

## Slutrapport

### Bakgrund

Projektet hade till målsättning att bidra till förbättrade behandlingsmöjligheter av hästar som drabbas av överkänslighetsreaktioner och utvecklar allergisk dermatit/sommareksem. Ett stort problem som begränsar möjligheten att hålla hästar utomhus under sommarhalvåret är sk sommareksem, en överkänslighetsreaktion mot saliven hos bitande insekter (ffa *Culicoides*). Allergisk dermatit/sommareksem drabbar olika hästraser över hela världen. Studier från Holland har visat en prevalens på 8 % hos shetlandspionny (1) och 18 % hos friesisk häst (2). I British Columbia drabbades 26 % av hästbeståndet (3) och 4 % av fullbloden i Hokkaido, Japan (4). I Sverige är sjukdomen mest uppmärksammas hos islandshästen framförallt islandsfödda importerade hästar där ca 25% av dessa drabbas (5). Intresset för islandshästar har ökat kraftigt under hela 1990-talet. Det fanns år 2000 ca 15 000 islandshästar i Sverige och det är den fjärde största rasen (6). Sjukdomen innebär en intensiv klåda som orsakar hästarna stort lidande. Klådan leder till att hästarna kan klia sönder stora hudområden, främst är det hals (mankammen) och bakdel (svansroten) som drabbas. Effektiv medicinsk behandling kan vara systemisk tillförsel av glukokortikoider men risken för allvarliga bieffekter (t ex fång) begränsar användningen. Idag är djurägarna hänvisade till att försöka begränsa djurens exponering för knotten genom att använda insektsmedel och heltäckande sk knotttäck. I många fall måste hästarna hållas installade under en stor del av betessäsongen vilket orsakar problem framförallt för islandshästnäringen eftersom den hästhållningen oftast är extensiv.

Inom humanmedicinen används antihistaminer ( $H_1$ -antagonister) framgångsrikt vid allergiskt betingade hudlidanden. Vid allergiska tillstånd binder allergener till IgE på mastceller, vilket aktiverar dessa celler. Ett av flera inflammatoriska ämnen som därmed frisätts från mastcellerna är histamin. Histamin orsakar reaktioner som medieras via specifika receptorer som finns uttryckta på många olika celltyper. Bland annat stimuleras sensoriska nervändslut vilket ger upphov smärta och intensiv klåda, samtidigt som ökad kärlpermeabilitet ger ödem och rodnad i huden. Om histamin injiceras intradermalt uppstår ett lokalt ödem och på opigmenterad hud kan även en rodnad ses. Utvecklingen av ödem hämmas – i likhet med den histaminorsakade allergiska reaktionen – vid behandling med  $H_1$ -antagonister (7). De kliniska symtom som ses på hästar med sommareksem kan också hämmas med antihistamin om detta sprutas lokalt i huden (8) och därför kan man anta att histamin är en viktig orsak till den allergiska reaktionen även vid denna sjukdom.

Av apoteksbolagets förskrivningsstatistik framgår att  $H_1$ -antagonister förskrivs till häst i viss omfattning. Detta trots att doseringsanvisningarna är mycket osäkra. De två vanligaste förskrivna medlen är Tavegyl<sup>®</sup> (klemastin) och tidigare Teldanex<sup>®</sup> (terfenadin). Teldanex<sup>®</sup> (terfenadin) är undersökt kliniskt i en liten pilotstudie och från den kan man dra slutsatsen att det är rimligt att anta att terfenadin har en viss effekt på sommareksem på häst men att vidare studier krävs för att bekräfta detta (9). En svaghet i studien med terfenadin var att det inte framgår om den (enda) använda dosen var optimal. Teldanex<sup>®</sup> har dessutom utgått från det svenska sortimentet sen 2002.

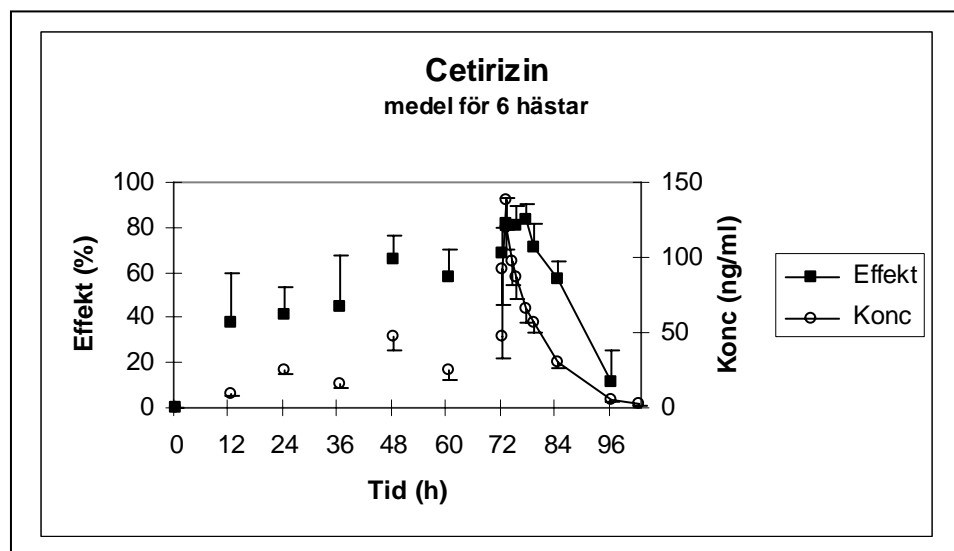
### Tidigare forskning

Vi har tidigare undersökt klemastin (Tavegyl<sup>®</sup>) i en modell på häst där vi studerat förändringen i plasmakoncentration över tid efter administrering och jämfört halten läkemedel med effekten mätt som hämning av histamininducerad hudreaktion (av samma slag som vid en allergitest). Det visade sig att klemastin, vid intravenös giva till hästarna, har god förmåga

att hämma hudreaktionen precis som på människa men att halveringstiden i plasma var ganska kort, troligtvis beroende på snabb metabolism av substansen. Klemastintabletter (Tavegyl<sup>®</sup>) togs däremot inte upp från mag-tarmkanalen på häst. Detta innebär att klemastin inte är lämpligt att använda vid sommareksem på häst (10).

Med stöd av SSH – Stiftelsen Svensk Hästforskning har vi undersökt ytterligare två antihistaminer. Fexofenadin som på människa har lång halveringstid samt metaboliseras i ringa omfattning samt cetirizin som på människa tas upp från mag-tarmkanalen i hög grad och har bra halveringstid. På häst visade det sig att fexofenadin liksom klemastin tas upp från mag-tarmkanalen i mycket ringa grad och halveringstiden var kort (11). Detta innebar att vi inte arbetade vidare med den substansen utan valde att fortsätta med cetirizin i syfte att finna ett lämpligt antihistamin till häst som kan ges via munnen.

Försök utfört under våren -05 visade att cetirizin kan vara ett lämpligt antihistamin till häst (12, 13). Sex hästar hade fått upprepade tillförelser av cetirizin (0.2-0.4 mg/kg) via inblandning i foder 2 ggr dagligen sammanlagt 7ggr i 3.5 dygn. Blodprover, för att mäta läkemedelskoncentrationerna i plasma, togs omedelbart före varje läkemedelsdosis och efter sista givan togs blodproven med tätare intervall. Effekten av läkemedlet mättes som hämning av histamininducerad (7 µg) hudreaktion. Resultaten (fig.1) visade att cetirizin togs upp från mag-tarmkanalen i tillräckligt hög grad och att halveringstiden var ca 5h vilket är en lämplig kinetik för eventuell behandling av sommareksem hos häst. Effekten dvs reducering av histaminkvaddelns storlek kvarstod klart upp till 12h och var som störst (80-90%, 100% innebär fullständig hämning av histaminkvaddeln) ca 4 h efter administrering av läkemedlet (fig. 1). Effekten av cetirizin är väl korrelerad till koncentrationen av läkemedel i plasma.



**Fig 1.**

Plasmakoncentrationen (○) och effekt (■) av cetirizin efter oral giva till häst (medel ± SD, n=6). Cetirizin 0.2mg/kg gavs vid 0, 12h, 24h och 0.4mg/kg vid 36h, 48h, 60h och 72h. Blodprover togs omedelbart före varje giva av cetirizin dvs var 12h Effekten har mätts genom hudtester med histamin och anges i %.

Trots att mycket tyder på att H<sub>1</sub>-antagonister skulle vara lämpliga vid behandling av sommareksem och att stort behov föreligger finns det alltså idag ingen vetenskaplig grund för att rekommendera Sveriges veterinärer att föreskriva någon substans ur den gruppen av läkemedel. De tidigare experimentella studierna av cetirizin har fastställt en lämplig oral doseringsregim till häst för att behandla hudlidanden som är orsakade av histaminfrisättning. Målet med projektet var att undersöka om antihistamin är en effektiv behandling vid så kallat sommareksem hos häst.

## Material och metoder

### Hästar

De hästarna, 157 st, som ingick i studien hade alla en anamnes med minst 2 års lidande av allergisk dermatit sk sommareksem. Hästarna var av olika raser, kön och ålder och var lokaliserade från Skåne till Bygdsiljum i närheten av Umeå. De flesta hästar som ingick i studien var dock från gårdar i Mellansverige. Under försökets gång hanterades hästarna som vanligt. Alla hästar var ute på bete men ett stort antal stallades in under natten. Försöket var godkänt av Uppsala djurförsöksetiska nämnd, diariernr C40/6.

### Inklusionskriterier för hästarna i studien

Hästarna skall ha varit drabbade av sommareksem under åtminstone de två föregående betessäsongerna; Alla hästraser; Eksemen skall vara måttliga till kraftiga, Det skall finnas minst två eksemhästar på samma ställe; Hästarna skall ej vara dräktiga; Alla eksemhästarna inom studien skall hållas under så likartade förhållanden som möjligt. Inom varje besättning måste varje par behandlas identiskt; Måste någon häst åtgärdas för sitt eksem med t.ex. stallvistelse över natten, insektsrepellerande medel under dagen eller täcke så måste även den matchande hästen ha samma behandling; Måste ytterligare utvärtes eller invärtes behandling göras, t.ex. medicinsk behandling eller behandling med naturläkemedel, för att hästarna som ingår i studien inte ska utsättas för ökad grad av lidande, så kan djurägaren vidta dessa åtgärder efter kontakt med forskargruppen.

### Försöksupplägg

Fanns fler än 2 hästar på gården matchades dessa parvis. På några gårdar var det 3 hästar som jämfördes med varandra. De hästar som ingick i paret bedömdes av ägarna/skötarna att de hade ungefär samma svårighetsgrad av eksem med utgångspunkt från bedömning av besvär under tidigare betessäsonger. Studien var upplagd som en dubbel blindtest, dvs både behandlande veterinär och djurägaren/skötaren var ovetande om hästen fått placebo eller cetirizin. Hästarna inom paret lottades till antingen placebo (kombination av natriumcyklammat och natriumsackarin, Suketter bit, Cederroth International) eller cetirizin (Cetirizin BMM Pharma tablets, 10 mg, Biochemie) med doseringen 0,4 mg/kg 2 ggr dagligen i 3 veckor. När hästarna hade symptom på sitt eksem, dvs. de hade börjat klia sig ordentligt, kontaktades den veterinär som djurägaren hänvisats till i samband med utskick av medicinerna. Blodprov för läkemedelsanalys togs före insatt behandling och efter avslutad behandling. Vid blodprovstagning efter avslutad behandling antecknades tiden mellan sista läkemedelsgivan och blodprovet (1h – 42h). Blodet centrifugerades och plasman sändes in för analys av läkemedelsinnehåll. Plasman förvarades i -20° C tills analys.

### Klinisk utvärdering av dermatiten

Sexton veterinärer medverkade i studien och genomförde den kliniska utvärderingen samt tog blodproverna. Det var alltid samma veterinär som undersökte hästarna före och efter avslutad behandling. Ett standardiserat protokoll hade sänts ut till djurägarna tillsammans med läkemedel respektive placebo. Veterinärerna bedömde 13 olika områden och antecknade vilka och hur grava förändringarna var för varje lokalisering (se tabell 1). Dessutom noterades om hästarna hade så kallat insektstäcke och om de stallades in under natten.

**Tabell 1.** Specificering av symtom före och efter behandling

Lokalisation	Svullnad (0-3)	Krustor (0-3)	Sår (0-3)	Hud-förtjockning (0-3)
1 huvud				
2 öron				
3. mankam				
4 hals				
5 bröstvirvlar				
6 korset/ryggen				
7 bålen				
8 buken/buklinjen				
9 flankvirvlar				
10 lår				
11 framben				
12 bakben				
13 svansrot				

0=utan anmärkning, 1= lindrig förändring, 2=måttlig förändring, 3=kraftig förändring

### Kemisk analys

Analysen av ceterizin i hästplasma gjordes med hjälp av *liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry* (LC-ESI-MS/MS) (13).

### Farmakokinetisk analys

Plasmakoncentrationen av cetirizin plottades mot tid för varje häst och data analyserades med hjälp av en kommersiellt tillgänglig programvara (Win Nonlin 5.0.1<sup>®</sup>, Pharsight Corporation, Mountain View, CA, USA). En icke-kompartiment-modell anpassad för ett fåtal datapunkter användes i analysen. Halveringstiden beräknades med hjälp av lutningen på den terminala fasen.

### Statistisk analys

En linjär kovariansanalysmodell med fixa och slumpmässiga faktorer användes för att jämföra effekten av ceterizin och placebo före och efter behandling. Dermatitens svårighetsgrad användes som kovariat i modellen. I modellen ingick behandling (cetirizin eller placebo) som fixa faktorer och gård som slumpmässig faktor. De ingående hästparen ingick i modellen som block inom gårdarna. SAS procedur Mixed användes vid analysen (SAS Institute Inc. (2004): SAS/Stat 9.1, User's Guide. Cary, N. C., SAS Institute Inc.).

Samma statistiska modell har även använts för att analysera effekten av installning och insektstäcke.

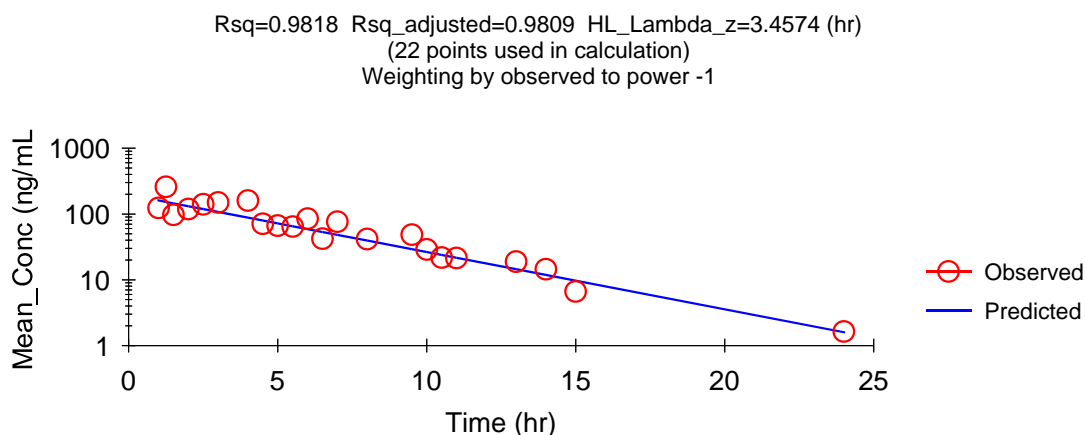
Statistisk signifikans ansågs föreligga då  $p < 0,05$ .

## Resultat och diskussion

Totalt 34 hästpar (68 hästar) utgick ur studien. Hästar utgick ur studien på grund av olika anledningar. Några djurägare fullföljde inte behandlingen utan synbar anledning. Två hästar fick utgå pga misstänkt allergisk reaktion på cetirizin under behandlingen som därmed avbröts. De drabbade hästarna blev återställda inom några dagar. Andra orsaker för att utgå var dräktighet, hästar som inte utvecklade dermatit eller det att djurägarna inte sände in protokollen efter avslutad studie. Åtta hästar behandlade med placebo hade mätbara koncentrationer av cetirizin i plasma (0,2-0,74 ng/mL) vid avslutad behandling och alla dessa samt deras parhästar utslöts ur studien. Det kan finnas flera orsaker till att även placebohästarna hade cetirizin i blodet. Ägarna/skötarna kan ha förväxlat placebo och

läkemedel samt att många har löstagbara krubbor vilka då om de inte görs rent ordentligt kan innehålla läkemedelsrester och kontaminera placebohästarna. Inga hästar hade påvisbara koncentrationer av cetirizin innan studien startade

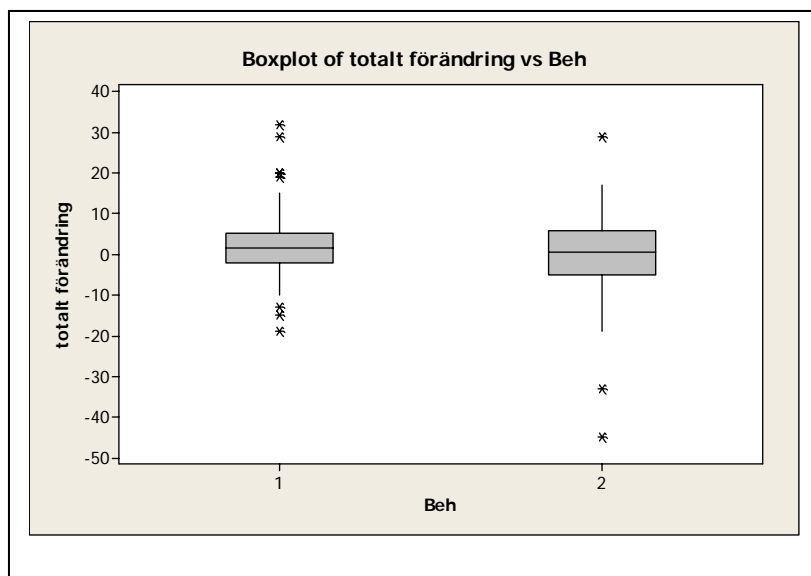
De kvarvarande 89 hästarna på 32 gårdar var delade på 42 grupper (37 par och 5 grupper med 3 hästar) varav 45 st fick cetirizin och 44 fick placebo. Det var 49 ston, 39 valackar och 1 hingst kvar i studien. Av kvarvarande hästar var majoriteten (66%) islandshästar. Av de 45 hästar som behandlats med cetirizin fanns blodprov från 42 st, vilka alla hade mätbara och förväntade koncentrationer av cetirizin. Blodprover fanns från 1-24h efter avslutad behandling. Se fig. 2.



**Fig 2.** Koncentrationen av cetirizin i hästplasma olika tider efter avslutad behandling 0,4 mg/kg 2 ggr dagligen (n=42).

Halveringstiden för cetirizin efter 3 veckors oral behandling var 3,5 h vilket är kortare än tidigare noterade halveringstiden på ca 5h (4,1-5,9h). De beräknade värdena för 1h efter sista behandling ( $C_{max} = 211$  ng/ml) och för 12h ( $C_{min} = 23$  ng/ml) stämmer väl med tidigare undersökning (13). Detta indikerar att cetirizin inte orsakar kliniskt relevant induktion/hämning av metaboliserande enzymer eller transportproteiner. Skillnaden i halveringstiden beror sannolikt på en viss osäkerhet i beräkningen i denna studie eftersom de flesta mätpunkter är före 15h (det är endast en mätpunkt vid 24h) och i den tidigare undersökningen följdes förloppet i 30 h. I vår tidigare experimentella undersökning på cetirizin till häst fastställdes ett  $EC_{50}$  på 18 ng/ml (13). Koncentrationerna av cetirizin i plasma som uppmättes i denna studie inom dosintervallet ( $C_{min} = 23$  ng/ml) var högre än  $EC_{50}$ -värdet vilket indikerar att hästarna hade ett gott antihistaminskydd under behandlingen.

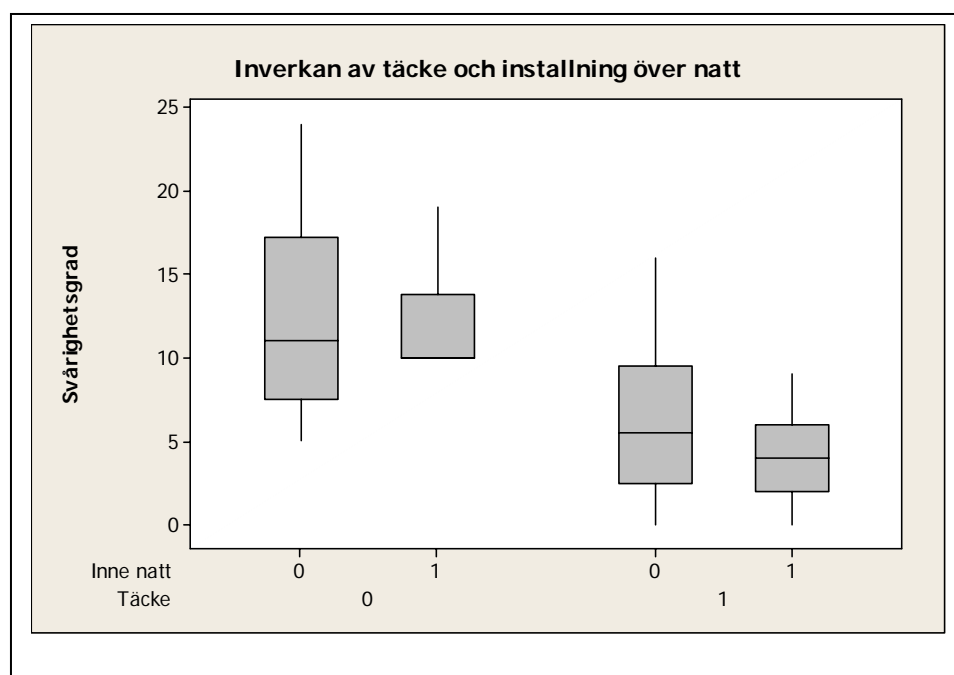
Det påvisades ingen skillnad i dermatit mellan placebogruppen och cetirizingruppen (fig. 3).



**Fig 3.** Förändring i svårighetsgrad av eksemet efter 3v behandling med cetirizin 0,4 mg/kg 2 ggr dagligen. 0 = ingen förändring >0= förbättring och <0=försämring. 1= placebo och 2=cetirizin. Ingen skillnad noterades i behandlingsresultat mellan placebo och cetirizin.

Många hästägare och även medverkande veterinärer upplevde stora skillnader mellan de 2 hästarna som ingick i paren. Det fanns hästar som nästan var helt symtomfria efter behandlingens slut men när koden bröts visade det sig att det lika ofta var placebohästen som var symtomfri som den häst som behandlats med cetirizin. En förklaring till att den förväntade effekten av cetirizin uteblev kan bero på att dermatiten inte är medierad av IgE och därmed ingen histaminfrisättning. Nyligen publicerad forskning antyder att det kan vara störningar i det cellmedierade immunsystemet som kan vara bidragande orsak till dermatiten (14). Andra orsaker kan vara att andra frisatta mediatorer har större betydelse än histamin för att utveckla klådan vilken är det stora bekymret eftersom hästens intensiva kliande leder till svåra lesioner. Undersökningen visade att gården har stor betydelse för dermatitens svårighetsgrad. Det beror troligtvis på att förekomsten av knott varierar beroende på biotopen men även att hästarna sköttes olika på olika gårdar.

Hästar som varit installerade under natten och haft insektstäcke hade betydligt mindre besvär än hästar som gått ute utan något insektsskydd ( $p < 0.05$ ) (fig 4).



**Fig 4.** Inverkan av täcke och inställning under natten. De 2 plottarna till vänster visar hästar **utan täcke**: 0 är hästar som även gick ute hela dygnet, 1 är hästar som var inne på natten. De 2 plottarna till höger är hästar **med täcke**: 0 är hästar som gick ute natt, 1 är hästar som stod inne under natten. De hästar som hade täcke och stod inne under natten var betydligt bättre än hästar som gått ute utan täcke ( $p < 0.05$ ).

Slutsatserna är att hästar med insektstäckan och som stallades in under natten och därmed skyddade från knotten hade endast lindrig dermatit. Antihistamin hade troligtvis en mindre betydelse för att hindra symptomens utveckling och kan inte rekommenderas för behandling av sommareksem.

## Publikationer

Lena Olsén\*, Ulf Bondesson<sup>§</sup>, Hans Broström<sup>#</sup>, Hans Tjälve\*, Ulf Olsson<sup>¶</sup>, Behnaz Mazogi<sup>¶</sup>, Marie Sundqvist, Carina Ingvast-Larsson\*. Sweet itch in horses, effect and pharmacokinetics of cetirizine. Manuskript. Ska sändas till veterinärmedicinsk referee-granskad vetenskaplig tidskrift.

## Populärvetenskaplig sammandrag och muntliga presentationer.

Ingvast-Larsson, C and Olsén L. Sommareksem – hindra och lindra. Hippocampusdagarna SLU, Uppsala. 25-26 oktober 2006. (Invited speaker)

<http://www2.slu.se/hippocampus/2006/hippocampusdagarna06.pdf>

Olsén L. Behandling av häst med antihistaminer. Seminarium SVA/SLU den 14 dec. 2006.

Olsén L. Behandling av häst med antihistaminer. Seminarium i samband Göteborg Horse Show den 22/2, 2007.

Vi avser även att publicera i veterinärtidningen och i facktidningar inom hästsporten såsom Ridsport och Islandshästen.

## Referenser

- 1) Kapell D. Genetics of insect hypersensitivity in the Dutch Shetland Pony, Thesis, Wageningen 2005
- 2) Anouk de Ruyter :Inheritance of insect bite hypersensitivity in Friesian horses, Thesis, Wageningen 2005
- 3) Anderson, G., Belton, P., and Kleider, N. The Hypersensitivity of Horses to Culicoides Bites in British Columbia. *Canadian Veterinary Journal*. 1988. 29: 718-723
- 4) Nakamura, R., Matsuhashi, A. Yamashita, N. and Yamamoto, T. Studies on kassen of horses in Hokkaido. III. Research on the actual state of the disease. *Japanese Journal of Veterinary Research*. 1956. 4: 81-88
- 5) Broström H, Larsson Å & Troedsson M. Allergic dermatitis (sweet itch) of icelandic horses in Sweden: an epidemiological study. *Equine Vet J* 1987, 19:229-36.
- 6) En svensk hästpolitik (SOU 2000:109)
- 7) Rang HP, Dale MM & Ritter JM. *Pharmacology*. Churchill Livingstone, Edinburgh 1999. Sid 210-213, 240-242.
- 8) Foster AP, Mc Kelvie J & Cunningham FM. Inhibition of antigen-induced cutaneous responses of ponies with insect hypersensitivity by the histamine-1-receptor antagonist chlorpheniramine. *Vet Rec* 1998, 143:189-93.
- 9) Sundquist M & Broström H. Terfenadine treatment in summer eczema. Abstracts, XVII Nordic Veterinary Congress, Reykjavik, Iceland 1994. p 61.
- 10) Törneke K, Ingvast-Larsson C, Pettersson K, Bergvall K, Hedeland M, Bondesson U & Broström H. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of clemastine in healthy horses. *J Vet Pharmacol Therap* 2003, 26:151-157.
- 11) Olsén L., Ingvast-Larsson C., Larsson P., Broström H., Bondesson U., Sundqvist M. & Tjälve H. Fexofenadine in horse: pharmacokinetics, pharmacodynamics and effect of ivermectin pre-treatment on pharmacokinetics of the drug. *J. vet. Pharmacol. Therap*. 2006, 29, 129-135.
- 12) Olsén L., Broström H., Tjälve H., Bondesson U. and Ingvast-Larsson C. Cetirizine in healthy horses – oral pharmacokinetics and antihistaminic effect. *J. vet. Pharmacol. Therap*. 2006 Sept;29 Suppl 1:251.
- 13) Olsen L, Bondesson U, Brostrom H, Tjalve H, Ingvast-Larsson C. Cetirizine in horses: Pharmacokinetics and pharmacodynamics following repeated oral administration. *Vet J*. 2007, 18; [Epub , in press]
- 14) Hamza E, Doherr MG, Bertoni G, Jungi TW, Marti E. Modulation of allergy incidence in icelandic horses is associated with a change in IL-4-producing T cells. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007;144(4):325-37.