. Virhelähteiden vaikutuksia tuloksiin voitaisiin vähentää käyttämällä suurempaa otoskokoa. Toisaalta myös ihmislääketieteen puolella tehdyissä tutkimuksissa inhaloitavan flutikasonipropionaatin on havaittu lamaavan elimistön omaa kortisolituotantoa vähemmän kuin vertailukelpoinen annos suun kautta annettavia kortikosteroideja (Lipworth 1999), joten on hieman yllättävää, että omassa tutkimuksessamme ei merkittävää eroa inhaloitavan flutikasonipropionaatin ja suun kautta annettavan prednisolonin ja välillä havaittu.

Tutkimuksemme oletamus ei siis täysin toteutunut flutikasonipropionaatin osalta, sillä oletimme sen lamaavan elimistön omaa kortisolituotantoa selkeästi vähemmän kuin suun kautta annettavan prednisolonin. Budesonidi-ryhmän tulokset taas vastasivat olettamustamme. Inhaloitava budesonidi laski neljän viikon lääkitysjakson aikana veren kortisolitasoa selvästi vähemmän kuin suun kautta annettava prednisoloni. Lisäksi budesonidi laski veren kortisolitasoa myös vähemmän kuin flutikasonipropionaatti. Saamamme tulokset antavat siis selkeitä viitteitä siitä, että inhaloitava budesonidi on turvallisempi vaihtoehto koirien kroonisten hengitystiesairauksien hoidossa kuin inhaloitava flutikasonipropionaatti tai nykyisin laajasti käytössä oleva suun kautta annettava prednisoloni. Inhaloitavien budesonidin ja flutikasonipropionaatin välillä havaittu ero oli kuitenkin hieman yllättävä, sillä flutikasonipropionaatti on tällä hetkellä eläimillä yleisemmin käytössä oleva inhaloitava kortikosteroidi (Bexfield ym. 2006, Padrid 2006). Lisäksi budesonidia ei ole vuoden 2012 jälkeen ollut enää saatavilla koirille sopivassa muodossa. Saamiemme tulosten mukaan budesonidi olisi kuitenkin turvallisempi vaihtoehto kuin flutikasonipropionaatti. Muita tutkimuksia, joissa vertaillaan inhaloitavan flutikasonipropionaatin ja budesonidin systeemivaikutuksia koirilla, ei ole julkaistu. Ihmislääketieteen tutkimuksissa on kuitenkin saatu samankaltaisia tuloksia käytettäessä inhaloitavaa flutikasonipropionaattia ja budesonidia sekä kerta-annoksena että pitempiaikaisesti astman hoidossa. Tutkimustulosten mukaan flutikasonipropionaatti lamasi elimistön omaa kortisolituotantoa merkittävästi enemmän kuin budesonidi. (Clark ym. 1996, Clark & Lipworth 1997)

Inhaloitavien kortikosteroidien erot on selitettävissä niiden erilaisilla farmakologisilla ominaisuuksilla, kuten kyvyllä kiinnittyä keuhkojen glukokortikoidireseptoreihin, systeemiseen verenkiertoon päätyvän lääkeaineen määrällä, sekä puoliintumisajalla eli aikavälillä, jonka kuluessa plasman lääkeainepitoisuus alenee puoleen. Flutikasonipropionaatti kykenee kiinnittymään tehokkaammin keuhkojen glukokortikoidireseptoreihin ja myös pysymään kiinnittyneenä pidempään kuin budesonidi. Lisäksi flutikasonipropionaatin puoliintumisaika on pidempi kuin budesonidin. (Högger ym. 1994, Barnes ym. 1998, Derendorf ym. 1998) Muun muassa nämä tekijät selittävät sen, että flutikasonipropionaatilla on suuremmat vaikutukset elimistössä verrattuna vastaavaan annokseen budesonidia. Flutikasonipropionaatti on siis periaatteessa tehokkaampi kortikosteroidi kuin budesonidi, mutta samalla se myös lamaa elimistön omaa kortisolituotantoa enemmän. Lisätutkimuksia kuitenkin tarvitaan selvittämään inhaloitavien kortikosteroidien vaikutusmekanismeja sekä niiden eroja, jotta tulevaisuudessa voitaisiin kehittää kaikkien vaikutustensa osalta ihanteellinen kortikosteroidi hengitystiesairauksien hoitoon.

Pitkäkestoisella kortikosteroidilääkityksellä on tunnetusti myös muita haittavaikutuksia, jotka tulisi ottaa huomioon arvioitaessa lääkitysten turvallisuutta. Näitä haittavaikutuksia ovat muun muassa lisääntynyt virtsaaminen, juominen ja ruokahalu, karvanlaadun huononeminen, väsymys, lihasheikkous sekä kohonneet seerumin maksaentsyymit ja veren rasva- ja sokeriarvot (Huang ym. 1999). Tässä liseniaatin tutkielmassa muiden haittavaikutusten tutkiminen päätettiin jättää tutkimuksen ulkopuolelle. ELL Marika Melamiehen väitöskirjatyössä, johon tämä liseniaatin tutkielma liittyy, tutkitaan kuitenkin laajemmin inhaloitavien flutikasonipropionaatin ja budesonidin sekä suun kautta annettavan prednisolonin systeemivaikutuksia terveellä koiralla. Väitöskirjatyössä tutkittiin veren kortisolitason lisäksi kortikosteroidilääkitysten vaikutuksia koirien verenkuvaan, elinarvoihin ja virtsanäytteen tuloksiin. Melamiehen ym. (2012) tutkimuksessa havaittiin suun kautta annettavan prednisolonin nostavan neljän viikon lääkitysjakson aikana seerumin alkalisen fosfaatin ja proteiinin pitoisuuksia sekä virtsan proteiini-kreatiniini-suhdetta merkittävästi verrattuna plasebo-ryhmään. Flutikasonipropionaatti- ja budesonidiryhmissä merkittäviä muutoksia veri- ja virtsanäytteiden tuloksissa ei havaittu

verrattuna plasebo-ryhmään. Myös näiden tulosten perusteella budesonidi vaikuttaisi olevan turvallisempi vaihtoehto verrattuna suun kautta annettavaan prednisoloniin. Lisäksi tutkimuksessa olisi voitu selvittää kortikosteroidilääkitysten vaikutuksia esimerkiksi koirien vedenkulutukseen, ruokahaluun, aktiivisuuteen sekä ihon kuntoon ja karvan laatuun, jotta eri lääkeaineiden systeemivaikutuksista olisi saatu vielä kattavampi kuva.

Tässä tutkimuksessa ei tutkittu inhaloitavien kortikosteroidien kliinistä käyttöä koirien kroonisten hengitystiesairauksien hoidossa. Ihmislääketieteessä saatujen hoitotulosten sekä eläinlääketieteessä tehtyjen hoitokokeiden tulosten perusteella voidaan kuitenkin olettaa, että inhaloitava budesonidi soveltuisi hyvin myös koirien hengitystiesairauksien hoitoon ja olisi turvallisempi vaihtoehto kuin yleisesti käytössä oleva suun kautta annettava prednisoloni. Myös tässä tutkimuksessa saadut tulokset tukevat tätä olettamusta. Lisätutkimuksia kuitenkin tarvitaan, jotta voidaan muun muassa määrittää inhaloitavien kortikosteroidien terapeutiset annokset ja vertailla haittavaikutuksia näillä annoksilla.

5 KIRJALLISUUSLUETTELO

Ahmet A, Kim H, Spier S. Adrenal suppression: A practical guide to the screening and management of this under-recognized complication of inhaled corticosteroid therapy. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2011, 7: 13.

Barnes PJ, Pedersen S, Busse WW. Efficacy and safety of inhaled corticosteroids. New developments. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, 157: 1-53.

Bexfield NH, Foale RD, Davidson LJ, Watson PJ, Skelly BJ, Herrtage ME. Management of 13 cases of canine respiratory disease using inhaled corticosteroids. *J Small Anim Pract* 2006, 47: 377-382.

Busse WW, Pedersen S, Pauwels RA, Tan WC, Chen YZ, Lamm CJ, O'Byrne PM, START Investigators Group. The inhaled steroid treatment as regular therapy in early asthma (START) study 5-year follow-up: Effectiveness of early intervention with budesonide in mild persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1998, 121: 1167-1174.

Campbell LM, Bodalia B, Gogbashian CA, Gunn SD, Humphreys PJ, Powell JP. Once-daily budesonide: 400 micrograms once daily is as effective as 200 micrograms twice daily in controlling childhood asthma. PETITE Research Group. *Int J Clin Pract* 1998, 52: 213-219.

Chastain CB. Use of corticosteroids. Teoksessa: Ettinger SJ (toim.) *Textbook Of Veterinary Internal Medicine*. 3. p. Saunders, Philadelphia 1989: 413-427.

Clark DJ, Clark RA, Lipworth BJ. Adrenal suppression with inhaled budesonide and fluticasone propionate given by large volume spacer to asthmatic children. *Thorax* 1996, 51: 941-943.

Clark DJ, Lipworth BJ. Adrenal suppression with chronic dosing of fluticasone propionate compared with budesonide in adult asthmatic patients. *Thorax* 1997, 52: 55-58.

Cohn LA, DeClue AE, Reinero CR. Endocrine and immunologic effects of inhaled fluticasone propionate in healthy dogs. *J Vet Intern Med* 2008, 22: 37-43.

Derendorf H, Hochhaus G. The effect of protein binding on adrenal suppression potential of inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 2006, 117: S94.

Derendorf H, Hochhaus G, Meibohm B, Möllmann H, Barth J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 1998, 101: 440-446.

Derendorf H, Nave R, Drollman A, Cerasoli F, Wurst W. Relevance of pharmacokinetics and pharmacodynamics of inhaled corticosteroids to asthma. *Eur Respir J* 2006, 28: 1042-1050.

Giguere S, Viel L, Lee E, MacKay RJ, Hernandez J, Franchini M. Cytokine induction in pulmonary airways of horses with heaves and effect on therapy with inhaled fluticasone propionate. *Vet Immunol Immunopathol* 2002, 85: 147-158.

Gupta P, Bhatia V. Corticosteroid physiology and principles of therapy. *Indian J Pediatr* 2008, 75: 1039-1044.

Hawkins EC. Disorders of the trachea and bronchi. *Teoksessa: Nelson RW, Couto CG (toim.) Small Animal Internal Medicine. 3. p. Mosby, St. Louis 2003a: 287-298.*

Hawkins EC. Disorders of the pulmonary parenchyma. *Teoksessa: Nelson RW, Couto CG (toim.) Small Animal Internal Medicine. 3. p. Mosby, St. Louis 2003b: 299-314.*

Huang H-P, Yang H-L, Liang S-L, Lien Y-H, Chen K-Y. Iatrogenic hyperadrenocorticism in 28 dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 1999, 35: 200-207.

Högger P, Rohdewald P. Binding kinetics of fluticasone propionate to the human glucocorticoid receptor. *Steroids* 1994, 59: 597-602.

Jennings BH, Andersson KE, Johansson SÅ. Assessment of systemic effects of inhaled glucocorticosteroids: comparison of the effects of inhaled budesonide and oral prednisolone on adrenal function and markers of bone turnover. *Eur J Clin Pharmacol* 1991, 40: 77-82.

Kirschvink N, Leemans J, Delvaux F, Snaps F, Jaspard S, Evrard B, Delattre L, Cambier C, Clercx C, Gustin P. Inhaled fluticasone reduces bronchial responsiveness and airway inflammation in cats with mild chronic bronchitis. *J Feline Med Surg* 2006, 8: 45-54.

Kuehn NF. Chronic Bronchitis in Dogs. Teoksessa: King LG (toim.) *Textbook of Respiratory Disease in Dogs and Cats*. 1. p. Saunders, St. Louis 2004: 379-387.

Lathan P, Moore GE, Zambon S, Scott-Moncrieff JC. Use of a low-dose ACTH stimulation test for diagnosis of hypoadrenocorticism in dogs. *J Vet Intern Med* 2008, 22: 1070-1073.

Lefering R, Neugebauer EA. Steroid controversy in sepsis and septic shock: a meta-analysis. *Crit Care Med* 1995, 23: 1294-303.

Levy ML, Thomas M, Small I, Pearce L, Pinnock H, Stephenson P. Summary of the 2008 BTS/SIGN British guideline on the management of asthma. *Prim Care Resp J* 2009, 18: S1-S16.

Lipworth BJ. Pharmacokinetics of inhaled drugs. *Br J Clin Pharmacol* 1996, 42: 697-705.

Lipworth BJ. Systemic adverse effects of inhaled corticosteroid therapy: A systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med* 1999, 159: 941-955.

Martin RJ, Szeffler SJ, Chinchilli VM, Kraft M, Dolovich M, Boushey HA, Cherniack RM, Craig TJ, Drazen JM, Fagan JK, Fahy JV, Fish JE, Ford JG, Israel E, Kunselman SJ, Lazarus SC, Lemanske RF Jr, Peters SP, Sorkness CA. Systemic effect comparisons of six inhaled corticosteroid preparations. *Am J Respir Crit Care Med* 2002, 165: 1377-1383.

Mason RA, Johnson RJ. Tracheal collapse. Teoksessa: King LG (toim.) *Textbook of Respiratory Disease in Dogs and Cats*. 1. p. Saunders, St. Louis 2004: 346-355.

McDonald RK, Langston VC. Use of corticosteroids and nonsteroidal anti-inflammatory agents. Teoksessa: Ettinger SJ, Feldman EC (toim.) *Textbook Of Veterinary Internal Medicine*. 4. p. Saunders, Philadelphia 1995: 284-293.

McKiernan BC. Diagnosis and treatment of canine chronic bronchitis. Twenty years of experience. *Vet Clin North Am: Small Anim Pract* 2000, 30: 1267-1278.

Melamies M, Vainio O, Spillmann T, Junnila J, Rajamäki MM. Endocrine effects of inhaled budesonide compared with inhaled fluticasone propionate and oral prednisolone in healthy Beagle dogs. *Vet J* 2012, 194: 349-353.

Moore GE, Hoenig M. Duration of pituitary and adrenocortical suppression after long-term administration of anti-inflammatory doses of prednisone in dogs. *Am J Vet Res* 1992, 53: 716-720.

Nelson RW. Disorders of the adrenal gland. Teoksessa: Nelson RW, Couto CG (toim.) *Small Animal Internal Medicine*. 3. p. Mosby, St. Louis 2003: 778-815.

Padrid P. Feline asthma: diagnosis and treatment. *Vet Clin North Am: Small Anim Pract* 2000, 30: 1279-1294.

Padrid P. Use of inhaled medications to treat respiratory diseases in dogs and cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 2006, 42: 165-169.

Rohatagi S, Rhodes GR, Chaikin P. Absolute oral versus inhaled bioavailability: Significance for inhaled drugs with special reference to inhaled glucocorticoids. *J Clin Pharmacol* 1999, 39: 661-663.

Sjaastad ØV, Hove K, Sand O. *Physiology of Domestic Animals*. 1. p. Scandinavian Veterinary Press, Oslo 2003.

Sorkness CA, LaForce C, Storms W, Lincourt WR, Edwards L, Rogenes PR. Effects of the inhaled corticosteroids fluticasone propionate, triamcinolone acetonide, and flunisolide and oral prednisone on the hypothalamic-pituitary-adrenal-axis in adult patients with asthma. *Clin Ther* 1999, 21: 353-367.

Sousa CA. Glucocorticoids in veterinary dermatology. Teoksessa: Bonagura JD (toim.) *Kirk's Current Veterinary Therapy XIV*. 14. p. Saunders, St. Louis 2009: 400-405.

Szefler SJ. Glucocorticoid therapy for asthma: clinical pharmacology. *J Allergy Clin Immunol* 1991, 88: 147-165.

Tumulty JW, Broussard JD, Steiner JM, Peterson ME, Williams DA. Clinical effects of short-term oral budesonide on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in dogs with inflammatory bowel disease. *J Am Anim Hosp Assoc* 2004, 40: 120-123.