

**Oral tildeling af essentielle fede syrer:
Virkning på tåreproduktion og
betændelsesprocesser på øjets overflade hos
hunde med idiopatisk keratokonjunctivitis
sicca (IKCS)**

Fagdyrlæge hovedopgave kursus K2008065

Henrik Bartholin

Dyreklinikken i Søllerød-Holte

Oral tildeling af essentielle fede syrer: Virkning på tåreproduktion og betændelsesprocesser på øjets overflade hos hunde med idiopatisk keratokonjunctivitis sicca (IKCS)

Sammendrag

Virkingen af essentielle fede syrer (PUFA) på tåreproduktion og inflammatoriske processer på øjets overflade, hos hunde med idiopatisk keratokonjunctivitis sicca (IKCS), blev undersøgt i en dobbelt blind placebokontrolleret multicenter feltundersøgelse.

Tilfældigt udvalgte hunde med IKCS blev dagligt tildelt én af tre orale testbehandlinger: En olie indeholdende 105 mg Gamma-linolensyre (GLA), 190 mg Cis-linolsyre (LA), 9,9 mg Eicosapentaensyre (EPA) og 6,6 mg Docosahexaensyre (DHA) pr 0,6 ml (Viacutan plus), en olie indeholdende 83 mg Docosahexaensyre (DHA) pr. 0,6 ml (Pexion), eller en placeboopløsning (konservet te).

Samtidigt blev alle hunde i undersøgelsesperioden behandlet to gange dagligt med hver af de farmaceutiske specialiteter Optimune vet øjendråber (CsA) og Spersadex Comp øjendråber (chloramphenicol + dexamethason).

Øjne med kliniske tegn på IKCS og med Schirmer tear test (STT1) værdi <15 mm pr. minut blev inkluderet i undersøgelsen.

STT1 blev målt, og de inflammatoriske forandringer på øjets overflade blev bedømt af dyrlægen og af ejeren ved inklusion og igen efter en og to måneders behandling.

I undersøgelsen indgik i alt 28 øjne fordelt på 16 hunde af tilfældig alder, vægt, køn og race.

Undersøgelsen viste tendens til lindring af inflammationen på øjets overflade efter to måneders behandling med Viacutan. Fremtidige undersøgelser vil vise om PUFA har en plads i behandlingen af IKCS hos hunde.

Introduktion

Hos hunde har keratokonjunctivitis sicca (KCS) længe været kendt som en almindelig sygdom. KCS blev diagnosticeret hos 1,52 % af hundene som i 1988 blev præsenteret for undersøgelse ved Purdue University i USA. (1)

KCS er sygdom, hvis årsag er, at der dannes for få tårer. Ved tåremangel kan de normalfysiologiske processer på øjets overflade ikke opretholdes. Årsagen hertil er at tårevæsken ved sin komplekse sammensætning, ud over at holde øjenoverfladen fugtig, tjener en lang række vigtige formål. Resultatet af tåremangel er varierende grader af keratitis og conjunctivitis.

KCS udvikler sig ofte som en smertefuld, kronisk, uhelbredelig sygdom, som ubehandlet ultimativt kan føre til blindhed.

Tårevæsken er en kompleks blanding af sekretet fra kirtlerne og epitelet i øjets annexia.

De Meibomske kirtler, conjunctivale bægerceller, tårekirtlerne i orbita og blinkhinden samt det conjunctivale epitel bidrager med vigtige bestanddele til tårevæsken.

Man anser traditionelt, at tårevæsken på hornhinden, den præcorneale tårefilm (PTF), er organiseret i tre lag, hvis samlede tykkelse er i størrelsesordenen 10 μm .

PTF består yderst af et lipidholdigt lag, som dannes i de Meibomske kirtler (Tarsal glands). De Meibomske kirtler er holocrine modificerede talgkirtler, linært placeret i øjenlågs kantens bindevæv. De Meibomske kirtlers udførsels gange ses tydeligt ved svag forstørrelse på øjenlågets muco-cutane overgang som 20 til 40 regelmæssigt placerede åbninger. Tårefilmens ydre lag nedsætter, ved sit lipidindhold, overfladespændingen og fordampningen fra øjet.

Lav overfladespænding muliggør dannelse af en tynd og ensartet tårefilm på hornhinden og modvirker tåreoverløb ved øjenlågs kanterne.

Tårefilmens midterste lag er et vandigt lag, som dannes af tårekirtlen i orbita og tårekirtlen i blinkhinden.

Øjets to store tårekirtler er tubuloacinære og histologisk identiske. Tårekirtlen i blinkhinden danner 30 til 50% af de vandige tårer. Tårekirtlen i orbita danner resten.

Den betydelige produktion af vandige tårer i blinkhindens tårekirtel er baggrunden for, at de eneste indikationer for at fjerne kirtlen er neoplasi og ødelæggende traume.

Tårefilmens vandige lag tjener mange formål:

Det vandige lag har rent fysiske virkninger. Det skyller partikler og bakterier bort, og det udfylder hornhinde epithelcellernes uregelmæssige villusbeklædte overflade. Herved giver det øjet en helt glat og ensartet overflade, som sikrer optimal optisk effektivitet.

Desuden opløser det vandige lag stoffer og celler, som er afgørende for opretholdelse af normalfysiologien på øjets overflade.

For den yderste halvdel af hornhinden er det vandige lag den vigtigste kilde til ilt, aminosyrer, vitaminer, vækstfaktorer, immunoglobuliner, proteaseinhibitorer, antimikrobielle faktorer, immunkompetente celler m.v

Videre har det vandige lag en meget vigtig funktion i at optage og bortskaffe vandigt opløselige affaldsprodukter fra hornhindens stofskifte.

Tårefilmens indre lag består af hydrerede glycoproteiner (mucoproteiner) som dannes i conjunctivale bægerceller (Goblet cells) og i mindre grad i conjunctivale epithelceller. Det indre lag forankrer PTF's vandige lag til hornhinde epithellets lipofile overflade. Det antages at glycoproteinerne er bipolære, og derfor virker som bindemiddel mellem tårefilmens lipofobe vandige midterlag og hornhinde epithellets lipofile overflade.

Nyere humane studier, hvor man benytter non-invasive måleteknikker, viser at den humane PTF er tre til fire gange tykkere end hidtil antaget. (2)

Undersøgelserne viser desuden, at den intakte humane PTF er organiseret i langt mindre grad end traditionelt antaget. Eksempelvis findes mucin i såvel PTF's vandige lag som i det ydre lag, hvor det har betydning for opretholdelsen af øjets glatte og ensartede overflade.

Som det fremgår er tårevæsken særdeles kompleks.

I normale humane tårer er der påvist mere end 80 forskellige molekylære signalstoffer: chemokiner, cytokiner og vækstfaktorer. (3)

Der er ingen tvivl om, at det samlede antal betydende stoffer og celletyper i tårevæsken er meget stort.

Tårevæskens kvalitet og mængde er afgørende for, om normalfysiologien på øjets overflade kan opretholdes.

Såvel kvantitative som kvalitative mangler kan føre til sygdom på øjets overflade. (4)

For nylig har et panel af humane ophthalmologer foreslået betegnelsen "dysfunctional tear syndrome" (DTS) i stedet for den almindeligt anvendte humane betegnelse "Dry eye syndrome" (DES). (5)

Dette sker i erkendelse af, at DES-lignende sygdom hos mennesket ses ved mangel på andre tårekomponenter end den vandige.

DTS ses hos mennesker som en del af Sjögrens syndrom, en autoimmun lidelse som rammer spytt- og tårekirtler, og som kan følges af bindevævsforandringer: Rheumatoid arthritis og systemisk lupus erythematosus. (1)

Den veterinære pendant skulle i givet fald være den samme betegnelse: DTS.

Velkendte mangler ved tårevæsken hos hunde er først og fremmest nedsat eller ophørt produktion af tårenes vandige komponent (KCS).

Få andre mangler ved tårevæsken hos hunde er undersøgt.

KCS-lignende sygdom hos hunde er beskrevet ved specifik mangel på mucin. (6)

Det er vist at mængden af visse specifikke mucin associerede sialoglycoproteiner er nedsat hos hunde med KCS. (7) Betydningen heraf er usikker.

Det Meibomske kirtelsekret har været genstand for undersøgelse hos hunde. (8)

Formålet var at etablere "baseline"-værdier for Meibomsk sekretion.

Hos hunde er det en kendt klinisk iagttagelse, at KCS-lignende sygdom kan ses hos hunde, som ikke har nedsat produktion af tårenes vandige komponent.

Ved autoimmun sygdom (Phemphigus, Lupus), som rammer øjenlågene, infektiøs sygdom, som angår øjenlågene, øjenlågstraumer eller medfødte øjenlågsanomalier (dysgenesis – agenesis), kan KCS-lignende sygdom ses. Det er nærliggende, at sygdommen på øjets overflade i disse tilfælde skyldes mangel på Meibomsk kirtelsekret.

Kendte årsager til nedsat eller ophørt produktion af tårenes vandige komponent (KCS) hos hunde er påvirkninger, som skader eller ødelægger tårekirtlerne i orbita og blinkhinden.

Kendte årsager til KCS er: Visse lægemidler, neuro-patologisk sygdom, endokrin sygdom, infektiøs sygdom, systemisk sygdom, gammastråling, traumer, sequela til kirurgi, congenital sygdom og neoplasi.

I de fleste tilfælde findes ingen åbenbar årsag til KCS hos hund. Det antages at KCS i de tilfælde er del af en generaliseret lidelse, hvilket støttes af, at de samme hunde ofte lider af anden kronisk sygdom.

KCS uden åbenbar årsag kan benævnes idiopatisk KCS (IKCS)

Et forhold, som støtter antagelsen om, at IKCS er del af en generaliseret lidelse, er studier, der viser, at IKCS i langt de fleste tilfælde er en bilateral lidelse. (9)

Hos raske hunde er det vist, at nedsat tåreproduktion og udvikling af KCS først ses ved fjernelse af begge øjets tårekirtler. (10)

Ved fjernelse af en kirtel ses et kompensatorisk tårespons i den tilbageværende kirtel. Det er usandsynligt, at en "tilfældig" påvirkning i de fleste tilfælde samtidigt skulle ramme alle fire tårekirtler og derved forårsage bilateral IKCS.

Ved IKCS ses ofte i varierende grad karakteristiske, histologiske forandringer i de afficerede tårekirtler. (11)

Forandringerne er kendetegnet ved infiltration med mononucleære celler: Lymfocytter og plasmaceller, interacinær fibrose samt acinær atrofi. (11,12,13)

På baggrund af det histologiske fund, og ofte samtidig tilstedeværelse af andre tegn på immunmedieret sygdom, blev en immunologisk baggrund tidligt foreslået. (1)

Tårekirtlerne kan opfattes som immunprivilegerede organer, som er beskyttet af en "blod-tårebarriere". (14)

Ødelæggelse af denne barriere kan tænkes at medføre et immunologisk angreb på tårekirtlerne. (11,13)

De karakteristiske histopatologiske forandringer, som i varierende grad ses ved IKCS, peger i den retning.

T-lymfocytter kan opdeles i underpopulationer af T-supressor celler (CD8+) og T-hjælper celler (CD4+).

I normale tårekirtler hos mus dominerer underpopulationen af T-supressor celler over underpopulationen af T-hjælper celler. (15)

I tårekirtlerne og spytkirtlerne hos mennesker med DES (Dry eye syndrome) som følge af Sjögrens syndrom og hos MRL/lpr mus med KCS (Velkarakteriseret muteret stamme, som spontant udvikler autoimmun sygdom) ses infiltration med mononucleære celler. (15,16)

Disse celler er især T-hjælper celler.

Hos mennesker og mus antyder dette, at T-hjælper celler (CD4+) dominerer over T-supressor celler (CD8+) i tårekirtler, som er under immunologisk angreb.

I tårekirtler hos hunde med IKCS ses i nogle undersøgelser ikke lignende T-celle forskydning som ses hos mus og mennesker med DTS. (17,18)

Her ses overraskende flere T-supressor celler (CD8+) end T-hjælper celler (CD4+). (18)

Denne T-celle fordeling svarer til T-celle fordelingen i normalt fungerende tårekirtler hos mus og mennesker. (17)

Det positive kliniske svar, som ofte ses ved immunmodulerende behandling af hunde med IKCS, er et tegn på, at IKCS er en immunologisk lidelse nært knyttet til T-celle funktionen.

Der findes dokumentation for lokal behandling af IKCS hos hunde med tre forskellige makrolidbeslægtede immunmodulerende aktivstoffer: Cyclosporin – Optimune vet. øjendråber (1,17,18,19,20,21,22), samt aktivstofferne Tacrolimus (23) og Primecrolimus. (24)

Uanset aktivstof viser undersøgelserne, at immunmodulerende behandling helt eller delvist genopretter tåreproduktionen hos fire ud af fem hunde med IKCS.

Stofferne blev oprindeligt udviklet til at forebygge og behandle human ”graft versus vært” sygdom. Virkningsmåden for de tre stoffer er ikke helt identisk. Det er vist, at nogle hunde med IKCS reagerer bedre på behandling med Tacrolimus end på behandling med Cyclosporin A. (23)

I Danmark er Cyclosporin A (CsA)(Optimune vet.) godkendt til behandling af keratokonjunctivitis sicca og kronisk superficiel keratitis hos hund. (25)

CsA virker ved at hæmme produktionen af cytokiner (interleukin-2), som fremmer proliferationen af T-hjælper celler. (26)

Herved nedsættes infiltrationen med inflammatoriske celler i tårekirtlerne, og funktionen af tårekirtlernes sekretoriske epithel forbedres. (26)

Videre nedsætter CsA produktionen af eosinofile celler, hæmmer mastcelle degranulation og undertrykker tumor nekrose faktor alpha i B lymfocytter. (27)

Betydningen af disse virkninger i forbindelse med behandling af hunde med IKCS er uklar.

Tårestimulerende behandling med Optimune vet er en grundsten i behandlingen af IKCS.

Anden samtidig lokal behandling sigter på at reducere betændelsesprocesserne på øjets overflade.

Anden lokal behandling omfatter behandling med antiinflammatoriske midler: Corticosteroider, NSAID's samt behandling med antibiotika, mucinolytica og kunstige tårer.

På trods af intensiv behandling med Optimune vet. og diverse supplerende midler er resultatet ikke altid symptomfrihed.

Mange IKCS patienter må leve med kronisk keratokonjunctivitis og de gener og den smerte, det medfører.

På den baggrund er det nærliggende at søge efter midler, som kunne tænkes af udgøre et supplement til den gængse behandling af IKCS.

Det er velkendt, at polyumættede fede syrer (PUFA) har immunsupprimerende virkninger. Virkningerne er komplekse, mangelfuldt forstået og forskellige for de to klasser af PUFA's.

Omega 3 PUFA metaboliseres blandt andet til eicosanoider, lokalt virkende lipidhormoner, med indflydelse på inflammatoriske processer og immunsvær på celleniveau. (28) Eicosanoider dannet fra omega 3 PUFA er langt mindre proinflammatoriske end de "naturlige" eicosanoider dannet fra arachidonsyre (AA). Man antager, at omega 3 PUFA konkurrerer med AA om at virke som substrat for eicosanoid produktionen. Jo mere omega 3 PUFA, jo mere "fredsommeligt" eicosanoid.

Omega 6 PUFA er blandt andet substrat for cyclooxygenase, som omdanner lipidstoffer til Prostaglandin E1 (PGE1). PGE1 omfatter en serie af prostaglandiner med mange komplekse antiinflammatoriske virkninger. (28,29)

Virkningsmåden af PUFA på immunsystemet er dermed en anden, end den man kender hos de almindeligt anvendte midler – CsA, Corticosteroider og NSAID's.

Fiskeolie er den eneste gode kilde til Omega-3 (n-3) PUFA: Eicosapentaensyre (EPA) og Docosahexaensyre (DHA).

Omega 6 (n-6) PUFA: Gamma-linolensyre (GLA) og Cis-linolensyre (LA) findes især i visse planteolier.

I en nyere undersøgelse blev tumor bearing rats (en velkarakteriseret muteret rotte stamme) per os tildelt en fiskeolie med et højt indhold af DHA.

Undersøgelsen viste, at DHA hæmmer T-lymfocyt polifiration og aktiviteten af cytotoxiske macrofager. (30)

I en anden nyere undersøgelse blev det vist, at omega 6 PUFA og omega 3 PUFA (DHA) beskytter celler mod T-cellelysis. (31)

Resultaterne er interessante i lyset af, at der i tårekirtlerne ved IKCS ses infiltration med mononucleære celler: Lymfocytter og plasmaceller.

Enhver hæmning af polifirationen og aktiviteten af mononucleære celler kunne tænkes at medvirke til at normalisere tåreproduktionen og dæmpe det inflammatoriske respons på øjets overflade.

På baggrund af ovenstående findes det relevant at undersøge, om PUFA har en plads i behandlingen af IKCS hos hunde.

Formålet med denne nærværende kliniske afprøvning er at undersøge, om det er tilfældet.

Materiale og metode

Undersøgelingsdesign

Undersøgelsen var tilrettelagt som en dobbelt blind placebo kontrolleret multicenter feltundersøgelse.

Følgende medlemmer af DDD's øjenpanel (centre) bidrog med patienter, kliniknavn og antallet af hunde som medlemmet bidrog med er nævnt i parentes:

Finn Boserup (Dyreklinikken i Søllerød-Holte, 8), Susanne Korsholm (Ringe Dyrehospital, 3), Claus Bundgaard (Århus Dyrehospital, 2), Anne Svane Sørensen (Dyrlægerne Midt-vest, 2), Jens Kai Knudsen (Næstvedegnens Dyrehospital, 1).

Øjenpanelmedlemmerne fik ved undersøgelsens start udleveret en protokol, som nøje beskriver undersøgelsens baggrund, formål og metode, journalkort samt "huskesedler" til ejerne.

Test- og placebo-produkter

Undersøgelsen angik tre produkter til oral administration:

En olie indeholdende 105 mg Gamma-linolensyre (GLA), 190 mg Cis-linolsyre (LA), 9,9 mg Eicosapentaensyre (EPA) og 6,6 mg Docosahexaensyre (DHA) pr 0,6 ml (Viacutan plus)

En olie indeholdende 83 mg Docosahexaensyre (DHA) pr. 0,6 ml (Pexion), og en placeboopløsning (konserveret te).

Blinding og randomisering

Inden undersøgelsen blev der fremstillet 90 sæt testflasker.

Hvert sæt testflasker indeholdt nok produkt til at behandle 30 kg hund i tre måneder.

30 af de 90 sæt testflasker indeholdt Viacutan.

30 sæt testflasker indeholdt Pexion.

De resterende 30 sæt testflasker indeholdt konserveret te.

De 90 sæt testflasker blev fremstillet og leveret af Boehringer Ingelheim Danmark AS.

Ved hjælp af tilfældige tal blev hver af de 30+30+30 sæt af testflasker tildelt et af patientnumrene 1 til 90.

Hvert sæt af testflasker bestod af tre flasker, som hver især blev mærket med det patientnummer, som det pågældende sæt testflasker var blevet tildelt. De 90 sæt testflasker blev pakket i identiske papæsker, mærket med det aktuelle patientnummer og forseglet med tape.

Patienternes ejere blev instrueret i først at åbne den tildelte papæske hjemme. Dette for at undgå enhver mulighed for, at dyrlægen skulle kunne kæde et bestemt patientnummer sammen med en bestemt behandling.

Videre blev patienternes ejere instrueret i at holde det hemmeligt for dyrlægen, om indholdet af det tildelte sæt testflasker var vandigt eller fedtet.

Patienternes ejere fik oplyst, at undersøgelsens formål var at afprøve tre kandidat produkter: to olier og et vandigt plante ekstrakt. Placebobehandling blev ikke omtalt.

Sammenhængen mellem patientnumre og indholdet i hver af de 90 sæt testflasker fremgik af en randomiseringsliste.

Randomisering, mærkning og pakning af de 90 sæt testflasker blev udført af Boehringer Ingelheim Danmark AS. Randomiseringslisten blev opbevaret på et sikkert sted af Boehringer Ingelheim Danmark AS.

Før og i løbet af undersøgelsen var sammenhængen mellem patientnumre og indholdet af de 90 sæt testflasker derfor ukendt for såvel deltagende dyrlæger som for patienternes ejere.

Først efter undersøgelsens afslutning og efter at data var indsamlet, blev koden brudt.

Sammenhængen mellem det enkelte patientnummer og indholdet af det tilhørende sæt testflasker blev herved kendt.

Patienter som opfyldte inklusionskriterierne, og som ikke blev udelukket som følge af eksklusionskriterierne, blev ved inklusionen tildelt et tilfældigt sæt testflasker, forseglet i den originale papæske.

Den første hund, som blev inkluderet i undersøgelsen kunne få udleveret papæskan mærket med nummer 77, den anden patient papæske nummer 2, den tredje æske nummer 21 og så videre.

Inklusionskriterier

Kliniske symptomer på IKCS i form af et eller flere af følgende symptomer: "Blepharospasme", "Udflyd" og "Konjunktival congestion".

Samt reduceret produktion af vandige tårer, Schirmer tear test (STT 1) < 15 mm/minut.

Ved unilateral opfyldelse af begge inklusionskriterier blev kun det pågældende øje inkluderet.

Eksklusionskriterier

Sygdomme eller tilstande, hvor tårekirtlerne rammes: Status efter traumer, kirurgi, infektioner, medfødte misdannelser, lægemiddel induceret sygdom i tårekirtlerne (Sulfa præparater), neurologisk sygdom, endokrin sygdom.

Patienter

I undersøgelsen indgik 16 tilfældigt udvalgte hunde.

Hundene var henvist fra almindelig praksis til et medlem af DDD's øjenpanel med henblik på udredning af en øjensygdom.

Ni intakte tæver, seks intakte hanner og en neutraliseret tæve deltog. Hundenes alder var i gennemsnit 6,0 år (1-15 år), vægten var i gennemsnit 13,3 kg (4-30 kg). Hunde af ni racer deltog: Mellem Puddel (2), Cairn Terrier (1), Cocker Spaniel (4), Cavalier King Charles Spaniel (3), Yorkshire Terrier (2), Gammel Dansk Hønsehund (1), Engelsk Bulldog (1), West Highland White Terrier (1), Samojede (1).

Ved inklusion i undersøgelsen opfyldte de 16 hunde begge inklusionskriterier på mindst et øje:

Kliniske symptomer på IKCS samt reduceret produktion af vandige tårer: Schirmer tear test (STT1) < 15 mm pr. minut.

Tolv hunde havde bilateral IKCS og opfyldte begge inklusionskriterier på begge øjne.

Fire hunde havde unilateral IKCS og opfyldte begge inklusionskriterier på kun et øje.

Hos disse fire hunde indgik kun dette ene øje i undersøgelsen.

I alt 28 øjne indgik derfor i undersøgelsen.

Test behandling

Den daglige dosering af test og placebo produkt var 0,6 ml/6 kg hund:

2-3 kg:	0,3 ml/dag	1/2 pumpe­slag
4-6 kg:	0,6 ml/dag	1 pumpe­slag
7-12 kg:	1,2 ml/dag	2 pumpe­slag
13-18 kg:	1,8 ml/ dag	3 pumpe­slag
19-24 kg:	2,4 ml/dag	4 pumpe­slag
25-30 kg:	3,0 ml/dag	5 pumpe­slag

Test- og placebo-produkt blev leveret af Boehringer Ingelheim AS i neutrale plastflasker med en pumpeanordning, som gav 0,6 ml produkt pr. pumpe­slag.

Sammenhængen mellem vægt og antallet af tildelte pumpe­slag pr. dag fremgår af ovenstående.

Test/placebo-produkt blev af ejeren iblandet hundens foder en gang dagligt.

Anden behandling

Alle hunde, som indgik i undersøgelsen blev behandlet to gange dagligt med CsA øjensalve (Optimune Vet. øjensalve 2mg/g, Schering Plough Animal Health) og to gange dagligt med øjendråber indeholdende en antibiotika og corticosteroid kombination (Spersadex Comp, 5,5 mg chloramphenicol + 1 mg dexamethason / ml, Novartis Healthcare AS).

I løbet af undersøgelsesperioden var anden lokal behandling af øjnene ikke tilladt (lægemidler, kunstige tårer).

Instruks til ejer

Ved inklusion blev ejeren omhyggeligt instrueret i at fjerne udflåd fra øjnene ved hjælp af vat vædet i øjenbadevand (Isotonisk NaCl) og i at behandle patienten med øjensalven og øjendråberne.

Ejeren blev indskærpet at fjerne udflåd fra øjnene inden hver eneste behandling i undersøgelsesperioden.

Ved inklusion fik hver enkelt patient udleveret en papæske indeholdende et sæt testflasker.

Nummeret på æsken blev af dyrlægen indført i den pågældende hunds journalkort.

Ved samme lejlighed blev antallet af pumpeslag som den pågældende hund skulle have i sin mad bestemt, og testflaskernes pumpeanordning blev demonstreret for ejeren ved hjælp af det kommercielle produkt Viacutan.

Endelig fik ejeren udleveret en ”huskeseddel”, hvorpå dyrlægen havde anført antallet af pumpeslag den pågældende hund dagligt skulle have i sin mad.

Bivirkninger

Kendte bivirkninger til Omega-3, Omega-6 tildeling er gastro-intestinale symptomer: Opkast, kolik, diarré. Bivirkningerne er reversible og ses i forbindelse med de første indtagelser af Omega-3, Omega-6. Deltagende dyrlæger blev instrueret om i tilfælde af bivirkninger at reducere doseringen med 50% (1 pumpeslag/12 kg) i 3-4 dage, for herefter at behandle den pågældende hund med fuld dosis (1 pumpeslag / 6 kg), og om at registrere hændelsen på hundens journalkort.

Måling / bedømmelse af effekt

Den vandige tåreproduktion blev målt ved standard 1 min. Schirmer tear test (STT1) (Dina strip Schirmer- plus- Gecis), ved inklusion, samt en og to måneder senere.

På de samme tre tidspunkter blev inflammationen på øjets overflade bedømt af dyrlægen og af ejeren.

Ved øjets overflade forstås den conjunctivale overflade af de tre øjenlåg og sclera samt corneas overflade. Som udtryk for de inflammatoriske forandringer på øjets overflade scorede dyrlægen ved de samme tre lejligheder de kliniske symptomer ”Blepharospasme”, ”Udflåd” og ”Konjunktival congestion”.

Ejeren scorede ved de samme tre lejligheder de kliniske symptomer ”Udflåd” og ”Overordnet indtryk af øjet”.

Al scoring skete efter en 0-5 skala, hvor 0 angav den kliniske normaltilstand, og 5 angav den maksimalt inflammerede tilstand.

Registrering af data

Ved inklusion af hver enkelt patient blev der oprettet en journal, hvori dyrlægen for den pågældende patient noterede alle relevante oplysninger, som blev indsamlet i løbet af undersøgelsesperioden.

Evaluering af data

Schirmerværdier

For hver af de tre grupper: Viacutan, Pexion og Placebo udregnes for hvert deltagende øje ændringerne Dag 0-Dag 30 (Schirmer Diff 0-30) og ændringerne Dag 0-Dag 60 (Schirmer Diff 0-60).

Stigende Schirmerværdi regnes for positiv, faldende Schirmerværdi regnes for negativ.

For hver af de tre behandlingsgrupper udregnes middelværdien for Schirmer Diff 0-30 og Schirmer Diff 0-60.

Datarækken Schirmer Diff 0-30, henholdsvis Schirmer Diff 0-60 for Viacutan sammenlignes ved T-Test med samme for Placebo.

Datarækken Schirmer Diff 0-30, henholdsvis Schirmer Diff 0-60 for Pexion sammenlignes ved T-Test med samme for Placebo.

P-værdier på under 0,05 regnes for signifikante.

Microsoft-Excel bruges til at håndtere data og til de statistiske beregninger.

Klinisk score dyrlæge

For hver af de tre grupper: Viacutan, Pexion og Placebo udregnes for hvert deltagende øje den samlede kliniske score (summen af score for "Blepharospasme", "Udflåd" og "Congestion") Dag 0, Dag 30 og Dag 60.

Herefter udregnes for hver af de tre grupper: Viacutan, Pexion og Placebo den gennemsnitlige kliniske score Dag 0, Dag 30 og Dag 60.

Endelig udregnes for hvert deltagende øje ændringerne: Dag 0-Dag 30 (Dyrlæge Diff 0-30) og ændringerne Dag 0-Dag 60 (Dyrlæge Diff 0-60).

Faldende klinisk score regnes for positiv, stigende klinisk score regnes for negativ.

For hver af de tre behandlingsgrupper udregnes middelværdien for Dyrlæge Diff 0-30 og Dyrlæge Diff 0-60.

Datarækken Dyrlæge Diff 0-30, henholdsvis Dyrlæge Diff 0-60 for Viacutan sammenlignes ved T-Test med samme for Placebo.

Datarækken Dyrlæge Diff 0-30, henholdsvis Dyrlæge Diff 0-60 for Pexion sammenlignes ved T-Test med samme for Placebo.

P-værdier på under 0,05 regnes for signifikante.

Microsoft-Excel bruges til at håndtere data og til de statistiske beregninger.

Klinisk score ejer

Behandles efter samme retningslinjer som "klinisk score dyrlæge".

(Den samlede kliniske score er her summen af ejerens score for "Udflåd" og "Overordnet indtryk af øjet").

"Huskerseddel"

Ved inklusionen blev der udleveret en "Huskerseddel" til ejeren. Heri var en kort beskrivelse af undersøgelsens formål og metode, og doseringen af testprodukt i antal pumpeslag pr. dag var angivet for den pågældende hund.

Resultater

Schirmerværdier

Ændring Dag 0-Dag 30

Den gennemsnitlige ændring af Schirmerværdi for Dag 0 – Dag 30 var:

Viacutan (9 øjne):	4,1
Pexion (12 øjne):	4,0
Placebo (7 øjne):	9,4

Ttest Viacutan: Placebo: $p=0,07$

Ttest Pexion: Placebo: $p=0,03$

Ændring Dag 0-Dag 60

Den gennemsnitlige ændring af Schirmerværdi for Dag 0 – Dag 60 var:

Viacutan (6 øjne):	9,5
Pexion (10 øjne):	3,3
Placebo (5 øjne):	7,0

Ttest Viacutan: Placebo: $p=0,49$

Ttest Pexion: Placebo: $p=0,14$

Klinisk score dyrlæge

Ændring Dag 0-Dag 30:

Den gennemsnitlige ændring af den kliniske score for Dag 0 – Dag 30 var:

Viacutan (9 øjne):	3,6
Pexion (12 øjne):	3,9
Placebo (7 øjne):	3,9

Ttest Viacutan: Placebo: $p=0,85$

Ttest Pexion: Placebo: $p=0,97$

Ændring Dag 0-Dag 60:

Den gennemsnitlige ændring af den kliniske score for Dag 0 – Dag 60 var:

Viacutan (6 øjne):	4,9
Pexion (10 øjne):	3,7
Placebo (5 øjne):	2,6

Ttest Viacutan: Placebo: $p=0,10$

Ttest Pexion: Placebo: $p=0,44$

Klinisk score ejer

Ændring Dag 0-Dag 30

Den gennemsnitlige ændring af den kliniske score for Dag 0-Dag 30 var:

Viacutan (9 øjne):	1,6
Pexion (12 øjne):	2,1
Placebo (7 øjne):	3,0

Ttest Viacutan: Placebo: $p=0,20$

Ttest Pexion: Placebo: $p=0,41$

Ændring Dag 0-Dag 60

Den gennemsnitlige ændring af den kliniske score for Dag 0-Dag 60 var:

Viacutan (6 øjne):	3,0
Pexion (10 øjne):	2,4
Placebo (5 øjne):	2,0

Ttest Viacutan: Placebo: $p=0,22$

Ttest Pexion: Placebo: $p=0,70$

Diskussion

Fra human side er der flere undersøgelser, som antyder at polyumættede fede syrer har en plads i behandlingen af tørre øjne. (28,32,33,34)

Humant er der tilsyneladende to ”skoler”, som på hver sin måde forklarer baggrunden for IKCS, og som på baggrund heraf taler for behandling med enten omega 3 eller omega 6 PUFA’s.

For omega 3 taler et større retrospektivt studie:

Her undersøgtes sammenhængen mellem daglig indtagelse af omega 3 og omega 6 og DES hos 32.470 kvindelige sundhedsarbejdere. (28)

Undersøgelsen viste at høj indtagelse af omega 3 PUFA er associeret med lav forekomst af DES, og at et højt omega 6/omega 3 forhold i diæten er associeret med forøget risiko for DES.

Resultaterne forklares ved omega 3 PUFA’s antiinflammatoriske virkninger: Ved KCS er inflammationen ondets rod.

Andre undersøgelser taler for omega 6.

I en nyere undersøgelse blev 50 patienter dagligt behandlet med 120 mg GLA, kunstige tårer fire til seks gange og corticosteroid øjendråber tre gange dagligt. Andre 50 patienter virkede som kontrolgruppe og blev alene behandlet med kunstige tårer fire til seks gange dagligt og med corticosteroid øjendråber tre gange dagligt. (34)

Undersøgelserperioden for den enkelte patient var 24 uger.

Undersøgelsen viste signifikant forbedring af Schirmer (STT1) værdierne efter 12 og 24 uger, og reduktion af de kliniske symptomer allerede efter en uge.

Andre eksperimentelle undersøgelser viser varierende, dog overvejende positive virkninger af tildeling af omega 6 PUFA’s til humane KCS patienter. (32,33)

De positive resultater forklares ved omega 6 PUFA’s rolle i prostaglandinsyntesen, hvor stofferne er substrat for cyclooxygenase, og omdannes til PGE1.

Det er vist, at PGE1 er en vigtig stimulator for tåreproduktionen. (35), og at oral tildeling af omega 6 PUFA's medfører en signifikant forøgelse af PGE1 indholdet i tårer. (36)

Nærværende undersøgelse viste overraskende, at forbedringen af Schirmer værdierne for placebo i forhold til Pexion (DHA) for tidsintervallet Dag 0-30 er signifikant til fordel for placebo ($p=0,03$). De øvrige ændringer af Schirmer værdierne var ikke signifikante.

Det var forventet at tildeling af PUFA ville have en positiv virkning på tåreproduktionen hos hunde med IKCS, hvilket i denne undersøgelse ikke har vist sig at være tilfældet.

Undersøgelsens mangler, især det uhomogene og meget lille patientmateriale, antages at være væsentlige årsager til, at det fortsat må regnes for uafklaret om tildeling af PUFA har en sådan positiv virkning hos hunde.

Overordnet set er forbedringen af den kliniske score for såvel dyrlæge som for ejer størst for placebo behandlede øjne Dag 0-30 og mindst for samme Dag 0-60.

Der er ikke for de to undersøgte tids intervaller (Dag 0-30 og Dag 0-60) signifikant forskel på forbedringen af den kliniske score mellem placebo- og behandlingsgrupperne ($p>0,05$).

Det var forventet at tildeling af PUFA ville dæmpe det inflammatoriske respons på øjets overflade og herved bidrage til at lindre generne ved IKCS.

Denne undersøgelse har ikke vist at det er tilfældet. Igen antages det, at undersøgelsens mangler er årsag til, at det fortsat må regnes for uafklaret om tildeling af PUFA har en sådan positiv virkning hos hunde.

Nærværende undersøgelse bidrager ikke til at afklare om den ene humane opfattelse er mere rigtig end den anden, ligesom den ikke i væsentlig grad medvirker til at afklare, om polyumættede fede syrer har en plads i behandlingen af IKCS hos hund.

En mulig årsag hertil er de få patienter, som gennemførte undersøgelsen.

En anden årsag kunne være undersøgelsens design.

I undersøgelsen indgår henviste patienter fra almindelig praksis. Nogle henviste patienter har givet været i relevant behandling i længere tid inden henvisningen, andre har været i mere eller mindre tilfældig behandling i kortere eller længere tid, andre igen er henvist ubehandlede.

Det uhomogene patientmateriale gør det vanskeligt at vise en effekt af behandlingen.

Ved fremtidige undersøgelser bør der sikres et mere homogent patientmateriale.

Det kan ske ved en "load up" periode på måske 2 måneder, hvor samtlige patienter inden undersøgelsen behandles ens, eksempelvis med CsA og en antibiotika/steroid kombination.

En tredje årsag kunne ligge i undersøgelsens varighed. Det er næppe en tilfældighed at den mest overbevisende humane undersøgelse følger den enkelte patient i 24 uger. Nærværende undersøgelse fulgte den enkelte patient i 8 uger, hvilket givet er for kort tid.

På trods af sine klare mangler viser denne undersøgelse nogle interessante tendenser.

Såvel udviklingen i Schirmer værdierne, som udviklingen i den kliniske score støtter antagelsen om, at en eventuel virkning af behandling med PUFA's først ses efter længere tids behandling, og at fremtidige undersøgelser derfor bør følge patienterne over længere tid end 8 uger.

Interessant er især ændringen af den gennemsnitlige kliniske score for dyrlæge Dag 0-60, som for Viacutan bevæger sig fra værdien 3,6 Dag 0-30, til værdien 4,8 Dag 0-60. Tilsvarende værdier for Placebo er: Dag 0-30: 3,9, Dag 0-60: 2,6. (T-Test Viacutan-Placebo Dag 0-60: $p=0,10$)

Igen er det nærliggende at antage, at en længere undersøgelses periode er relevant.

På baggrund af humane undersøgelser og tendenserne i resultaterne af denne undersøgelse konkluderes det, at det fortsat er relevant at undersøge om oral tildeling af PUFA's har en plads i behandlingen af IKCS hos hunde.

Mange patienter må, på trods af intensiv behandling med gængse midler, leve med kronisk kerato-konjunctivitis og de gener og den smerte det medfører.

Især ændringen af den gennemsnitlige kliniske score for Dyr læge Dag 0-60 for Viacutan (omega 6), i forhold til samme for placebo ($p=0,10$), sammenholdt med nærværende undersøgelses åbenbare mangler, gør fremtidige undersøgelser relevante.

Referencer

1. Kaswan RL, Sailsbury MA: A new perspektive on canine keratoconjunctivitis sicca. Treatment with ophthalmic cyclosporine. *Vet Clin North Am, Small Anim Pract* 1990, *20(3)*, 583-613.
2. Yokoi N, Komuro A: Non-invasive methods of assessing the tear film. *Exp Eye Res* 2004, *78(3)*, 399-407.
3. Sack RA, Conradi L, Krumholz D, Beaton A, Sathe S, Morris C: Membrane array characterization of 80 chemokines, cytokines and growth factors in open- and closed-eye tears: angiogenin and other defence system constituents. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005, *45(4)*, 1228-1238.
4. Sanjay S, Chee-Chew Y: Is there a role for nutritinal supplements in dry eye? *Ann Acad Med Singapore* 2007, *36(Suppl)*, 45-49.
5. Behrems A, et al.: Dysfunctional tear syndrome study group. Dysfunctional tear syndrome: a Delphi approach to treatment recommendations. *Cornea* 2006, *25*, 900-907.
6. Moore CP, Collier LL: Ocular surface disease associated with ther loss of conjunctival goblet cells in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 1990, *26*, 458-465.
7. Corfield AP, Donapathy SR, Carrington SD, Hicks SJ, Schauer R, Kohla G: Identification of 9-o-acetyl-N-acetylneuraminoacid in normal canine pre-ocular tear film secreted mucins and its depletion in Keratconjunctivitis sicca. *Glycoconjugate journal* 2005, *22(7-9)*, 409-416.
8. Ofri R, Orgad K, Kass PH, Dikstein S: Canine meibometry: Establishing baseline values for meibomian gland secretions. *The Vet J* 2007, *74(3)*, 536-540.
9. Aguire GD et al.: Keratoconjunctivitis sicca in dogs. *JAVMA* 1971, *159(9)*, 1566-1579.
10. Helper LC et al.: Surgical induction of keratoconjunctivitis sicca in the dog. *JAVMA* 1974, *165(2)*, 172-174.
11. Kaswan RL, Martin CL, Chaspman WL: Keratoconjunctivitis sicca: Histopathologic study of nictitating membrane and lacrimal glands from 28 dogs. *Am J Vet Res* 1984, *45*, 112-118.
12. Kaswan RL, Martin CL, Dawe DL: Rheumatoid factor determination in 50 dogs with keratoconjunctivitis sicca. *J Am Vet Med Assoc* 1983, *183*, 1073-1075.
13. Kaswan RL, Martin CL, Dawe DL: Keratoconjunctivitis sicca: Immunological evaluation of 62 canine cases. *Am J Vet Res* 1985, *46(2)*, 376-383.
14. Shabo AL, et al: Electron microscopic localization of a blood-tear barrier to tracer protein in the primate lacrimal gland. *Lab invest* 1973, *28(2)*, 185-193.

15. Jabs DA, Prendergast RA: Reactive lymphocytes in lacrimal gland and vasculitis renal lesions of autoimmune MRL/LPR mice express L3T4. *J Exp Med* 1987, *166*, 1198-1203.
16. Fox RI: Sjögrens syndrome: immunobiology of exocrine gland dysfunction. *Adv Dent Res* 1996, *1*, 35-40.
17. Gilger BC, Andrews J, Wilkie DJ, et al.: Cellular immunity in dogs with keratoconjunctivitis sicca before and after treatment with topical 2% cyclosporine. *Vet Immunol Immunopathol* 1995, *3*, 199-208.
18. Izci C, Celik I, Alkan F, Ogurtan Z, Ceylan C, Sur E, Ozkan Y: Histologic characteristics and local cellular immunity of the gland of the third eyelid after topical ophthalmic administration of 2% cyclosporine for treatment of dogs with keratoconjunctivitis sicca. *AJVR* 2002, *63* (5), 688-694.
19. Salisbury MA, Kaswan RL, Ward DA, Martin CL, Ramsey JM, Fischer CA: Topical Hosp Ass 1990, *26*, 269-274.
20. Rhea MV, Abrams KL: Topical administration of cyclosporine for treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs. *JAVMA* 1991, *199*(8), 1043-1046.
21. Olivero DK, Davidson MG, English RV, Naisse MP, Jamieson VE, Gerig TM: Clinical evaluation of 1% cyclosporine for topical treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs. *JAVMA* 1999, *199*(8), 1039-1042.
22. Sansom J, Barnett KC, Neumann W, Schulte-Neumann A, Clerc B, Jegou JP, Hass V.de, Weingarten A: Treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs with cyclosporine ophthalmic oniment: a european clinical field trial. *Vet Rec* November 1995, *11*, 504-507.
23. Berdoulay A, English RV, Nadelstein B: Effect of 0,02% tarcolimus aqueous suspension on tear production in dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Vet Ophth.* 2005, *8*(4), 225-232.
24. Nell B, Walde I, Billich A, Vit P, Meingassner JG: The effect of topical pimecrolimus on keratoconjunctivitis sicca and chronic superficial keratitis in dogs: results from an exploratory study. *Vet Ophth.* 2005, *8*(1), 39-46.
25. Lægemedelstyrelsens produktresumé for Optimune vet.
26. Summary of product characteristics, Optimune Ophthalmic Oniment. 15.04.02. EMEA homepage.
27. Moore CP: Immunomodulating agents: *Vet Clin. North Am Small Anim Pract* 2004, *34*, 725-732.
28. Miljanovic B, Trivedi KA, Reza Dana M, Gilbard P, Buring JE, Schaumberg DA: The relationship between dietary n-3 and n-6 fatty acids and clinically diagnosed dry eye syndrome in women. *Am J Clin Nutr.* 2005, *82*(4), 887-893.

29. Srinivasan S, Tip CC: Is there a role for nutritional supplements in dry eye? *Ann Acad Med Singapore* 2007, 36(Suppl), 45-49.
30. Pizato N, Bonatto S, Piconcelli M, Scouza, de LM, Sasaki GL, Nailwaiko K, Nunes EA, Curi R, Calder PC, Fernandes LC: Fish oil alters t-lymphocyte proliferation and macrophage responses in Walker 256 tumorbearing rats. *Nutrition* 2006, 22(4), 425-432.
31. Shaikh SR, Edidin M: Immunosuppressive effects of polyunsaturated fatty acids on antigen presentation by human leucocyte antigen class I molecules. *Journal of Lipid Research* 2007, 48, 127-138.
32. Barabbino S, Ronaldo M, Camicione P, Zanardi S, Cro M, Giuffrida S, Calabria G: Efficacy of systemic linoleic and gamma-linolenic acid therapy in dry eye syndrome with inflammatory component. *Invest ophthalmol vis sci* 2002, 43.
33. Macri A, Giuffrida S, Amico V, Iester M, Traverso CE: Effect of linoleic and gamma-linolenic acid on tear production, tear clearance and on the ocular surface after photorefractive keratectomy. *Graefes arch clin exp ophthalmol* 2003, 41, 561-566.
34. Shamara AK, Raj H, Pandita A, Tandon VR, Mahajan A: Gamma linolenic acid in dry eye. *J med educ and research* 2006, 8, 24-27.
35. Pholpramool C: Secretory effect of prostaglandins on the rabbit lacrimal gland in vivo. *Prostaglandins Med* 1979, 3, 185-192.
36. Aragona P, Giuffrida S, Bucolo C, Cro M, Spinella S, Ferreri F, Ferreri G: Tear PGE1 levels in dry eye patients after treatment with essential fatty acids. *Invest ophthalmol vis sci*. 2001, 42(4), 5259.