



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Effekt av oralt administrerat cetirizin på histamininducerade kvaddlar hos hund

Paula Hanson

*Uppsala
2015*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2015:71*

Effekt av oralt administrerat cetirizin på histamininducerade kvaddlar hos hund

Effect of cetirizine on histamine induced wheal formation in dogs after oral administration

Paula Hanson

Handledare: Lena Olsén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Biträdande handledare: Carl Ekstrand, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator: Jonas Tallkvist, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0751

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2015

Delnummer i serie: Examensarbete 2015:71

ISSN: 1652-8697

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

Nyckelord: antihistamin, farmakodynamik, sedativ

Key words: antihistamine, pharmacodynamic, sedative

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

SAMMANFATTNING

Antihistaminer utgör ibland en del av behandlingen av hundar som lider av atopisk dermatit (AD), en allergisjukdom som ger hudinflammation. Den mest effektiva farmakologiska behandlingen av AD är glukokortikoider. Denna är dock förknippad med många biverkningar varav flera kan vara allvarliga. För att kunna minska glukokortikoiddosen hos de behandlade hundarna behövs kompletterande läkemedel. Läkemedel ur gruppen antihistaminer används i stor utsträckning vid allergiska tillstånd hos människa och även försöksvis till hund men det finns ett behov av studier för dessa preparat givna till hund. Då det saknas registrerade preparat för användning till hund används humanpreparat enligt den så kallade kaskadprincipen. Tidigare försök på hund indikerar att cetirizin hämmar uppkomsten av kvaddlar (lokala svullnader) i huden efter injektion med histaminlösning. Detta tyder på antihistamineffekt hos substansen, vilket kan vara en positiv egenskap vid behandling av hundar med allergisk dermatit (hudinflammation).

För denna studie valdes cetirizin vilket förskrivs till hundar i Sverige idag. Försöket var en randomiserad, blindad studie med *cross-over design* av cetirizin givet peroralt till åtta friska försökshundar. Fyra hundar fick cetirizin i doser om 4 mg/kg kroppsvikt en gång dagligen i tre på varandra följande dagar medan fyra hundar fick 4 mg/kg kroppsvikt som startdos följt av 2 mg/kg kroppsvikt de två följande givorna. Hundarna injicerades upprepade gånger med histaminlösning i huden och de uppkomna kvaddlarnas diameter mättes med ett digitalt skjutmått 20 minuter efter injektion. Arbetets syfte är att undersöka vilken effekt cetirizin har på histamininducerade kvaddlar jämfört med placebo och innan någon behandling inleddes.

Arbetet omfattar även en beteendestudie där förekomst av beteenden som antas ha betydelse för grad av dåsighet hos hundarna jämfördes under cetirizin- respektive placebobehandling. Detta då dåsighet är en av biverkningarna som rapporterats av antihistaminer givna till hund. Hundarna hölls i sin hemmiljö och filmades 1,5–2,5 och 3-4,5 timmar efter läkemedelgiva under försökets första två dagar. Varje hund observerades fyra minuter åt gången då momentana beteenden registrerades var 20:e sekund. Detta upprepades var 20:e minut under ovan nämnda tidsintervall.

Den dosregim som utvärderades i den här studien gav statistiskt signifikant storleksskillnad mellan histamininducerade kvaddlar hos placebobehandlade respektive cetirizinbehandlade hundar. Kvaddlar uppkomna under cetirizinbehandling skilde sig även signifikant från histamininducerade kvaddlar uppkomna före behandling (nollvärdet). Fullständig inhibition av histamininducerade kvaddlar förekom som maximal effekt hos sju hundar medan en hund hade en maximal inhibition på 81 %.

I beteendestudien kunde inga signifikanta skillnader påvisas i beteenden som kan anses vara av betydelse för att avgöra grad av dåsighet under de olika behandlingarna. Fyra av åtta hundar exkluderades dock ur studien av olika skäl.

Sammantaget visar den här studien att cetirizin i doser om 2-4 mg/kg en gång dagligen har god inhiberande effekt på histamininducerade kvaddlar i huden hos friska försökshundar efter peroral administration. Dosvariationen mellan hundarna gav inga signifikanta skillnader vad gäller kvaddlarnas storlek. Ingen signifikant skillnad påvisades gällande grad av dåsighet hos hundarna under cetirizinbehandling jämfört med placebobehandling. Framtida väl genomförda kontrollerade kliniska studier krävs för att utvärdera huruvida cetirizin är användbart vid AD på hund.

SUMMARY

Antihistamines are sometimes used in the treatment of dogs suffering from atopic dermatitis (AD), an allergic disease which causes inflammation of the skin. The most efficient pharmacological treatment of AD is glucocorticoids. However, this treatment is associated with a number of adverse effects of which some may be severe. Considering this, supplement drugs are used with the aim to decrease glucocorticoid exposure. Antihistamines are commonly used in the treatment of allergic disorders in humans and are also given to dogs. Due to the absence of antihistamines approved for use in dogs, drugs registered for humans are used. Even though antihistamines are used clinically, studies on these compounds given to dogs are scarce. Previous studies in dogs suggest that cetirizine inhibits wheal formation in the skin following injections of histamine. Therefore, the antihistamine properties of cetirizine could be beneficial when treating allergic dermatitis (skin inflammation) in the dog.

In the present study cetirizine was chosen as it is currently prescribed to dogs in Sweden. The trial was a randomised, blinded study with *cross-over* design where cetirizine was given orally to eight healthy beagle dogs. Four dogs were given cetirizine in doses of 4 mg/kg body weight once daily for three succeeding days while four dogs were given an initial dose of 4 mg/kg body weight followed by 2 mg/kg body weight the two remaining administrations. The dogs were repeatedly injected with histamine solution in the skin where the wheal's diameters were measured with a digital digital caliper 20 minutes after injection. In this report cetirizine's effect on histamine induced wheal formation in the skin was compared to placebo and to before treatment was initiated.

The report also includes a behavioural study where cetirizine's sedative effect was studied since sedation is a reported adverse effect in dogs given antihistamines. The dogs were kept in their home environment and was filmed at 1.5-2.5 and 3-4.5 hours after drug administration the first two days of the trial. Each dog was observed four minutes at a time during which behaviours were recorded every twentieth second. This was repeated every twentieth minute during the time of observation mentioned previously.

The doses used in this study resulted in statistically significant size differences between histamine induced wheals during treatment with cetirizine compared with placebo. Histamine induced wheals during cetirizine treatment were also significantly distinguished from wheals that arose in the dogs before treatment was initiated. Complete inhibition occurred in seven dogs, whereas one dog had a maximum inhibition of 81 %.

In the behavioural study no significant differences were established in behaviours thought to be of importance to degree of sedation during the different treatments. However, four out of eight dogs were excluded from the study for different reasons.

The conclusion of this study is that cetirizine in doses of 2-4 mg/kg body weight given orally once daily successfully inhibits histamine induced wheal formation in the skin of healthy dogs. The dose variation did not result in significant differences regarding wheal size. There were no significant differences in behaviours that can be correlated to degree of sedation during treatment with cetirizine compared to placebo. Future controlled clinical studies should be performed to evaluate cetirizine's usefulness when treating dogs with AD.

INNEHÅLL

Inledning	1
Litteraturoversikt.....	1
Allergisk dermatit hos hund.....	1
Behandling	2
Histamin och histaminreceptorer	2
Antihistaminer.....	3
Generellt.....	3
Inom veterinärmedicinen	4
Material och metoder	5
Djur och förberedelser	5
Experimentell design och protokoll	5
Administration av läkemedel	5
Intrakutana injektioner	5
Beteendestudien	6
Datainsamling intrakutana injektioner	7
Datainsamling beteendestudien.....	7
Bearbetning av data.....	8
Intrakutana histamininjektioner	8
Beteendestudien	9
Resultat	9
Intrakutana histamininjektioner	9
De olika dosregimerna av cetirizin	9
Cetirizin jämfört med nollvärden.....	9
Placebo jämfört med nollvärden	10
Cetirizin jämfört med placebo	10
Nollvärden.....	11
Beteendestudien	11
Diskussion.....	13
Intrakutana histamininjektioner	13
Beteendestudien	15
Konklusion.....	16
Referenser	16

INLEDNING

Läkemedel ur gruppen antihistaminer utgör ibland en del av behandlingen vid allergiska hudsjukdomar som atopisk dermatit (AD) hos hund (Bergvall, 2013). Målet med detta är att minska användandet och därmed risken för biverkningar av glukokortikoider (DeBoer & Griffin, 2001; Olivry *et al.*, 2010a; 2010b). Då det saknas antihistaminpreparat godkända för användning på hund används humanpreparat enligt den så kallade kaskadprincipen, 2 kap. 1-5 §§ Statens jordbruksverks föreskrifter (SJVFS 2009:84) om läkemedel och läkemedelsanvändning, ändrad genom SJVFS 2012:32, saknr D 9.

Trots att antihistaminer används kliniskt finns få kontrollerade studier av dessa substanser givna till hund. Forskningsunderlaget för hur läkemedlen fungerar på djurslaget bl.a. med avseende på biotillgänglighet, terapeutisk dos och biverkningar är därför bristfälligt (DeBoer & Griffin, 2001). Dessutom indikerar resultat från tidigare studier att effekten av antihistaminer ofta är otillfredsställande när det gäller behandling av AD hos hund (Miller *et al.*, 1993; Scott *et al.*, 1994; Cook *et al.*, 2004). Ett exempel som illustrerar fördelarna med att utföra grundläggande farmakologiska studier av läkemedel innan de används kliniskt är ett försök utfört på antihistaminet klemastin som använts på hund i nästan två decennier (Olivry *et al.*, 2010a). I försöket konstaterades biotillgängligheten låg (omkring 3 %) och att effekten efter oral administrering därför uteblir vid de doser som använts kliniskt (Hansson *et al.*, 2004).

Cetirizin är ett antihistamin som används försöksvis till hund idag (Bergvall, 2013). Tidigare studier visar att cetirizin hämmar histamininducerade reaktioner i huden hos hund (De Vos *et al.*, 1987; Bizikova *et al.*, 2008; Temizel *et al.*, 2011) och även hos häst (Olsén *et al.*, 2008). Dock varierar resultaten kraftigt i olika studier utförda på hund (De Vos *et al.*, 1987; Bizikova *et al.*, 2008; Bäumer *et al.*, 2011; Temizel *et al.*, 2011).

Detta examensarbete utgör en del av en större studie som avser korrelera plasmakoncentrationen av cetirizin till den kliniska effekten, vilket i förlängningen ger möjlighet att optimera dosen som används kliniskt. Syftet med det här arbetet är att undersöka cetirizins effekt på histamininducerade kvaddlar i huden hos friska hundar efter oral administration. Arbetet omfattar även en beteendestudie som syftar till att jämföra hundarnas grad av dåsighet under behandling med cetirizin respektive placebo då dåsighet är en rapporterad biverkning av antihistaminer givna till hund.

LITTERATURÖVERSIKT

Allergisk dermatit hos hund

Hudrelaterade besvär är en vanlig orsak till att hundägare söker veterinärvård (Hill *et al.*, 2006). Hundar med allergisk dermatit (hudinflammation) står för en betydande del av patientfallen. Dessa kan indelas i födoämnesallergiker och atopiker, d.v.s. hundar med överkänslighet mot omgivningsallergener (Bergvall, 2013). Tillstånden är kroniska och kan ge konstanta eller säsongsbundna besvär beroende på bakomliggande orsak (Griffin & DeBoer, 2001; Zur *et al.*, 2002). Vissa hundar är drabbade av båda allergiformerna samtidigt (Zur *et al.*, 2002), i vilken utsträckning detta förekommer är dock inte fastställt (Hillier & Griffin, 2001; Olivry *et al.*, 2010a). Allergisk dermatit leder till en inflammatorisk reaktion med klåda i huden (Olivry *et al.*, 1996; 2001; Zur *et al.*, 2002; Marsella *et al.*, 2006). Det finns indikationer på att hundar liksom människor med atopisk dermatit kan ha ärftliga defekter i sin hudbarriär vilket predisponerar för sjukdom (Hara *et al.*, 2000; Gupta *et al.*, 2008; Hon *et al.*, 2008; Piekutowska *et al.*, 2008; Shimada *et al.*, 2009). Den redan defekta hudbarriären försvagas än mer vid inflammation vilket predisponerar för sekundära hudinfektioner (Zur *et al.*, 2002; Nardoni *et al.*, 2004; Guzik *et al.*, 2005; Fazakerley *et al.*, 2009). Klådan gör att hunden slickar, gnager eller på annat vis kliar på drabbade hudområden, vilket skadar

hudbarriären ytterligare. Om tillståndet inte behandlas antar hudförändringarna så småningom en mer kronisk karaktär och sekundära hudinfektioner samt klåda orsakar hunden påtagligt lidande (Olivry *et al.*, 2010a).

Behandling

Behandlingen av allergisk dermatit är ofta livslång, individuellt anpassad och utgörs av en kombination av flera olika åtgärder (Olivry *et al.*, 2010a). Grundläggande är att försöka undvika de aktuella allergenerna, genom foderbyte eller miljöåtgärder, som t.ex. mer frekvent städning och tvättning av textilier. Vid AD kan även individanpassad immunoterapi fungera (Colombo *et al.*, 2005; Keppel *et al.*, 2008). Regelbundna bad kan verka klådstillande men det är inte klarlagt hur stor del av effekten som kan tillskrivas enbart sköljningen av huden respektive schamponering med speciellt framtagna handelsprodukter (Löflath *et al.*, 2007). Indikationer finns på att tillskott av fettsyror i maten kan mildra symtombilden (Sævik *et al.*, 2004). Vid sekundära hudinfektioner används i första hand antibakteriella eller antifungala produkter lokalt på affekterade hudområden (Olivry *et al.*, 2010a). Om dessa inte har fullgod effekt kan systemisk behandling bli aktuell.

Som komplement till övrig behandling kan det bli nödvändigt att medicinera hunden med läkemedel som dämpar immunförsvarets överkänslighetsreaktion för att lindra symtomen. Ofta används glukokortikoider, som visats ha god dämpande effekt på klåda och hudlesioner hos hundar med AD (Steffan *et al.*, 2003; Sævik *et al.*, 2004; Nuttall *et al.*, 2009). Glukokortikoider har dock flera oönskade bieffekter såsom ökad törst och aptit, ökad urinmängd, fetma, gastrointestinala störningar som kräkning och diarré och sekundära infektioner (ofta bakteriella urinvägsinfektioner) till följd av immunosuppression (Cizinukas *et al.*, 2000; Steffan *et al.*, 2003). Förekomst och allvarlighetsgrad av biverkningar tilltar vid högre doser och vid långtidsbehandling (Olivry & Sousa, 2001). För att mildra dessa finns även glukokortikoider i olika beredningsformer som appliceras direkt på huden för lokal behandling som alternativ till systemisk behandling (Nuttall *et al.*, 2009).

Ett alternativ till glukokortikoider är cyklosporin, vilket är ett annat immunomodulerande läkemedel med biverkningar som gastrointestinala störningar (Takaori *et al.*, 1992; Fontaine & Olivry, 2001; Olivry *et al.*, 2002; Hardie *et al.*, 2005; Radowicz & Power, 2005; Nuttall *et al.*, 2011) och risk för ökad infektionskänslighet (Steffan *et al.*, 2003). Effekten vid behandling av hundar med AD är jämförbar med glukokortikoiders (Olivry *et al.*, 2002; Steffan *et al.*, 2003; Nuttall *et al.*, 2011) men det tar längre tid innan fullgod effekt uppnås, ofta 4-6 veckor efter insättande (Olivry *et al.*, 2010a). Medicinering med cyklosporin är dock betydligt dyrare, vilket blir särskilt kännbart för djurägaren då det ofta handlar om livslång behandling.

Antihistaminer används försöksvis till hundar med AD för att minska behovet av glukokortikoider (DeBoer & Griffin, 2001; Olivry *et al.*, 2010a; 2010b).

Histamin och histaminreceptorer

Histamin är en naturligt förekommande substans i många av kroppens organ och vävnader (Tredway Graham *et al.*, 1955; Shore *et al.*, 1959; Anton & Sayre, 1969; Meslin *et al.*, 1990). Histamin binder till och aktiverar histaminreceptorer. Idag finns fyra typer av histaminreceptorer beskrivna, de kallas H1 (Ash & Schild, 1966; Yamashita *et al.*, 1991), H2 (Gantz *et al.*, 1991; Murakami *et al.*, 1999), H3 (Ishikawa & Sperelakis, 1987), respektive H4 (Nakamura *et al.*, 2000; Morse *et al.*, 2001; Nguyen *et al.*, 2001; Cogé *et al.*, 2001). Det har diskuterats huruvida fler typer av histaminreceptorer eller underkategorier av de redan upptäckta receptorerna existerar (Oda, *et al.*, 2000; Zhu *et al.*, 2001). Dessa receptorer finns i varierande utsträckning hos en mängd olika celltyper i kroppen, bl.a. nervceller i hjärnan och immunförsvarsceller (Murakami *et al.*, 1999; Cogé *et al.*, 2001; Cowden *et*

al., 2010). Effekten av bindningen och aktiveringen varierar med receptortyp och målcell. I centrala nervsystemet (CNS) fungerar t.ex. histamin som exciterande signalsubstans och bidrar till vakenhet (Haas, 1984; John *et al.*, 2004).

Utanför CNS produceras och frisätts histamin av bl.a. mastceller (Riley & West, 1953) och basofila granulocyter (Cramer O'Donnell *et al.*, 1983; Dvorak *et al.*, 1995), vilka bl.a. finns i huden (Riley & West, 1953; Auxilia & Hill, 2000; Macfarlane *et al.*, 2000). Vid en allergisk överkänslighetsreaktion binder allergena ämnen till membranbundna IgE-receptorer på dessa cellers yta, vilket får dem att degranulera, d.v.s. frisätta ett flertal lagrade pro-inflammatoriska substanser, däribland histamin (Becker *et al.*, 1973; Segal *et al.*, 1977; Yamaguchi *et al.*, 1997). Det anses att denna histaminfrisättning är en viktig startsignal för inflammationsprocessen som uppstår vid allergisjukdomar (Thurmond *et al.*, 2008).

Efter frisättning i huden, t.ex. vid hudinflammation, orsakar histamin ökad permeabilitet hos små vener samt vasodilatation vilket yttrar sig som svullnad, rodnad och värme (Alksne, 1959; Majno & Palade, 1961; Majno *et al.*, 1961; Owen *et al.*, 1980). H1- och H2-receptorer finns bl.a. på endotelceller (Kubes & Kunwar, 1994; Yamaki *et al.*, 1998) och glatta muskelceller i kärlväggar (Matsumoto *et al.*, 1986). Owen *et al.* (1980) visade att vasodilatation medieras genom aktivering av både H1- och H2-receptorer, medan ökad kärlpermeabilitet och ödembildning främst uppkommer till följd av aktivering av H1-receptorer. Nyare upptäckter indikerar att även aktivering av H4-receptorn har uttalad pro-inflammatorisk effekt och bidrar till ödembildning, frisättning av pro-inflammatoriska substanser och infiltration av inflammatoriska celler (Cowden *et al.*, 2010).

Även om histamin har en betydande roll i det initiala skedet är den inflammatoriska processen än mer komplex. Mastceller såväl som andra immunförsvarsceller och exempelvis keratinocyter frisätter även andra pro-inflammatoriska substanser som inte aktiverar IgE-receptorer för att utöva effekt (Smyth *et al.*, 1991; Hamid *et al.*, 1992; Wilmer *et al.*, 1994; Fischer *et al.*, 2006; Zheng *et al.*, 2007). Dessa alternativa signalvägar har visats vara betydelsefulla vid kronisk inflammation som t.ex. AD och bidra till inflammation och vävnadsskada via både direkta mekanismer samt indirekt genom aktivering av andra celltyper som accelererar inflammationskaskaden.

Flera celltyper involverade i det inflammatoriska svaret har visats uttrycka olika typer av histaminreceptorer, vilket tyder på att histamin kan ha varierande effekt på förloppet beroende på vilka receptorer och celler som aktiveras (Vannier & Dinarello, 1993; Nakamura *et al.*, 2000; Oda *et al.*, 2000; Cogé *et al.*, 2001; Morse *et al.*, 2001; Zhu *et al.*, 2001; Cowden *et al.*, 2010).

Antihistaminer

Generellt

Termen antihistaminer refererar ofta till H1-receptorantagonister (Rang *et al.*, 2012). Detta är en grupp läkemedel som motverkar effekten av histamin som frisätts vid allergiska reaktioner genom att blockera histaminreceptorer av typen H1. På så vis dämpas inflammatoriska processer som bidrar till bland annat rodnad och svullnad. H1-receptorantagonister används inom humanvården för att dämpa allergiska reaktioner som hösnuva, nässelutslag, insektbett och överkänslighetsreaktioner mot läkemedel.

Nyare H1-antagonister har visats ge färre biverkningar hos människa än äldre preparat, bland annat på grund av reducerad passage över blodhjärnbarriären vilket minskar förekomsten av dåsigheit efter intag (Tashiro *et al.*, 2004). Äldre H1-antagonister har visats binda i högre grad till H1-receptorer i CNS än nyare preparat efter administration peroralt till försökspersoner (Yanai *et al.*, 1995; Tagawa *et al.*, 2001; Tashiro *et al.*, 2004). Chen *et al.* (2003) visade att penetransen till CNS för cetirizin och två

andra nyare H1-antagonister begränsades av att de var substrat för effluxproteinet p-glycoprotein (p-gp) vid blod-hjärnbarriären, vilket innebar att substanserna aktivt transporterades ut från CNS. Obradovic *et al.* (2007) konstaterade dock att betydelsen av p-gp som begränsande faktor varierade mycket mellan olika substanser och att andra ännu okända transportmekanismer förutom p-gp kan ha större betydelse för passagen.

Tashiro *et al.* (2004) korrelerade bindingsgrad till H1-receptorer i CNS med sederingsgrad hos försökspersoner efter oral administration av cetirizin och fexofenadin, båda nyare H1-antagonister. Hydroxyzin, en äldre H1-antagonist med dokumenterad sedativ effekt representerade positiv kontroll i försöket. Fexofenadin var inte signifikant skiljt från placebo vad gällde sederingsgrad eller bindning till H1-receptorer. Cetirizin uppvisade högre sederings- och bindingsgrad än placebo/fexofenadin, men mindre än hydroxyzin.

Hos människa har cetirizin visats signifikant hämma kvaddelbildning och hudrodnad vid histamininjektioner i huden efter peroral medicinering (Clough *et al.*, 1998; Nielsen *et al.*, 2001; Gillard *et al.*, 2005).

Inom veterinärmedicinen

Cetirizin är en H1-receptorantagonist som används av svenska veterinärer till hundar med allergisk dermatit (Bergvall, 2013). Cetirizin har demonstrerats ha god antihistamineffekt relativt fem andra H1-antagonister (mepyramin, klemastin, terfenadin, astemizol och hydroxyzin) hos mus, råttor, marsvin och hund (De Vos *et al.*, 1987). Dock varierar effekten kraftigt i olika försök vilket delvis kan härledas till att doser och doseringsintervall varierar i olika studier.

Hos friska hundar minskar storleken hos histamininducerade kvaddlar med 37,5-86 % efter peroral behandling med cetirizin eller hydroxyzin, varav det sistnämnda snabbt och i hög grad metaboliseras till cetirizin som tillskrivs antihistamineffekten (De Vos *et al.*, 1987; Bizikova *et al.*, 2008; Temizel *et al.*, 2011). Enligt farmakodynamiska beräkningar utförda av Bizikova *et al.* (2008) skulle högre plasmakoncentrationer av cetirizin än 1500 ng/ml inte öka den inhiberande effekten. Den koncentration som ger halva maximala inhibitionen av histamininducerade kvaddlar hos hund (IC_{50}) är omkring 600 ng/ml (Bizikova *et al.*, 2008). Motsvarande värde för häst är runt 18 ng/ml (Olsén *et al.*, 2008). Bizikova *et al.* (2008) jämförde sina observationer med studier utförda på människa och konstaterade att högre plasmakoncentrationer krävs hos hund för att uppnå motsvarande hämmande effekt. Med bakgrund av detta skulle för låga doser kunna vara ett skäl till att effekten uteblivit i tidigare försök på hund. I den större studie vilket detta arbete utgör en del av ska antihistamineffekten korreleras till plasmakoncentrationen av cetirizin, vilket ger mer tillförlitliga resultat än dos-effektjämförelser.

Det finns till författarens kännedom ingen uppgift i litteraturen om vare sig biotillgänglighet, upptag, elimination eller plasmaexponering av cetirizin efter oral administration till hund. Flera H1-receptorantagonister som anses ha god biotillgänglighet hos människa har i försök visats ha låg biotillgänglighet hos hund och häst (Törneke *et al.*, 2003; Hansson *et al.*, 2004; Olsén *et al.*, 2006; Rang *et al.*, 2012).

Indikationer finns på att äldre H1-receptorantagonister har sedativ effekt på hund (Miller *et al.*, 1993; Bizikova *et al.*, 2008; Eichenseer *et al.*, 2013), vilket visats vara en av de vanligaste biverkningarna på människa (Rang *et al.*, 2012).

MATERIAL OCH METODER

Djur och förberedelser

I försöket ingick åtta stycken destinationsuppfödda försöks- och undervisningshundar (benämns Hund A-H) vilka hålls av Institutionen för kliniska vetenskaper, SLU i Uppsala. De var alla kliniskt friska vuxna tikar av rasen beagle. Hundarna vägde 10,5-13,5 kg (medelvikt 12,1 kg) och var 4-7 år gamla.

Varje försöksomgång sträckte sig över fem dagar och innebar upprepade intrakutana injektioner (injektioner i huden), mätningar av uppkomna kvaddlar, blodprovstagningar samt filmning av hundarna.

Experimentell design och protokoll

Försöket var en randomiserad, blindad studie med *cross-over design* där försöksomgångarna genomfördes 4-9/8 respektive 24-29/11 2014.

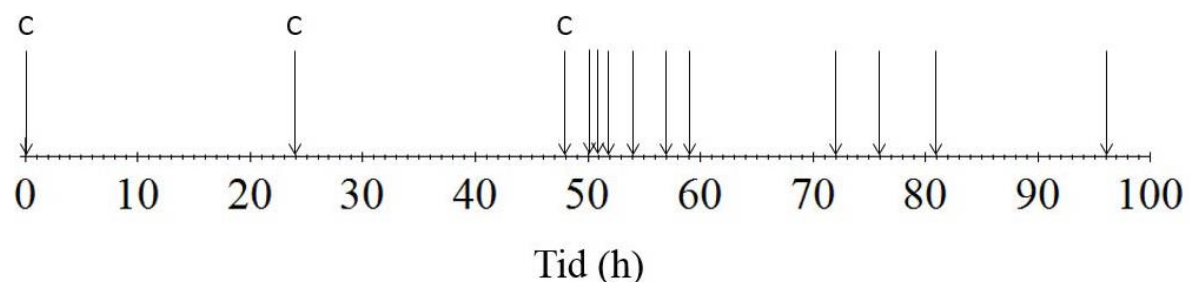
Administration av läkemedel

Cetirizindihydroklorid (Cetirizin Sandoz, 10 mg, Köpenhamn, Danmark) respektive placebo administrerades peroralt var 24:e timma under försöksomgångens första tre dagar i anslutning till dagens första injektions- och provtagningstillfälle (Figur 1). Cetirizintabletter gömdes i en köttbulle och placebo utgjordes av en opreparerad köttbulle. Medicineringen skedde direkt efter avläsning av kvaddlarna ca 20 minuter efter injektion. Blodprov togs inom några minuter efter injektionerna.

I den första försöksomgången fick fyra hundar (Hund A, E, F och H) cetirizin i doser om 4 mg/kg kroppsvikt. I den andra försöksomgången fick resterande fyra hundar (Hund B, C, D och G) 4 mg/kg kroppsvikt som startdos följt av 2 mg/kg kroppsvikt de två kommande medicineringarna.

Intrakutana injektioner

Hundarna klipptes med klippmaskin på ett ca 20 x 30 cm stort område lateroventralt på vardera sidan av thorax inför de intrakutana injektionerna. En histaminlösning med styrkan 0,1 mg/ml förbereddes genom att späda en histaminlösning med styrkan 10 mg/ml (Soluprick positiv kontroll, ALK Nordic AS, Kungsbacka, Sverige) i 0,9 % koksaltlösning (Fresenius Kabi AB, Uppsala, Sverige). Varje hund gavs två hund injektioner med 0,07 ml histaminlösning (0,7 µg histamin per injektion) vid 13 olika tidpunkter under varje försöksomgång (Figur 1). Som negativ kontroll användes 0,07 ml koksaltlösning (Fresenius Kabi, Natriumklorid 9 mg/ml) vilken injicerades vid sju tillfällen per hund och försöksomgång. För injektioner användes 1 ml-sprutor (Omnifix-F, B. Braun Medical AB, Danderyd, Sverige) och 0,40 x 20 mm (27 G x 3/4") kanyler (Sterican, B. Braun Medical AB, Danderyd, Sverige). Blodprover togs inom några minuter efter varje histamininjektion för att kunna korrelera läkemedelseffekten till plasmakoncentrationen (ingår inte i detta arbete).

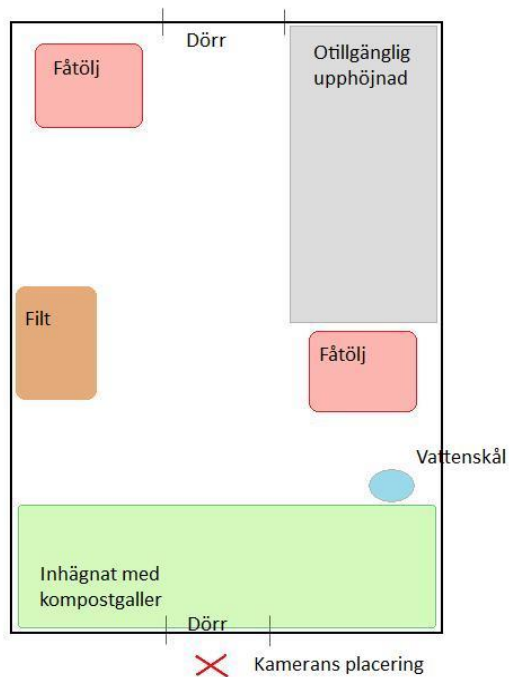


Figur 1. Tidsaxel för en försöksomgång. Cetirizin respektive placebo administrerades vid tidpunkterna 0, 24 och 48 timmar, markerat med c i figuren. Pilarna illustrerar tidpunkter för intrakutana

histamininjektioner och blodprovstagning. Diametern på kvaddlarna som inducerades mättes 20 minuter efter histamininjektion.

Beteendestudien

Hundarna filmades 1,5–2,5 och 3–4,5 timmar efter läkemedelgiva dag 1 och 2. Under filmningen hölls hundarna i grupper om fyra i ett rum (deras hemmiljö) utrustat med två fåtöljer, en filt på golvet, en vattenskål och två dörrar i motsatta ändar av rummet (Figur 2). En dörr vette mot hundarnas rastgård och en mot en korridor inomhus. Dörrarna utgjordes delvis av fönsterrutor med begränsad möjlighet för hundarna att se ut genom p.g.a. fönstrens storlek och placering. En filmkamera placerades utanför dörren i korridoren. För att hundarna inte skulle lägga sig intill denna dörr och därmed hamna ur bild riggades kompostgaller i rummet enligt Figur 2.



Figur 2. Schematisk skiss över rummet hundarna hölls i under filmning.

Datainsamling intrakutana injektioner

De uppkomna kvaddlarnas storlek mättes 20 minuter efter histamininjektion med ett digitalt skjutmått. En liten ficklampa användes för att framhäva strukturen av och underlätta bedömningen av kvaddlarnas avgränsning (med hjälp av släpljus). Två mot varandra vinkelräta diametrar noterades för varje kvaddel.

Datainsamling beteendestudien

Varje hund observerades fyra minuter åt gången då momentana beteenden registrerades var 20:e sekund. Detta upprepades var 20:e minut av de inspelade filmsekvenserna, vilket resulterade i totalt 336 beteenderegistreringar för varje hund. Positions beteenden noterades enligt Tabell 1.

Tabell 1. *Positionsbeteenden med variationer som registrerades under beteendestudien*

Grundbeteende	Variation
Går	Stadigt
	Vingligt
Hoppar/klättrar/står på bakbenen	Stadigt
	Vingligt
	Med hängande huvud
Sitter	Stadigt
	Med hängande huvud
Ligger	På bröstet med lyft huvud
	Bakbenen åt sidan med lyft huvud
	Med huvudet på tassarna/armstöd till fåtölj
	Ihoprullad som en "kringla"
	Platt på sidan

Utöver registrering av positionsbeteenden noterades även andra samtidigt utförda beteenden vid förekomst var 20:e sekund (momentan observation). Exempel på dessa beteenden var nosar, blundar, hässjar, dricker, kliar/slickar sig mot bröstkorgen respektive annat ställe på kroppen, bajsar, kissar och ylar.

Bearbetning av data

Intrakutana histamininjektioner

Endast den största av de två histamininducerade kvaddlar som uppkom vid varje injektionstillfälle togs med i beräkningarna. Varje kvaddels medeldiameter användes vid beräkning av arean vilken beräknades genom $area = \pi \cdot r^2$.

Hundarnas kvaddelstorlek vid de olika tidpunkterna för histamininjektion jämfördes under cetirizin- respektive placebobehandling. Kvaddlar uppkomna under de olika behandlingarna jämfördes också med kvaddlar uppkomna vid tiden 0 då alla hundar var obehandlade (benämns nollvärdet). Cetirizins hämmande effekt på uppkomsten av histamininducerade kvaddlar vid varje tidpunkt uttrycktes relaterad till det uppmätta nollvärdet för varje hund. Den största av de histamininducerade kvaddlarna hos respektive hund vid tiden 0 användes som nollvärde.

Statistiska beräkningar utfördes med bonferronikorrigerade t-test i programmet Microsoft Office Excel. En signifikansnivå före bonferronikorrektion bestämdes, där $p < 0,05$ ansågs signifikant. Bonferronikorrektion justerar signifikansnivån genom att dividera den bestämda signifikansnivån med antal genomförda test.

Beteendestudien

Positionsbeteenden noterade enligt Tabell 1 indelades i kategorierna ”ligger”, ”sitter” och ”aktiv”. Beteendena ”går”, ”står” och ”hoppa/klättrar/står på bakbenen” definierades som aktiva beteenden och lades ihop till en egen kategori. Ingen distinktion gjordes mellan olika liggstilar.

Förekomsten av beteendena ”blundar”, ”ligger” och ”aktiv” jämfördes hos hundarna under de olika behandlingarna. Observationerna för de fyra tagningarna jämfördes. Statistisk signifikans beräknades med hjälp av dubbelsidigt Wilcoxon Signed-Rank Test, signifikansnivå 0,05 i Social Science Statistics kalkylator (<http://www.socscistatistics.com/tests/signedranks/Default2.aspx>).

RESULTAT

Intrakutana histamininjektioner

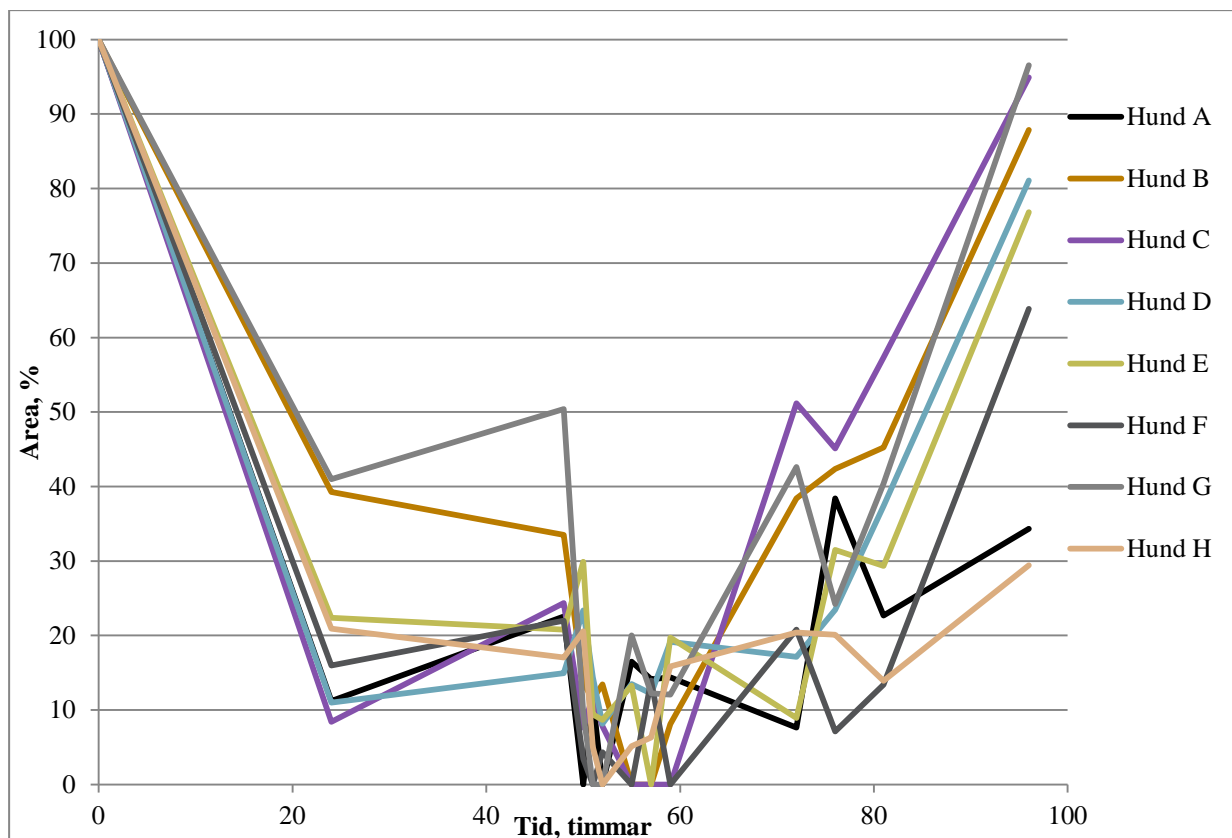
De olika dosregimerna av cetirizin

Ingen signifikant skillnad i diameterlängd påvisades mellan kvaddlar hos hundar som fått cetirizin i doser om 4 mg/kg respektive 4 mg/kg följt av 2 mg/kg vid de olika tidpunkterna för provtagning (bonferronikorrigerat p-värde = 0,0038).

Cetirizin jämfört med nollvärden

Under cetirizinbehandling var arean och diameterlängden på de histamininducerade kvaddlarna signifikant mindre än nollvärden, d.v.s. uppmätta histamininducerade kvaddlar vid tiden 0 då hundarna var obehandlade, vid alla tidpunkter fram till 96 timmar då kvaddelstorleken gått tillbaka till ursprungsvärdet (bonferronikorrigerat p-värde = 0,0042,). Kvaddlarna minskade först i storlek för att sedan öka igen och återgå till sin ursprungliga storlek vid försökets sista mätning. Vid tiden 52 timmar, d.v.s. fyra timmar efter sista administrationen av läkemedel var kvaddlarna minst.

Kvaddelarean hos en hund inhiberades maximalt 81 % under cetirizinbehandling jämfört med nollvärdet. För de övriga sju hundarna var den maximala inhibitionen 100 %. Ingen signifikant skillnad gällande procentuell hämning vid de olika tidpunkterna påvisades mellan grupperna som fått olika dos cetirizin (bonferronikorrigerat p-värde = 0,0038).



Figur 3. Varje hunds kvaddelarea vid de olika tidpunkterna under cetirizinbehandling uttryckt i procent av nollvärde.

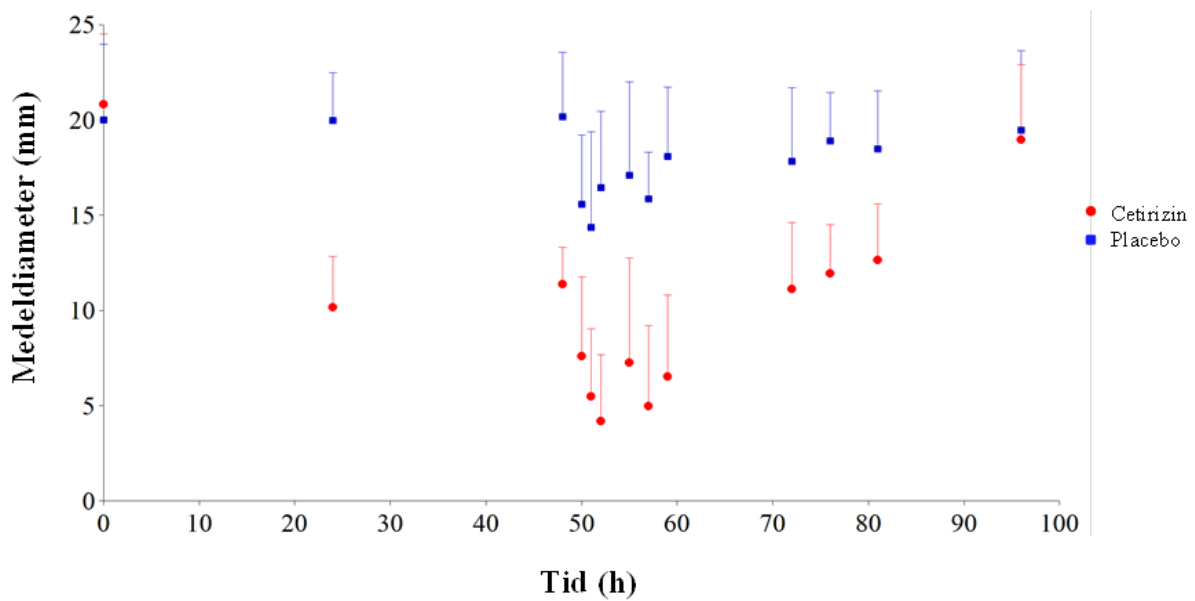
En atypisk kvaddel hos hund B vid tiden 55 timmar under cetirizinbehandling uteslöts då den avvek kraftigt i förhållande till övriga data. Den andra histamininducerade kvaddeln uppkommen vid samma injektionstillfälle användes därför i stället.

Placebo jämfört med nollvärden

Under placebobehandling sågs ingen signifikant skillnad avseende kvaddelarea vid de olika tidpunkterna jämfört med nollvärden utom vid tiden 51 timmar (bonferronikorrigerat p-värde = 0,0042,). Vid denna tidpunkt var kvaddlarna mindre än nollvärden.

Cetirizin jämfört med placebo

Vid jämförelse mellan cetirizin- och placebobehandling fanns ingen statistiskt signifikant skillnad gällande kvaddeldiameterlängd vid tiderna 0, 51, 72 och 96 timmar (bonferronikorrigerat p-värde = 0,0038,). Vid övriga tidpunkter var kvaddlarnas diametrar signifikant kortare under cetirizinbehandling.



Figur 4. Medeldiameter hos histamininducerade kvaddlar vid de olika tidpunkterna, $n=8$. Standardavvikelse presenterad som felstaplar.

Nollvärden

Signifikant skillnad i diameterlängd påvisades mellan nollvärden i försöksomgång ett respektive två ($p<0,05$). Ingen signifikant skillnad i diameterlängd påvisades när nollvärden uppmätta inför cetirizinbehandling respektive inför placebobehandling jämfördes ($p>0,05$).

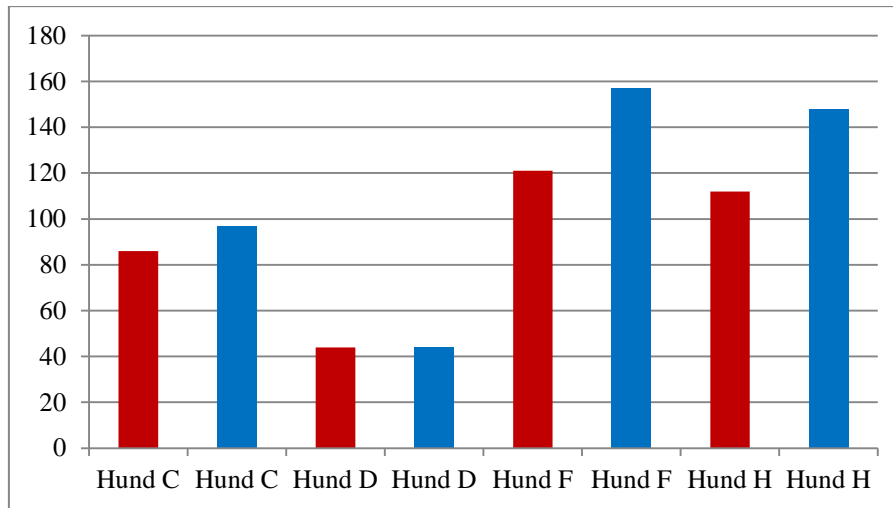
Beteendestudien

Inga kräkningar observerades hos hundarna under beteendestudien. Inga positionsbeteenden med variationen ”vingligt” och endast en beteenderegistrering med variationen ”hängande huvud” noterades hos hundarna.

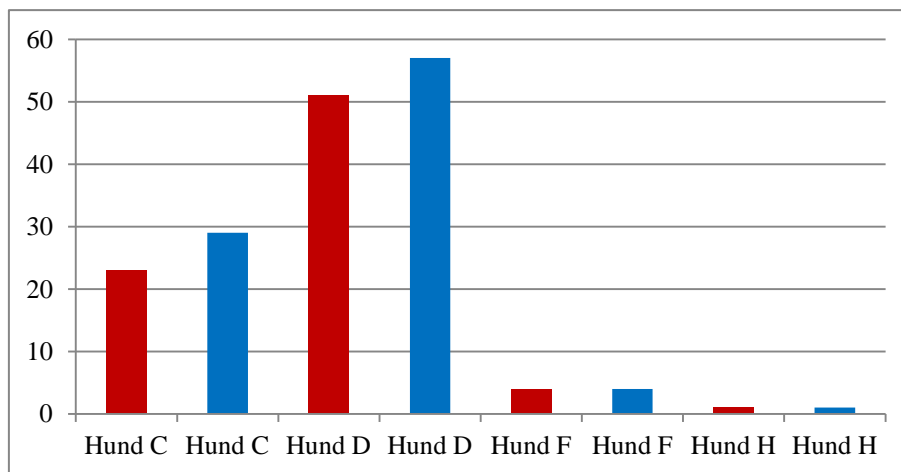
En hund exkluderades ur beteendestudien efter den första försöksomgången då den placerats i en ny hundgrupp. Ytterligare tre hundar uteslöts ur studien då de var ur bild under stor del av den första försöksomgången (49-96 % av observationerna). Av de hundar som inkluderades i beteendestudien var två i bild vid alla observationstillfällen under den första försöksomgången medan resterande två hundar var ur bild vid 3 respektive 32 % av observationerna. I den andra försöksomgången var alla hundar i bild vid samtliga observationer.

”Blundar” var mest frekvent förekommande av de samtidiga beteendena hos hundarna, övriga observerades endast vid ett fåtal tillfällen och analyserades därför inte vidare.

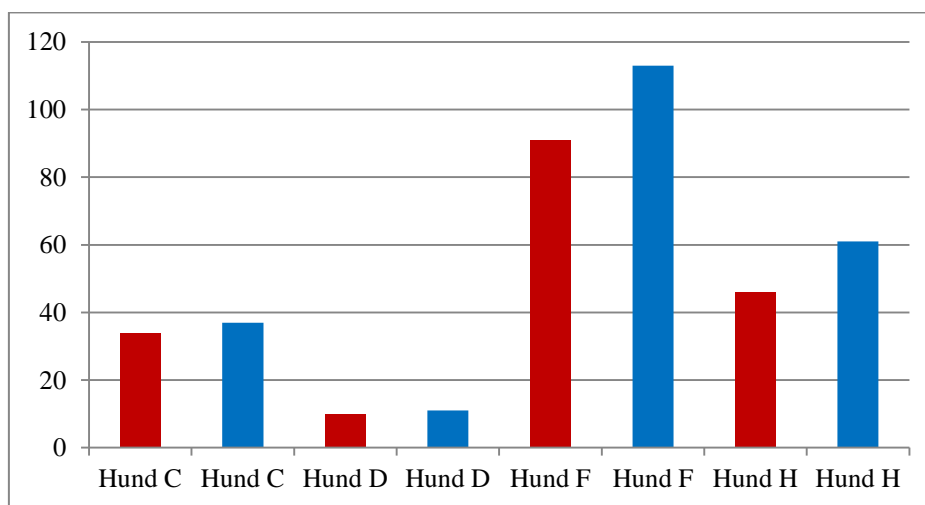
Hos de fyra hundar som ingick i studien kunde ingen statistiskt signifikant skillnad påvisas avseende förekomst av beteendena ”blundar”, ”ligger” och ”aktiv” i vid de olika behandlingarna ($p>0,05$).



Figur 5. Antal observationer av "ligger" under de olika behandlingarna i beteendestudien, $n=4$. Ceterizinbehandling i rött och placebobehandling i blått.



Figur 6. Antal observationer av "aktiv" under de olika behandlingarna i beteendestudien, $n=4$. Ceterizinbehandling i rött och placebobehandling i blått.



Figur 7. Antal observationer av "blundar" under de olika behandlingarna i beteendestudien, $n=4$. Ceterizinbehandling i rött och placebobehandling i blått.

DISKUSSION

I denna studie visas att cetirizin givet peroralt en gång dagligen hämmar uppkomsten av histamininducerade kvaddlar i huden till 81-100 % hos friska försökshundar. Inga sedativa biverkningar påvisades. Den större studie vilken detta arbete är en del av är i min vetskap den första att studera farmakokinetik för cetirizin till hund efter peroral administration. I tidigare utförda studier av H1-antagonister till hund korreleras sällan effekten till plasmakoncentrationen, utan till given dos. Eftersom biotillgängligheten ofta är okänd försvåras jämförelsen av resultaten i olika studier av samma substans eller av andra H1-antagonister. Att relatera effekten till plasmakoncentrationer av läkemedelssubstansen är en metod att underlätta jämförelser mellan olika studier.

Den försöksvis använda dosen cetirizin till hund är 1 mg/kg 1-2 gånger per dag (Bergvall, 2013). Dosvalet i den här studien baserades på rapporterade dos-effekt samband samt kunskap om cetirizins kemiska egenskaper och funktioner om substrat för transportprotein i kroppen (Bouchard *et al.*, 2001; Cook *et al.*, 2004; Olsén *et al.*, 2007; Bizikova *et al.*, 2008; Temizel *et al.*, 2011). Doseringsregimen 1 mg/kg 1 gång dagligen hämmar histamininducerade kvaddlar i huden med 37,5 % (Temizel *et al.*, 2011). I ett försök av Bizikova *et al.* (2008) gavs H1-antagonisten hydroxyzin peroralt i doser om 2 mg/kg två gånger dagligen vilket resulterade i en inhibition av histamininducerade kvaddlar på 82 %. Hydroxyzin metaboliseras relativt snabbt och i hög grad till cetirizin som tillskrivs huvuddelen av effekten. Att Temizel *et al.* (2011) erhöll lägre inhibitionsgrad än Bizikova *et al.* (2008) gör att man kan anta att cetirizin har lägre biotillgänglighet än hydroxyzin, alternativt att skillnaden i dos kan förklara skillnaden i antihistamineffekt. Cetirizin har en mer polär molekylstruktur än flera äldre H1-antagonister, t.ex. hydroxyzin, i fysiologiska pH-värden, vilket kan begränsa dess passage över biologiska membran och därmed försvåra upptag från tarmen (Bouchard *et al.*, 2001). Att substansen är substrat för p-gp skulle också kunna begränsa dess upptag från tarmen och ha betydelse för dess utsöndring via galla och njurar eftersom transportproteinet finns i dessa organ (Thiebaut *et al.*, 1987). Dosändringen mellan försöksomgångarna skedde till följd av slutsatser som dragits efter den första försöksomgången. Enligt Bizikova *et al.* (2008) var den plasmakoncentration av cetirizin som ger maximal inhibition av histamininducerade kvaddlar (I_{max}) 1500 ng/ml och den koncentration som ger halva maximala inhibitionen (IC_{50}) 600 ng/ml. Hos hundarna i vårt försök observerades högre koncentrationer, vilket medförde att två hundar fortfarande hade plasmakoncentrationer över IC_{50} vid försöksomgångens sista provtagning (Norlander, S., pers.medd., 2015). Då det går att anta att antihistamineffekten direkt kan korreleras till plasmakoncentration förbättras precisionen i analysen om kvaddlarna minskar i storlek mot försöksomgångens slut. Ett direkt koncentrations-effektsamband är också lättare att konstatera om plasmakoncentrationerna kan följas till dess effektmarkören återgått till baslinjen. Därför gavs i försöksomgång omgång två en startdos på 4 mg/kg för att snabbt nå plasmakoncentrationer motsvarande koncentrationen i *steady state* och därefter 2 mg/kg för att undvika för höga koncentrationer och därmed kvarstående effekt av läkemedlet mot slutet av försöksomgången. Användandet av två olika doseringsregimer gav också ett bredare spann av plasmakoncentrationer att analysera. Dosvariationen mellan hundarna i de två försöksomgångarna gav som tidigare nämnts inga signifikanta skillnader vad gäller kvaddlarnas storlek, vilket indikerar att även den lägre dosen ger önskvärd effekt.

Intrakutana histamininjektioner

Antihistamineffekt-tidsambandet (Figurer 3 och 4) kan tyda på ett koncentrations-effektsamband förutsatt att halveringstiden av cetirizin är tillräckligt lång för att bibehålla terapeutiska koncentrationer i plasma under hela dosintervallet. Kvaddlarna minskar i storlek från nollvärdet och maximal effekt uppnås ett par timmar efter administration, vilket kan antas sammanfalla med maximala plasmakoncentrationen av cetirizin, för att sedan successivt öka i storlek tillbaka till baslinjen när det går att förutsätta att läkemedelskoncentrationen i blodet sjunker efter sista givan.

Detta samband kan dock verifieras och kvantifieras först när cetirizinanalyserna i plasma är klara och är inte avsett att vara en del av det här arbetet. Antihistamineffekten var signifikant skild från placebo vid första mättillfället 24 timmar efter första läkemedelgivan och fram tills näst sista mättillfället 33 timmar efter sista givan med undantag av tidpunkterna 51 och 72 timmar. Mellan tidpunkterna 50 och 59 timmar är inhibitionen 70-100 %. De observationerna korrelerar väl i tid med när plasmakoncentrationerna av cetirizin kan antas vara högst om koncentration-tidsförloppet i blodet följer det väntade förloppet efter peroral administration. Således stärker observationerna hypotesen att antihistamineffekten är relaterad till plasmakoncentrationen av cetirizin.

Graden av inhibition som erhöles i denna studie överstiger den visad av Temizel *et al.* (2011) vilket var en förhoppning med den högre dosen som användes i den här studien. Effekten är i samma storleksordning eller till och med högre än effekten av 2 mg/kg hydroxyzin, där effekten tillskrivs cetirizin då det är den bioaktiva metaboliten av hydroxyzin. (Bizikova *et al.*, 2008). Då maxeffekten i detta försök liknar den rapporterad av Bizikova *et al.* (2008) kan antagandet göras att de maximala plasmakoncentrationerna cetirizin i detta försök bör tangera eller överstiga de erhållna av Bizikova *et al.* (2008).

Bäumer *et al.* (2011) konstaterade utebliven hämmande effekt av cetirizin på hudlesioner uppkomna efter topikal administrering av *Dermatophagoides farinae* hos atopiska hundar överkänsliga mot det aktuella allergenet. I försöket administrerades cetirizin peroralt i doser om 0,5 mg/kg 24 timmar och två timmar före allergenprovokation. Cook *et al.* (2004) gav hundar med konstaterad AD cetirizin i doser om 1 mg/kg peroralt en gång dagligen, vilket upplevdes mildra de kliniska symtomen hos 18 % av hundarna. Med bakgrund av erfarenheterna av effekten av cetirizin i den här studien vore det intressant att utföra kliniska studier med de doser vi konstaterat ha god antihistamineffekt.

Att statistiskt signifikant skillnad påvisades mellan nollvärden uppmätta i de olika försöksomgångarna var oväntat med tanke på att Bizikova *et al.* (2008) visat att upprepade intrakutana histamininjektioner på hund gav likartade kvaddelbildningar varje gång, utan signifikanta variationer. Detta kan bero på skillnader i injektions- och/eller mätteknik mellan försöksomgångarna hos den blindade person som utförde mätningarna. Andra anledningar skulle kunna vara avvikelser i spädningen av histaminlösningen mellan försöksomgångarna eller olika effekt av histaminet mellan olika batcher.

Under placebobehandling var hundarnas kvaddlar signifikant mindre än nollvärden vid tiden 51 timmar samt skiljde sig inte signifikant från kvaddlar uppkomna under cetirizinbehandling vid tidpunkterna 51 och 72 timmar. Dessa avvikelser skulle kunna förklaras med att placebobehandlade hundar kan ha fått i sig aktiv substans via konsumtion av urin eller avföring från cetirizinbehandlade hundar. En sådan oavsiktlig exponering skulle kunna hämma uppkomsten av kvaddlar. Detta kan ha skett i försöket då behandlade och obehandlade hundar hölls tillsammans och sågs äta varandras avföring under beteendestudien och även annan avföring på promenad utomhus. Om biotillgängligheten hos cetirizin är låg kommer en stor andel av substansen ut oförändrad i avföringen. Intag av fekalier innehållande substansen antas påverka kvaddelstorleken framför allt hos hundar under placebobehandling. Om hundar under cetirizinbehandling får i sig ytterligare läkemedel är det osannolikt att det skulle påverka resultatet nämnvärt. Detta då plasmakoncentrationer antagligen redan tangerar eller överstiger dem som visats ge maximal effekt av Bizikova *et al.* (2008).

En annan tänkbar anledning till att kvaddlarna under placebobehandling skiljer sig från nollvärden är injektions- och/eller mättekniska fel. Ytterligare en anledning kan vara att hundarna stressades av hantering vid upprepade provtagningar/mätningar vilket ledde till en kortisolfrisättning. Det är känt att glukokortikoider, varav kortisol är en, inhiberar uppkomsten av histamininducerade kvaddlar hos hund (Temizel *et al.*, 2011).

Endast den största av de två parade histamininducerade kvaddlarna gjorda vid samma tidpunkt togs med i beräkningarna baserat på att sannolikheten att en kvaddel blir falskt negativ är större än att den blir falskt positiv. En tänkbar orsak till falskt små kvaddlar är att man hamnar för djupt i huden med kanylspetsen och därmed injicerar histaminet helt eller delvis subkutant.

Mätfel kan ge både falskt små och stora kvaddlar. Faktorer som försvårade korrekt avläsning av kvaddlarna var stundtals diffus avgränsning hos dessa, rodnad och/eller pigmentering i området och svårighet att hålla huden utsträckt i samma grad vid varje avläsning.

T-test kan användas för att jämföra om signifikant skillnad föreligger mellan två normalfördelade populationer (stickprov). Nollhypotesen är att medelvärdena i de två stickproven är identiska. Dubbelsidigt t-test användes genomgående, vilket innebär att avvikelser från nollhypotesen åt någotdera hållet testas, d.v.s. både ökning och minskning beaktas. Signifikans erhålls om testets p-värde har samma värde som eller är lägre än signifikansnivån. Vid signifikans är avvikelsen statistiskt säkerställd och nollhypotesen förkastas. Vid ett icke signifikant testresultat kan avvikelserna ligga inom felmarginalen vilket gör att nollhypotesen inte kan förkastas. Bonferronikorrektion minskar sannolikheten för falskt positiva, d.v.s. falskt signifikanta resultat. Samtidigt ökar risken för falskt negativa resultat. Korrektionen görs eftersom risken för felaktiga (falskt positiva) testresultat ökar vid upprepade hypotestest utförda på samma grupp, i vårt fall ofta hypotestest för varje provtagningstidpunkt (13 stycken totalt). Korrektionen ökar sannolikheten för att de skillnader som redovisats i det här arbetet är faktiska skillnader inom försökspopulationen och inte ett utfall av slumpen.

Beteendestudien

I beteendestudien lades fokus på beteendekategorierna ”blundar”, ”ligger” och ”aktiv” då dessa ansågs ha störst betydelse som mått på grad av dåsighet. Med Wilcoxon Signed-Rank Test jämfördes medelvärden under de olika behandlingarna. Testet används med fördel vid parvisa jämförelser och är ett alternativ till t-test då data inte är normalfördelad. Om differensen mellan två parvisa observationer är noll tas dessa ur beräkningen med risk för att testunderlaget blir för litet om detta sker frekvent. Jämförelse mellan enstaka filmsekvenser försvårades av denna anledning. För att undvika detta fenomen adderades observationerna så att varje hunds värden för hela beteendestudien jämfördes.

Eftersom den intra-individuella skillnaden kan antas vara mindre än den inter-individuella ökar den statistiska styrkan vid jämförelse av en individ med sig själv, därför är parade prov att föredra. Detta fenomen styrks även av de erhållna resultaten. Att endast fyra av åtta hundar inkluderades i studien minskar dock tillförlitligheten av resultatet. Hundarna som inkluderades i studien var i bild 68, 97, 100 respektive 100 % av tiden i den första försöksomgången. Alla deltagande hundar var i bild under hela den andra försöksomgången. Att två av hundarna som inkluderades i studien var ur bild vid 3 respektive 32 % av observationstillfällena under den första försöksomgången medför risk för falskt lågt antal observationer för de beteenden vi vill studera i den aktuella försöksomgången och därmed inkorrekta resultat vid signifikansprövning.

Förmodligen påverkades hundarnas beteende i högre grad av andra faktorer än cetirizinbehandlingen. En av hundarna löpte under den andra försöksomgången och sökte därför konstant de andra hundarnas uppmärksamhet. Denna hund analyserades inte statistiskt men kan ha bidragit till fler aktiva beteenden hos andra hundar som inkluderades i studien. Att eliminera faktorer som påverkan av andra hundar i gruppen samt ljud och/eller människor som rör sig i närmiljön är svårt, men höglöp skulle kanske ha gått att undvika även om det rörde sig om en grupp intakta tikar då löpperioder protokollförs av skötaren. Tillgången till hundarna var dock inte flexibel i vårt fall.

En faktor som kan skilja sig åt mellan försöksomgångarna var temperaturen i rummet hundarna vistades i (årstidsvariation). Hässjning observerades hos två hundar under den första försöksomgången, under vilken den ena behandlades med cetirizin och den andra med placebo. Detta kan förmodligen kopplas till sommarvärmen. Majoriteten av de ”samtidiga” beteendena, hässjning inkluderat, skedde så sällan att det inte gick att analysera dessa statistiskt. Av denna anledning slogs olika kategorier av positionsbeteendena (Tabell 1) ihop inför de statistiska analyserna. De mer övergripande kategorierna ”ligger” och ”aktiv” analyserades statistiskt.

Huruvida en eventuell skillnad i plasmakoncentration av cetirizin mellan hundar som fick olika doser skillnader i förekomst av de beteenden vi studerat är inte undersökt. Eftersom inga signifikanta skillnader påvisades mellan placebo- och cetirizinbehandling är det antagligen än mindre sannolikt att skillnader mellan hundar med inbördes skillnader i plasmakoncentration påvisas. Hund C och D fick cetirizin i doser om 4 mg/kg följt av 2 mg/kg medan hund F och H fick 4 mg/kg genomgående.

Konklusion

Sammantaget visar den här studien att cetirizin i doser om 2-4 mg/kg en gång dagligen har god inhiberande effekt på histamininducerade kvaddlar i huden hos friska försökshundar efter peroral administration. Ingen signifikant skillnad påvisades gällande grad av dåsighet hos hundarna under cetirizinbehandling jämfört med placebobehandling. Framtida väl genomförda kontrollerade kliniska studier krävs för att utvärdera ifall cetirizin är användbart vid AD på hund.

REFERENSER

- Alksne, J.F. (1959). The passage of colloidal particles across the dermal capillary wall under the influence of histamine. *Experimental Physiology*, 44: 51-66.
- Anton, A.H. & Sayre, D.F. (1969). A modified fluorometric procedure for tissue histamine and its distribution in various animals. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 166: 285-292.
- Ash, A.S.F., & Schild, H.O. (1966). Receptors mediating some actions of histamine. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*, 2: 427-439.
- Auxilia, S.T. & Hill, P.B. (2000). Mast cell distribution, epidermal thickness and hair follicle density in normal canine skin: possible explanations for the predilection sites of atopic dermatitis? *Veterinary Dermatology*, 11: 247-254.
- Becker, K.E., Ishizaka, T., Metzger, H., Ishizaka, K. & Grimley, P.M. (1973). Surface IgE on human basophils during histamine release. *The Journal of Experimental Medicine*, 138: 394-409.
- Bizikova, P., Papich, M.G. & Olivry, T. (2008). Hydroxyzine and cetirizine pharmacokinetics and pharmacodynamics after oral and intravenous administration of hydroxyzine to healthy dogs. *Veterinary Dermatology*, 19: 106.
- Bergvall, K. (2013). Kongresskompendium, Veterinärkongressen 2013, 121-126.
- Bouchard, G., Pagliara, A., Plemper van Balen, G., Carrupt, P., Testa, B., Gobry, V., Girault, H.H., Caron, G., Ermondi, G. & Fruttero, R. (2001). Ionic Partition Diagram of the Zwitterionic Antihistamine Cetirizine. *Helvetica Chimica Acta*, 84: 375-387.
- Bäumer, W., Stahl, J., Sander, K., Petersen, L.J., Paps, J., Stark, H., Kietzmann, M. & Olivry, T. (2011). Lack of preventing effect of systemically and topically administered histamine H1 or H4 receptor antagonists in a dog model of acute atopic dermatitis. *Experimental Dermatology*, 20: 577-581.

- Chen, C., Hanson, E., Watson, J.W. & Lee, J.S. (2003). P-glycoprotein limits the brain penetration of non-sedating but not sedating H₁-antagonists. *Drug Metabolism and Disposition*, 31:312–318.
- Cizinakaus, S., Jaggy, A. & Tipold, A. (2000). Long-term treatment of dogs with steroid-responsive meningitis-arteritis: clinical, laboratory and therapeutic results. *Journal of Small Animal Practice*, 41: 295-301.
- Clough, G.F., Bennett, A.R. & Church, M.K. (1998). Effects of H₁ antagonists on the cutaneous vascular response to histamine and bradykinin: a study using scanning laser Doppler imaging. *British Journal of Dermatology*, 138: 806-814.
- Cogé, F., Guénin, S., Rique, H., Boutin, J.A. & Galizzi, J. (2001). Structure and Expression of the Human Histamine H₄-Receptor Gene. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 284: 301-309.
- Colombo, S., Hill, P.B., Shaw, D.J. & Thoday, K.L. (2005). Effectiveness of low dose immunotherapy in the treatment of canine atopic dermatitis: a prospective, double-blinded, clinical study. *Veterinary Dermatology*, 16: 162-170.
- Cook, C.P., Scott, D.W., Miller Jr., W.H., Kirker, J.E. & Cobb, S.M. (2004). Treatment of canine atopic dermatitis with cetirizine, a second generation antihistamine: A single-blinded, placebo-controlled study. *The Canadian Veterinary Journal*, 45:414-417.
- Cowden, J.M., Zhang, M., Dunford, P.J. & Thurmond, R.L. (2010). The Histamine H₄ Receptor Mediates Inflammation and Pruritus in Th₂-Dependent Dermal Inflammation. *Journal of Investigative Dermatology*, 130: 1023-1033.
- Cramer O'Donnell, M., Ackerman, S.J., Gleich, G.J. & Thomas, L.L. (1983). Activation of basophil and mast cell histamine release by eosinophil granule major basic protein. *The Journal of Experimental Medicine*, 157: 1981-1991.
- DeBoer, D.J. & Griffin, C.E. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXI): antihistamine pharmacotherapy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81: 323-329.
- De Vos, C., Maleux, M., Baltes, E. & Gobert, J. (1987). Inhibition of histamine and allergen skin wheal by cetirizine in four animal species. *Annals of Allergy*, 59: 278-282.
- Dvorak, A.M., MacGlashan, D.W., Jr., Morgan, E.S. & Lichtenstein, L.M. (1995). Histamine Distribution in Human Basophil Secretory Granules Undergoing FMLP-Stimulated Secretion and Recovery. *Blood*, 86: 3560-3566.
- Eichenseer, M., Johansen, C. & Mueller, R.S. (2013). Efficacy of dimetinden and hydroxyzine/chlorpheniramine in atopic dogs: a randomised, controlled, double-blinded trial. *Veterinary Record*, 173:423.
- Fazakerley, J., Nuttall, T., Sales, D., Schmidt, V., Carter, S.D., Hart, C.A. McEwan, N.A. (2009). Staphylococcal colonization of mucosal and lesional skin sites in atopic and healthy dogs. *Veterinary Dermatology*, 20: 179-184.
- Fischer, M., Harvima, I.T., Carvalho, R.F.S., Möller, C., Naukkarinen, A., Enblad, G. & Nilsson, G. (2006). Mast cell CD30 ligand is upregulated in cutaneous inflammation and mediates degranulation-independent chemokine secretion. *The Journal of Clinical Investigation*, 116: 2748-2756.
- Fontaine, J. & Olivry, T. (2001). Treatment of canine atopic dermatitis with cyclosporine: a pilot clinical study. *Veterinary Record*, 148: 662-663.

- Gantz, I., Schäffer, M., DelValle, J., Logsdon, C., Campbell, V., Uhler, M. & Yamada, T. (1991). Molecular cloning of a gene encoding the histamine H2 receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88: 429-433.
- Gillard, M., Strolin Benedetti, M., Chatelain, P. & Baltes, E. (2005). Histamine H1 receptor occupancy and pharmacodynamics of second generation H1-antihistamines. *Inflammation Research*, 54: 367-369.
- Griffin, C.E. & DeBoer, D.J. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81: 225-269.
- Gupta, J., Grube, E., Ericksen, M., Stevenson, M.D., Lucky, A.W., Sheth, A.P., Assa'ad, A.H. & Khurana Hershey, G.K. (2008). Intrinsically defective skin barrier function in children with atopic dermatitis correlates with disease severity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 121: 725-730.
- Guzik, T.J., Bzowska, M., Kasprowicz, A., Czerniawska-Mysik, G., Wójcik, K., Adamek-Guzik, T. & Pryjma, J. (2005). Persistent skin colonization with *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis: relationship to clinical and immunological parameters. *Clinical and Experimental Allergy*, 35: 448-455.
- Haas, H.L. (1984). Histamine potentiates neuronal excitation by blocking a calcium-dependent potassium conductance. *Agents and Actions*, 14: 534-537.
- Hamid, Q., Barkans, J., Meng, Q., Ying, S., Abrams, J.S., Kay, B. & Moqbel, R. (1992). Human Eosinophils Synthesize and Secrete Interleukin-6, In Vitro. *Blood*, 80: 1496-1501.
- Hansson, H., Bergvall, K., Bondesson, U., Hedland, M. & Törneke, K. (2004). Clinical pharmacology of clemastine in healthy dogs. *Veterinary Dermatology*, 15: 152-158.
- Hara, J., Higuchi, K., Okamoto, R., Kawashima, M. & Imokawa, G. (2000). High-Expression of Sphingomyelin Deacylase is an Important Determinant of Ceramide Deficiency Leading to Barrier Disruption in Atopic Dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*, 115: 406-413.
- Hardie, R.J., Gregory, S.P., Tomlin, J., Sturgeon, C., Lipscomb, V. & Ladlow, J. (2005). Cyclosporine treatment of anal furunculosis in 26 dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 46: 3-9.
- Hill, P.B., Lo, A., Eden, C.A.N., Huntley, S., Morey, V., Ramsey, S., Richardson, C., Smith, D.J., Sutton, C., Taylor, M.D., Thorpe, E., Tidmarsh, R. & Williams, V. (2006). Survey of the prevalence, diagnosis and treatment of dermatological conditions in small animals in general practice. *Veterinary Record*, 158: 533-539.
- Hillier, A. & Griffin, C.E. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (X): is there a relationship between canine atopic dermatitis and cutaneous adverse food reactions? *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81: 227-231.
- Hon, K.E., Wong, K.Y., Leung, T., Chow, C. & Ng, P. (2008). Comparison of Skin Hydration Evaluation Sites and Correlations among Skin Hydration, Transepidermal Water Loss, SCORAD Index, Nottingham Eczema Severity Score, and Quality of Life in Patients with Atopic Dermatitis. *American Journal of Clinical Dermatology*, 9: 45-50.
- Ishikawa, S. & Sperelakis, N. (1987). A novel class (H3) of histamine receptors on perivascular nerve terminals. *Nature*, 327: 158-160.

- John, J., Wu, M-F, Boehmer, L.N. & Siegel, J.M. (2004). Cataplexy-Active Neurons in the Hypothalamus: Implications for the Role of Histamine in Sleep and Waking Behavior. *Neuron*, 42: 619-634.
- Keppel, K.E., Campbell, K.L., Zuckermann, F.A., Greeley, E.A., Schaffer, D.J. & Husmann, R.J. (2008). Quantitation of canine regulatory T cell populations, serum interleukin-10 and allergen-specific IgE concentrations in healthy control dogs and canine atopic dermatitis patients receiving allergen-specific immunotherapy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123: 337-344.
- Kubes, P. & Kanwar, S. (1994). Histamine induces leukocyte rolling in post-capillary venules. A P-selectin-mediated event. *Journal of Immunology*, 152: 3570-3577.
- Löflath, A., von Voigts-Rhetz, A. Jaeger, K., Schmidt, M., Kuechenhoff, H. & Mueller, R.S. (2007). The efficacy of a commercial shampoo and whirlpooling in the treatment of canine pruritus – a double-blinded, randomized, placebo-controlled study. *Veterinary Dermatology*, 18: 427-431.
- Meslin, J.C., Wal, J.M. & Rochet, V. (1990). Histamine and mast cell distribution in the intestinal wall of the germ free and conventional rats. Influence of the mode of sterilization of the diet. *Agents and Actions*, 29: 131-137.
- Miller W.H. Jr., Scott, D.W. & Wellington, J.R. (1993). A clinical trial on the efficacy of clemastine in the management of allergic pruritus in dogs. *Canadian Veterinary Journal*, 34: 25-27
- Majno, G. & Palade, G.E. (1961). Studies on inflammation. I. The Effect of Histamine and Serotonin on Vascular Permeability: An Electron Microscopic Study. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, 11: 572-605.
- Majno, G., Palade, G.E. & Schoefl, G.I. (1961). Studies on inflammation. II. The Site of Action of Histamine and Serotonin along the Vascular Tree: A Topographic Study. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, 11: 607-626.
- Marsella, R., Olivry, T., Nicklin, C. & Lopez, J. (2006). Pilot investigation of a model for canine atopic dermatitis: environmental house dust mite challenge of high-IgE-producing beagles, mite hypersensitive dogs with atopic dermatitis and normal dogs. *Veterinary Dermatology*, 17: 24-35.
- Matsumoto, T., Kanaide, H., Nishimura, J., Shogakiuchi, Y., Kobayashi, S. & Nakamura, M. (1986). Histamine activates H1-receptors to induce cytosolic free calcium transients in cultured vascular smooth muscle cells from rat aorta. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 135: 172-177.
- Morse, K.L., Behan, J., Laz, T.M., West, R.E., Greenfeder, Jr., S.A., Anthes, J.C., Umland, S., Wan, Y., Hipkin, R.W., Gonsiorek, W., Shin, N., Gustafson, E.L., Qiao, X., Wang, S., Hendrick, J.A., Greene, J., Bayne, M. & Monsma, Jr., F.J. (2001). Cloning and Characterization of a Novel Human Histamine Receptor. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 269: 1058-1066.
- Macfarlane, A.J., Kon, O.M., Smith, S.J., Zeibecoglou, K., Khan, L.N., Barata, L.T., McEuen, A.R., Buckley, M.G., Walls, A.F., Meng, Q., Humbert, M., Barnes, N.C., Robinson, D.S., Ying, S. & Kay, A.B. (2000). Basophils, eosinophils, and mast cells in atopic and nonatopic asthma and in latephase allergic reactions in the lung and skin. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 105: 99-107.
- Murakami, H., Sun-Wada, G., Matusumoto, M., Nishi, T., Wada, Y. & Futai, M. (1999). Human histamine H2 receptor gene: multiple transcription initiation and tissue-specific expression. *FEBS Letters*, 451: 327-331.

- Nakamura, T., Itadani, H., Hidaka, Y., Ohta, M. & Tanaka, K. (2000). Molecular Cloning and Characterization of a New Human Histamine Receptor, HH4R. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 279: 615-620.
- Nardoni, S., Mancianti, F., Corazza, M. & Rum, A. (2004). Occurrence of *Malassezia* species in healthy and dermatologically diseased dogs. *Mycopathologia*, 157: 383-388.
- Nielsen, P.N., Skov, P.S., Poulsen, L.K., Schmelz, M. & Petersen, L.J. (2001). Cetirizine inhibits skin reactions but not mediator release in immediate and developing late-phase allergic cutaneous reactions. A double-blind, placebo-controlled study. *Clinical and Experimental Allergy*, 31: 1378-1384.
- Nguyen, T., Shapiro, D.A., George, S.R., Setola, V., Lee, D.K., Cheng, R., Rauser, L., Lee, S.P., Lynch, K.R., Roth, B.L. & O'Dowd, B.F. (2001). Discovery of a Novel Member of the Histamine Receptor Family. *Molecular Pharmacology*, 59: 427-433.
- Nuttall, T., Mueller, R., Bensignor, E., Verde, M., Noli, C., Schmidt, V. & Réme, C. (2009). Efficacy of a 0.0584% hydrocortisone aceponate spray in the management of canine atopic dermatitis: a randomised, double blind, placebo-controlled trial. *Veterinary Dermatology*, 20: 191-198.
- Nuttall, T.J., McEwan, N.A., Bensignor, E., Cornegliani, L., Löwenstein, C. & Réme, C.A. (2011). Comparable efficacy of a topical 0.0584% hydrocortisone aceponate spray and oral ciclosporin in treating canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 23: 4-10.
- Obradovic, T., Dobson, G.G., Shingaki, T., Kungu, T. & Hidalgo, I.J. (2007). Assessment of the First and Second Generation Antihistamines Brain Penetration and Role of P-Glycoprotein. *Pharmaceutical Research*, 24: 318-327.
- Oda, T., Morikawa, N., Saito, Y., Masuho, Y. & Matsumoto, S. (2000). Molecular Cloning and Characterization of a Novel Type of Histamine Receptor Preferentially Expressed in Leukocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, 275: 36781-36786.
- Olivry, T., DeBoer, D.J., Favrot, C., Jackson, H.A., Mueller, R.S., Nuttal, T. & Prélaud, P. (2010a). Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 21: 233-248.
- Olivry, T., Dunston, S.M., Murphy, K.M. & Moore, P.F. (2001). Characterization of the inflammatory infiltrate during IgE-mediated late phase reactions in the skin of normal and atopic dogs. *Veterinary Dermatology*, 12: 49-58.
- Olivry, T., Foster, A.P., Mueller, R.S., McEwan, N.A., Chesney, C. & Williams, H.C. (2010b). Interventions for atopic dermatitis in dogs: a systematic review of randomized controlled trials. *Veterinary Dermatology*, 21: 4-22.
- Olivry, T., Moore, P.F., Affolter, V.K. & Naydan, D.K. (1996). Langerhans cell hyperplasia and IgE expression in canine atopic dermatitis. *Archives of Dermatological Research*, 288: 579-585.
- Olivry, T., Rivierre, C., Jackson, H.A., Murphy, K.M., Davidson, G. & Sousa, C.A. (2002). Cyclosporine decreases skin lesions and pruritus in dogs with atopic dermatitis: a blinded randomized prednisolone-controlled trial. *Veterinary Dermatology*, 13: 77-87.
- Olivry, T. & Sousa, C.A. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XX): glucocorticoid pharmacotherapy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81: 317-322.
- Olsén, L., Bondesson, U., Broström, H., Tjälve, H. & Ingvast-Larsson, C. (2008). Cetirizine in horses: Pharmacokinetics and pharmacodynamics following repeated oral administration. *The Veterinary Journal*, 117: 242-249.

- Olsén, L., Bondesson, U., Broström, H., Tjälve, H & Larsson, P. (2007). Cetirizine in horses: pharmacokinetics and effect of ivermectin pretreatment. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 30: 194-200.
- Olsén, L., Ingvast-Larsson, C., Larsson, P., Broström, H., Bondesson, U., Sundqvist, M. & Tjälve, H. (2006). Fexofenadine in horses: pharmacokinetics, pharmacodynamics and effect of ivermectin pretreatment. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 29: 129-135.
- Owen, D.A.A., Poy, E. & Woodward, D.F. (1980). Evaluation of the role of histamine H1- and H2-receptors in cutaneous inflammation in the guinea-pig produced by histamine and mast cell degranulation. *British Journal of Pharmacology*, 69: 615-623.
- Piekutowska, A., Pin, D., Réme, C.A., Gatto, H. & Haftek, M. (2008). Effects of a Topically Applied Preparation of Epidermal Lipids on the Stratum Corneum Barrier of Atopic Dogs. *Journal of Comparative Pathology*, 138: 197-203.
- Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M., Flower, R.J. & Henderson, G. (2012). Rang and Dale's Pharmacology. 7. ed. Edinburgh: Elsevier Churchill Livingstone.
- Riley, J.F. & West, G.B. (1953). The presence of histamine in tissue mast cells. *The Journal of Physiology*, 120: 528-537.
- Scott, D.W., Miller, W.H., Cayatte, S.M. & Decker, G.A. (1994). Failure of terfenadine as an antipruritic agent in atopic dogs: Results of a double-blinded, placebo-controlled study. *Canadian Veterinary Journal*, 35: 286-288.
- Segal, D.M., Taurog, J.D. & Metzger, H. (1977). Dimeric immunoglobulin E serves as a unit signal for mast cell degranulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74: 2993-2997.
- Shimada, K., Yoon, J-S., Yoshihara, T., Iwasaki, T. & Nishifuji, K. (2009). Increased transepidermal water loss and decreased ceramide content in lesional and non-lesional skin of dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 20: 541-546.
- Shore, P.A., Burkhalter, A. & Cohn, V. (1959). A method for the fluorometric assay of histamine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 127: 182-186.
- Smyth, M.J., Zachariae, C.O.C., Norihism, Y., Ortaldo, J.R., Hishinuma, A. & Matsushima, K. (1991). IL-8 gene expression and production in human peripheral blood lymphocyte subsets. *The Journal of Immunology*, 146: 3815-3823.
- Statens jordbruksverks föreskrifter (SJVFS 2009:84) om läkemedel och läkemedelsanvändning, ändrad genom SJVFS 2012:32, saknr D 9.
- Steffan, J., Alexander, D., Brovedani, F. & Fisch, R.D. (2003). Comparison of cyclosporine A with methylprednisolone for treatment of canine atopic dermatitis: a parallel, blinded, randomized controlled trial. *Veterinary Dermatology*, 14: 11-22.
- Sævik, B.K., Bergvall, K., Holm, B.R., Saijonmaa-Koulumies, L.E., Hedhammar, Å., Larsen, S. & Kristensen, F. (2004). A randomized, controlled study to evaluate the steroid sparing effect of essential fatty acid supplementation in the treatment of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 15: 137-145.
- Tagawa, M., Kano, M., Okamura, N., Higuchi, M., Matsuda, M., Mizuki, Y., Arai, H., Iwata, R., Fujii, T., Komemushi, S., Ido, T., Itoh, M., Sasaki, H., Watanabe, T. & Yanai, K. (2001). Neuroimaging of histamine H1-receptor occupancy in human brain by positron emission tomography (PET): A

- comparative study of ebastine, a second-generation antihistamine, and (+)-chlorpheniramine, a classical antihistamine *British Journal of Clinical Pharmacology*, 52: 501-509.
- Takaori, K., Nio, Y., Inoue, K., Tun, T., Fukumoto, M., Hashida, T., Yasuhara, M., Hori, R. & Tobe, T. (1992). A comparative study on immunosuppressive effects of cyclosporin A and FK 506 on peripheral blood lymphocytes in dogs. *Biotherapy*, 4: 129-137.
- Temizel, E.M., Cihan, H., Akhtardanesh, B. & Aytug, N. (2011). Effect of prednisolone and cetirizine on *D. farinae* and histamine-induced wheal and flare response in healthy dogs. *Tierärztliche Praxis Kleintiere*, 39: 25-30.
- Thiebaut, F., Tsuruo, T., Hamada, H., Gottesman, M.M., Pastan, I. & Willingham, M.C. (1987). Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84: 7735-7738.
- Thurmond, R.L., Gelfand, E.W. & Dunford, P.J. (2008). The role of histamine H1 and H4 receptors in allergic inflammation: the search for new antihistamines. *Nature Reviews Drug Discovery*, 7: 41-53.
- Tizard, I.R. (2004). *Veterinary Immunology: An introduction*. 7.ed. London. Saunders.
- Tredway Graham, H., Lowry, O.H., Wheelwright, F., Lenz, M.A. & Parish, H.H., Jr. (1955). Distribution of Histamine among Leukocytes and Platelets. *Blood*, 10: 467-481.
- Törneke, K., Ingvast-Larsson, C., Pettersson, K., Bergvall, K., Hedeland, M., Bondesson, U. & Broström, H. (2003). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of clemastine in healthy horses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 26: 151-157.
- Vannier, E. & Dinarello, C.A. (1993). Histamine Enhances Interleukin (IL)-1-induced IL-1 Gene Expression and Protein Synthesis via H2 Receptors in Peripheral Blood Mononuclear Cells. Comparison with IL-1 Receptor Antagonist. *Journal of Clinical Investigation*, 92: 281-287.
- Wilmer, J.L., Burleson, F.G., Kayma, F., Kanno, J. & Luster, M.I. (1994). Cytokine Induction in Human Epidermal Keratinocytes Exposed to Contact Irritants and Its Relation to Chemical-Induced Inflammation in Mouse Skin. *The Journal of Investigative Dermatology*, 102: 915-922.
- Yamaguchi, M., Lantz, C.S., Oettgen, H.C., Katona, I.M., Flemming, T., Miyajima, I., Kinet, J-P. & Galli, S.J. (1997). IgE Enhances Mouse Mast Cell FcεRI Expression In Vitro and In Vivo: Evidence for a Novel Amplification Mechanism in IgE-dependent Reactions. *The Journal of Experimental Medicine*, 185: 663-672.
- Yamaki, K., Thorlacius, H., Xie, X., Lindbom, L., Hedqvist, P. & Raud, J. (1998). Characteristics of histamine-induced leukocyte rolling in the undisturbed microcirculation of the rat mesentery. *British Journal of Pharmacology*, 123: 390-399.
- Yamashita, M., Fukui, H., Sugama, K., Horio, Y., Ito, S., Mizuguchi, H. & Wada, H. (1991). Expression cloning of a cDNA encoding the bovine histamine H1 receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88: 11515-11519.
- Yanai, K., Ryu, J.H., Watanabe, T., Iwata, R., Ido, T., Sawai, Y., Ito, K. & Itoh, M. (1995). Histamine H1 receptor occupancy in human brains after single oral doses of histamine H1 antagonists measured by positron emission tomography. *British Journal of Pharmacology*, 116: 1649-1655.
- Zheng, Y., Danilenko, D.M., Valdez, P., Kasman, I., Eastham-Anderson, J., Wu, J. & Ouyang, W. (2007). Interleukin-22, a TH17 cytokine, mediates IL-23-induced dermal inflammation and acanthosis. *Nature*, 445: 648-651.

- Zhu, Y., Michalovich, D., Wu, H., Tan, K.B., Dytko, G.M., Mannan, I.J., Boyce, R., Alston, J., Tierney, L.A., Li, X., Herrity, N.C., Vawter, L., Sarau, H.M., Ames, R.S., Davenport, C.M., Hieble, J.P., Wilson, S., Bergsma, D.J. & Fitzgerald, L.R. (2001). Cloning, Expression, and Pharmacological Characterization of a Novel Human Histamine Receptor. *Molecular Pharmacology*, 59: 434-441.
- Zur, G., Ihrke, P.J., White, S.D. & Kass, P.H. (2002). Canine atopic dermatitis: a retrospective study of 266 cases examined at the University of California, Davis, 1992–1998. Part I. Clinical features and allergy testing results. *Veterinary Dermatology*, 13: 89-102.