

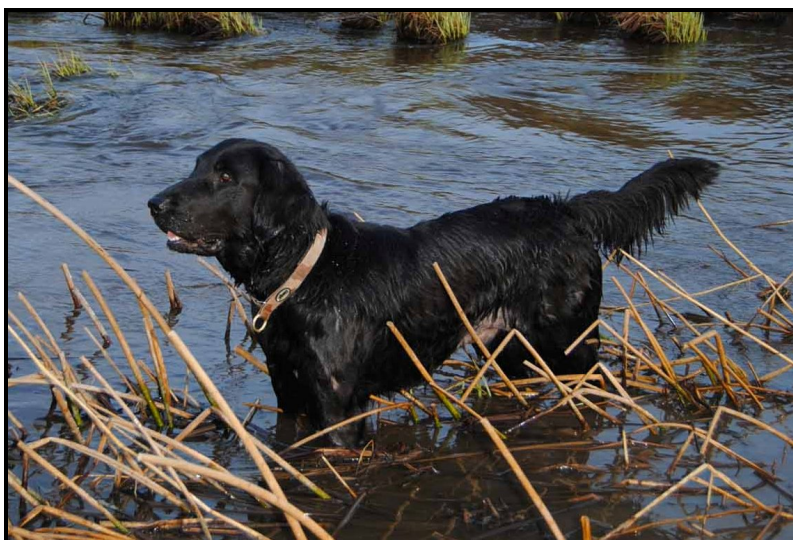


Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Mastcellens roll vid atopisk dermatit hos hund

Sofie Andersson



Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011:04

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2011



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Mastcellens roll vid atopisk dermatit hos hund

The role of mast cells in canine atopic dermatitis

Sofie Andersson

Handledare:

Gunnar Pejler, SLU, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Examinator:

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2011

Omslagsbild: Sofie Andersson

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011:04
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: mastcell, inflammation, atopisk dermatit, hund, allergi, typ 1 överkänslighet, allergenspecifik immunoterapi, hyposensibilisering, intradermaltest, ärftlighet

Key words: mast cell, inflammation, canine atopic dermatitis, dog, allergy, type 1 hypersensitivity, allergen specific immunotherapy, intradermal test, heritability

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	2
ORDLISTA	3
INLEDNING	5
MATERIAL OCH METODER	5
LITTERATURÖVERSIKT	6
Hundens mastceller	6
Förekomst och lokalisation	6
Morfologi	6
Sekretoriska granula	6
Mediatorer	7
Funktion och aktivitet	7
Atopisk dermatit hos hund	8
Bakgrund	8
Förekomst och riskfaktorer	8
Allergenkontakt	8
Genetisk predisposition	9
Ärftlighet	9
Patogenesen och dess immunologiska bakgrund	9
Tidig reaktionsfas	10
Sen reaktionsfas	12
Kronisk fas	13
Att ställa diagnos	13
Behandlingsalternativ	14
Allmänt om behandling	14
Profylaktisk behandling	14
Farmakologisk behandling	15
Allergenspecifik immunoterapi	16
DISKUSSION	17
REFERENSER	18

SAMMANFATTNING

Denna litteraturstudie har gjorts med syfte att utöka kunskapen om atopisk dermatit hos hund med fokus på mastcellens roll i immunopatogenesen. Atopisk dermatit är en relativt vanlig sjukdom som kan drabba alla hundar oavsett ras; den är oftast livslång och kräver visst arbete för att diagnosticera och behandla med gott resultat. Förutom att det är ett problem hos hundar, finns även ett nära samband med atopiska sjukdomar hos människa, och hundar fungerar som en bra modell för forskning på humansidan.

Trots omfattande forskning, vet man fortfarande inte varför sjukdomen uppkommer. Många teorier finns kring den immunologiska bakgrunden, men stora delar är fortfarande okända. Att mastcellen spelar en nyckelroll är dock allmänt vedertaget. Mastcellens konstanta placering ute i vävnaden, samt dess karaktäristiska innehåll av granula med många olika mediatorer, möjliggör ett snabbt och specifikt inflammationssvar mot inkommande ämnen och organismer. Hos atopiska hundar har man upptäckt överaktiva mastceller som utsöndrar större mängd mediatorer och bidrar till att driva inflammationen mot ett felaktigt Th2-svar, med överproduktion av allergenspecifika IgE-antikroppar som följd.

SUMMARY

This literature study has been done in order to increase the knowledge of atopic dermatitis in dogs, with focus on the mast cell's role in the immune pathogenesis. Atopic dermatitis is a relatively common disorder that can affect all dogs regardless of breed; it is usually lifelong and requires some work to diagnose and to treat successfully. Apart from being a problem in dogs, it is also closely related to atopic diseases in humans, and dogs have been shown to act as good models for research on human disease.

Despite extensive research, the cause of the disease it is still not known. Many theories exist about the immunological background, but large parts are still unknown. That the mast cell plays a key role is though widely accepted. The mast cell's constant location in tissues, and its characteristic content of granules with a variety of mediators, enables a rapid and specific inflammatory response against foreign substances and organisms. In atopic dogs, hyperactive mast cells have been discovered that secrete large amount of mediators and participate in driving the inflammation against a detrimental Th2 response, with overproduction of allergen-specific IgE antibodies as a result.

ORDLISTA

Adherera	Fästa vid
Affinitet	Hur gärna och hur starkt två komponenter binder till varandra
Allergen	Ämne som kan orsaka allergi hos vissa individer
Alopeci	Håravfall
Amorf	Oformlig
Antagonist	Binder till samma receptor och hindrar därmed ett annat ämne att binda
Antikropp	Y-formad, produceras av B-celler, binder specifikt till antigen
Arvbarhet	Hur stor andel av en egenskap som beror på generna
Atrofi	Nedbrytning
Axiller	Armhålör
Calcinosis cutis	Sjuklig upplagring av kalk i huden
Korneocyter	Hudceller
Dermatit	Hudinflammation
Dermis	Underhuden
Elektrontät	Ser svart ut i elektronmikroskop på grund av många elektroner
Endotelceller	Bildar blodkärlens avgränsning mot omgivningen
Epidermis	Överhuden
Epikutan	Genom huden
Erythem	Rodnad
Essentiella fettsyror	Viktiga fettsyror som djuret inte kan bilda själv utan måste få i sig utifrån
Evidens	Vetenskapliga bevis
Fosforylera	Tillföra en fosformolekyl, vilket kan aktivera eller inaktivera
Glukokortikoider	Grupp av läkemedel, ex. kortison
Hyperpigmentering	Huden blir mörkare
Incidens	Antal fall som uppkommer inom en viss tidsperiod
Inhalation	Inandning
Inhibitorisk	Hämmande
Intradermalt	Inuti huden
Kinas	Enzym med viktiga funktioner i olika reaktioner inuti celler
Korrelation	Samband
Kutan	På huden
Lesioner	Sjukliga förändringar
Likenifikation	Hudförtjockning
Lipider	Fettsyror
Malassezia	Vanligaste jästsvampen som infekterar hundar
Myosin	Komponent i cellens skelett, viktig vid bl.a. muskelsammandragningar
Nukleol	Litet hålrum i cellen

Otitis externa	Inflammation i ytterörat
Papler	Knotttror
Patognomoniskt	Symtom specifikt för en sjukdom, används för att ställa diagnos
Patogenes	Sjukdomsförlopp
Persistera	Finnas kvar
Plasmamembran	Utgör cellens yta mot omgivningen
Polydipsi	Dricker mycket
Polyfagi	Äter mycket
Polyuri	Kissar mycket
Predisponering	Vissa grupper har högre prevalens än andra
Preformerad	När ämnen som bildats finns upplagrade
Prekursor	Ett förstadie före utmognad
Prevalens	Antal sjuka individer i en population vid en viss tidpunkt
Proliferera	Föröka, bli fler
Proteas	Enzym som bryter ned proteiner
Pyo-	Varig
Rhinit	Rinnande näsa, snuva
Sederande	Sövande
Serologi	Blodprov som analyseras med avseende på antikroppar
Signifikant	Statistiskt säkerställd
Stratum corneum	Yttersta, förhårdnade hudlagret
Stratum granulosum	Hudlagret under corneum

INLEDNING

Mastcellen utgör en del av det medfödda och ospecifika immunförsvaret, där den utövar sin effekt genom att frigöra en mängd olika inflammatoriska mediatorer. Trots att mastcellen har många goda egenskaper, är den mest känd för sin medverkan vid allergiska reaktioner (Pejler & Nilsson, 2009). Atopisk dermatit är en form av allergi med relativt hög prevalens i den totala hundpopulationen och trots att det finns en genetisk predisponering kan alla hundar oavsett ras drabbas av sjukdomen. Allergin är ofta livslång; den kan orsaka mycket lidande hos den drabbade hunden, och kräver tid och engagemang av både hundägare och den konsulterade veterinären.

Trots sjukdomens höga prevalens och kliniska betydelse, är mycket okänt vad gäller den bakomliggande immunopatogenesen. Forskningsframsteg sker dock kring mastcellens biologi, även i Sverige (Pejler & Nilsson, 2009). Hunden är en bra modell för allergiforskning hos människor då man har upptäckt fundamentala likheter mellan arterna vad gäller atopiska sjukdomar (Olivry et al., 2004). Forskning kring atopisk dermatit är därför inte bara av stort intresse för hundägare och veterinärer, utan kan även gagna den mänskliga populationen.

Jag har själv intresse av att utveckla mina egna kunskaper inom ämnet, samt sprida vetenskapen vidare. Detta beror på att min hund har plågats av atopisk dermatit sedan han var sex månader gammal, men trots tydliga symtom inte fått någon diagnos förrän flera år senare. Mitt syfte är därför att bidra till en ökad kännedom om atopisk dermatit. Frågeställning är: vad är mastcellens roll i immunopatogenesen, och hur kan den påverka sjukdomens uppkomst och fortgång?

MATERIAL OCH METODER

Detta arbete är en ren litteraturstudie. Då det finns många vetenskapliga artiklar inom ämnet allergi, krävdes flera sökord i PubMed för att minska antalet träffar: (*canine OR dog OR dogs*) AND (*allergy OR atopy OR atopic OR hypersensitivity*) AND *mast cell* AND (*skin OR cutaneous OR dermal OR dermatitis*). Efter att ha läst igenom artiklarna gjordes mer specifika sökningar, exempelvis *canine AND mast cell AND releasability*. Komplettering gjordes på Web of Knowledge med de senaste forskningsresultaten kring atopisk dermatit hos hund. Även sökning efter svenska artiklar gjordes via Artikelsök med sökorden *atopisk OCH dermatit*.

LITTERATURÖVERSIKT

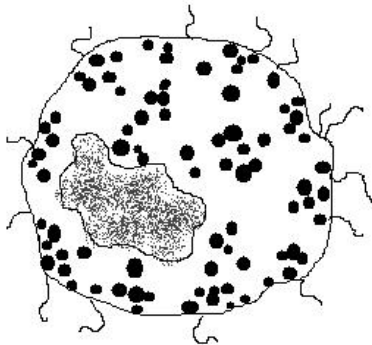
Hundens mastceller

Förekomst och lokalisering

Mastceller bildas från pluripotenta, hematopoetiska stamceller i benmärgen. Som morfologiskt oidentifierbara prekursorer emigrerar de ut i den perifera vävnaden, där mognaden sker. Denna påverkas av liganden till c-kit, stamcellsfaktor (SCF), som produceras av stromaceller, samt andra lokalt producerade cytokiner, exempelvis interleukin 3 (IL-3). SCF underlättar dessutom adhesion till fibroblaster och extracellulära matrix, och påverkar på så sätt mastcellernas migration och distribution. Mastceller finns som enda hematopoetiska cellerna i moget tillstånd ute i vävnaden även hos friska djur, runt nerver, blodkärl och lymfkärl (Metcalf et al., 1997). Störst antal hittar man i de områden där främmande ämnen och mikroorganismer först hamnar, det vill säga under huden, i tarmarna, samt i luftvägarna. Till skillnad från mastceller i tarmen, verkar mastceller i bindväv inte kunna proliferera (Tizard, 2009).

Morfologi

Elektronmikroskopering av mastceller från huden, både före och efter degranulering, visar en ganska homogen mastcellspopulation, med enstaka stora runda celler. Diametern varierade mellan 7,5 och 12 μm , oavsett innehåll (García et al., 1998). Plasmamembranet har en del utskott, så kallade villi (se figur 1), som möjliggör kontakt mellan mastceller och andra celler i omgivningen, samt med små blodkärls basalmembran. I ljusmikroskop kan man dessutom se kontakt mellan mastcellernas cellmembran och omyeliniserade nervändar, vilket visar att mastcellen ingår i återkopplingssystem till centrala nervsystemet (Heine & Förster, 1975).



Figur 1. Hundens mastcell (efter García et al., 1998).

Även om mastceller till utseendet kan vara ganska homogena, har man i studier visat att innehållet i de sekretoriska granula kan skilja sig åt, vilket skapar en funktionell heterogenitet. Tre olika subtyper kan urskiljas genom att färga in snitt från hudbiopsier mot mastcellsspecifika proteaser: mastceller som enbart innehåller tryptas (T-MC), både tryptas och chymas (TC-MC), samt mastceller med enbart chymas (C-MC). TC-MC är den subtyp som dominerar i antal i huden hos både hund (70%) och människa (>99%) (Welle et al., 1999).

Sekretoriska granula

Mastcellens mest karaktäristiska drag är att dess cytoplasma innehåller massor av granula, det vill säga sekretoriska lysosomer, som starkt färgas av exempelvis toluidinblå och ofta döljer den stora

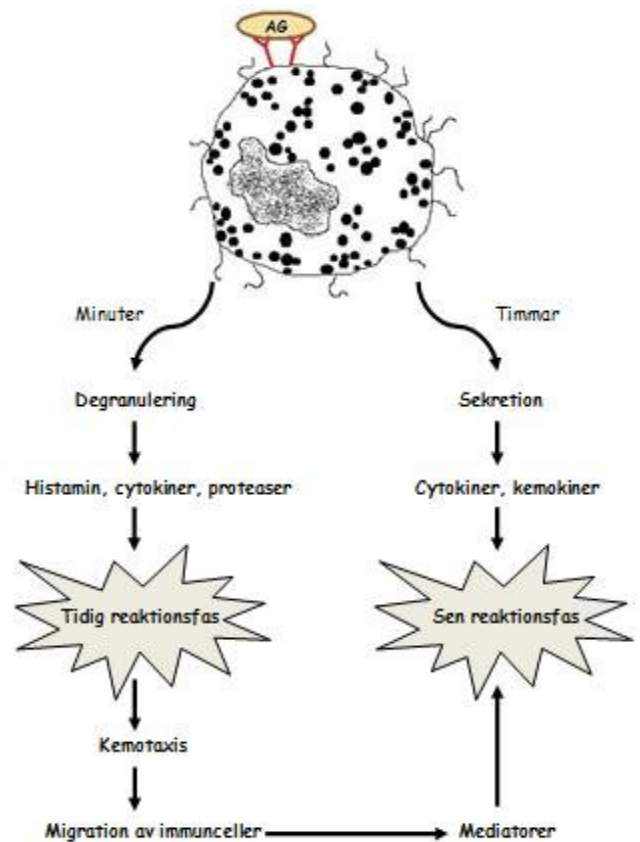
cellkärnan. Dessa är ganska homogena i storlek och utseende; mellan 255 till 410 nm och fyllda med en elektrontät, amorf massa. Efter degranulering ses inte längre några granula, utan istället många nukleoler och degranulationskanaler omgivna av membran. Cellen är dessutom rundare och cellkärnan mer centralt belägen, men mer oregelbunden i sin form (García et al., 1998).

Mediatorer

Mastcellen kan frigöra stora mängder av olika mediatorer med skilda funktioner. Detta kan ske på tre sätt: degranulering av preformerade ämnen; nysyntes via membranlipider; samt förändrat uttryck av cytokiner. Degranulering sker via fosfolipas C och olika kinaser, vilka i slutändan fosforylerar myosin i cytoskelettet. De sista händelserna innan exocytosen av sekretoriska granula sker är dock fortfarande okända, men sker med hjälp av MAP-kinas och G-proteiner (Metcalfé et al., 1997). De mediatorer som frigörs omedelbart via degranuleringen är histamin, proteaser som chymas och tryptas, cytokiner som tumörnekrosfaktor (TNF) och interleukin 4 (IL-4), samt proteoglykaner som heparin (Pejler & Nilsson, 2009). Nysyntes sker en stund senare genom aktivering av fosfolipas A, vilket gör att arakidonsyra bildas från fosfolipider i cellmembranet. Arakidonsyra omvandlas därefter till prostaglandiner och tromboxaner via cyklooxygenas, och till leukotriener via lipoxygenas. Till sist orsakar en längre tids korsbindning av receptorer på mastcellens yta induktion av gener som kodar för olika cytokiner och kemokiner (Metcalfé et al., 1997).

Funktion och aktivitet

Mastceller utgör de första effektorcellerna vid en immunologisk reaktion, med anledning av deras konstanta placering ute i vävnaden. Aktivering av mastceller orsakar frisättning av en mängd mediatorer, som inom några minuter orsakar en reaktion vars kliniska uttryck kan variera beroende på anatomisk lokalisering och heterogenitet mellan olika mastceller, men i stora drag innebär inflammationens fyra kardinalsymtom: rodnad, värme, smärta och svullnad. Detta då mediatorerna påverkar endotel, glatt muskulatur och nervändar och utövar kemotaxis och ökar adhesion, vilket ger förändrat blodflöde och permeabilitet, och orsakar migration av andra immunologiska celler (lymfocyter, eosinofiler och neutrofiler). Dessa celler orsakar i många fall att den tidiga reaktionen övergår till en sen reaktionsfas, se figur 2 (Metcalfé et al., 1997).



Figur 2. Mastcellsfunktioner (efter Metcalfé et al., 1997)

Den mest kända vägen till aktivering är via korsbindning av antigen till två IgE-antikroppar (bundna till högaffinitetsreceptorer, FcεRI, på mastcellens yta). Dock finns även andra vägar till aktivering, både immunologiska och icke-immunologiska, exempelvis via neuropeptider, komplementkomponenter, läkemedel, insektsgift, och hormoner, via en rad ytmolekyler och receptorer (Metcalf et al., 1997).

Atopisk dermatit hos hund

Bakgrund

Atopi innebär överkänslighet av typ 1, den omedelbara hypersensitiviteten. När djur och människor exponeras för allergen från omgivningen, reagerar immunförsvaret genom att producera viss mängd av antikroppar (IgG och IgE) mot allergenen, utan att det får några kliniska konsekvenser. Atopi är ett sjukligt tillstånd som innebär att kroppen reagerar mot allergen i omgivningen med ett överdrivet Th2-svar, vilket ger överproduktion av IgE-antikroppar som följd. När allergenspecifika IgE binder till sin receptor FcεRI på mastcellens yta blir den sensibiliserad. Nästa gång djuret kommer i kontakt med allergenet, kan detta dubbelbinda mellan två IgE, vilket leder till att mastcellen omedelbart frigör innehållet i sina sekretoriska granula. Mediatorerna kan i sin tur skapa en akut inflammation, vilket ger symtomen för atopisk dermatit (Tizard, 2009).

Förekomst och riskfaktorer

Det har gjorts försök att uppskatta prevalensen av atopisk dermatit i den totala hundpopulationen, vilket har gett siffror på mellan 3 och 15%, men dessa är inte enligt Hillier och Griffin (2001) ”baserade på trovärdiga epidemiologiska data och den verkliga prevalensen och incidensen av atopisk dermatit i den totala hundpopulationen förblir därmed okänd”. 2007 gjordes en undersökning av de diagnoskoder som journalförts i databaserna hos sex svenska djursjukhus/kliniker. Av totalt 53 822 hundar fick 1 372 diagnosen atopisk dermatit. Detta innebär en prevalens på 3% (Holm, 2007).

I Sverige har även en studie gjorts över incidens och riskfaktorer för atopisk dermatit bland svenska, försäkrade hundar under åren 1995 till 2002. Av cirka 394 000 hundar hade 36 170 haft något sorts dermatologiskt problem, varav 1847 hundar diagnosticerats med atopisk dermatit. Incidensen beräknades till 1-7 fall per 1000 hundår ’at risk’ (Nødtvedt et al., 2006).

Allergenkontakt

I studien ovan identifierades även vissa riskfaktorer för att drabbas av atopisk dermatit, varav en var att ha fötts mellan oktober och december. En trolig förklaring till detta är enligt författarna, att valpar födda på hösten spenderar mer av sin första levnadstid inomhus än valpar födda under övriga året, och kommer därmed i högre grad i kontakt med allergener som finns inne i våra bostäder (Nødtvedt et al., 2006). Ett av dessa är husdammkvalster (*Dermatophagoides farinae*),

vilket är den vanligaste orsaken till att svenska hundar med atopi får en allergisk reaktion (Öhlén, 1992). Experimentella studier har visat att hundar som är genetiskt predisponerade för ett kraftigt IgE-svar och som exponerats för allergen tidigt i livet, får ett kraftigare IgE-svar vid exponering senare i livet. Man såg ett tiofaldigt högre IgE-svar hos valpar som exponerats för *Dermatophagoides* från deras första dag i livet, än valpar som exponerats först vid fyra månaders ålder (Schiessl et al., 2003). Till sist visade en studie på över 1500 hundar med klåda, att det fanns en signifikant positiv korrelation mellan att bo inomhus mestadels och att drabbas av atopisk dermatit, samt tvärtom en negativ korrelation med att bo utomhus (Favrot, 2010).

Genetisk predisposition

En annan känd riskfaktor, är att det finns en genetisk predisposition där vissa raser löper större risk att drabbas av atopisk dermatit än andra. Denna genetiska bakgrund ingår i själva definitionen av atopisk dermatit: ”*En genetiskt predisponerad inflammatorisk och kliande allergisk hudsjukdom med karaktäristiska kliniska symtom oftast associerade med IgE-antikroppar riktade mot allergener i omgivningen*”¹(Halliwell, 2006). Det pågår ett projekt på Sveriges Lantbruksuniversitet gällande atopisk dermatit, där man jämför generna hos atopiska och normala hundar. Då sjukdomen har en komplex bakgrund krävs omfattande forskningsunderlag, och man har ännu inte kommit till några resultat. Målet är dock att finna genförändringar som kan förklara den genetiska predisponeringen (Sveriges Lantbruksuniversitet, 2011).

Ärftlighet

En uppskattning av arvbarheten för atopisk dermatit har gjorts på 13 atopiska hundar från organisationen Guide Dogs for the Blind Association av raserna Golden och labrador retriever. Man använde sig av dessa hundar då alla haft en mycket liknande uppväxt, vad gäller utfodring, motion, vaccinering, avmaskning etc., samt besökt en veterinär var sjätte månad. Totalt gick man igenom journaler från 429 hundar, besläktade med de ursprungliga 13, och av dessa klassificerades 116 hundar med atopisk dermatit. Arvbarheten i denna population beräknades till 0.47, vilket i princip innebär att genetiken och miljön hade lika stor påverkan på sjukdomens uppkomst. Trots att resultatet inte kan generaliseras till den totala hundpopulationen, visar det ändå på hur komplex sjukdomen är, samt att man inte bör avla på hundar med kliniska symtom på atopisk dermatit (Shaw, 2004).

Patogenesen och dess immunologiska bakgrund

Definitionen på atopisk dermatit är: ”*En genetiskt predisponerad inflammatorisk och kliande allergisk hudsjukdom med karaktäristiska kliniska symtom oftast associerade med IgE-antikroppar riktade mot allergener i omgivningen*” (Halliwell, 2006).

¹ “A genetically-predisposed inflammatory and pruritic allergic skin disease with characteristic clinical features. It is associated most commonly with IgE antibodies to environmental allergens.”

Hos vissa hundar kan man alltså inte detektera några IgE-antikroppar trots att diagnosen är atopisk dermatit, vilket också kan vara fallet hos motsvarande sjukdom hos människa. Dessutom har man inte kunnat påvisa någon signifikant skillnad i varken totalmängd IgE (Jackson et al., 1996; Hammerberg et al., 2001) eller mängden allergenspecifikt IgE mellan atopiska och normala hundar (Jackson et al., 1996). Detta innebär att patogenesen är långt mer komplex än man tidigare anat, och trots extensiv forskning (framförallt på humansidan) är fortfarande mycket oklart. Som Halliwell skrev 2009: *"There have been few studies in veterinary medicine, but the similarities in the disease between man and dog as such that similar abnormalities are likely"*. Därför kompletteras informationen i vissa fall från humansidan, fokus ligger dock på studier gjorda på hund. Sjukdomen har studerats experimentellt via intradermala injektioner av allergen hos atopiska hundar, vilket visade ett bifasiskt förlopp, med en tidig och en sen reaktionsfas, och att mastcellen har en viktig roll i dem båda (Olivry et al., 2001).

Tidig reaktionsfas

För att det ska kunna ske någon immunologisk reaktion måste allergenet komma i kontakt med mastcellerna. Tidigare har man trott att detta sker via inhalation, vilket har visats på människor, men på senare tid har man även undersökt den epikutana vägen. I en av dessa studier jämfördes exponering av husdammkvalster via huden, via luftvägarna, och oralt. I resultatet såg man att alla exponeringsvägar gav klåda och typiska lesioner, på samma områden, men att allergen som tagits upp genom huden orsakade kraftigast symtom. Den epikutana vägen har alltså störst klinisk betydelse (Marsella et al., 2006), och sjukdomens utbredning visar att de delar som har mest kontakt med underlaget också visar lesioner: tassar, axiller, buk, och ytteröron (Favrot et al., 2010). Vidare har ny forskning visat att det kan föreligga en primär defekt i hudbarriären som underlättar att allergenet tar sig genom huden. I en av dessa studier undersöktes hudbiopsier från experimentella atopi-modeller (beaglar sensibiliserade mot husdammkvalster) via elektronmikroskopi. Detta visade på abnormiteter i stratum corneum och granulosum hos atopiska hundar jämfört med normala kontroller, både före och efter allergenkontakt. Exempelvis var både korneocyter och lipidlameller (extracellulär barriär formad av lipider) oorganiserade hos atopiska hundar, varav den sistnämnda är viktig för att förhindra allergen från att tränga genom huden (Marsella et al., 2009).

När allergen väl trängt igenom det yttersta hudlagret, plockas de upp av antigenpresenterande celler i epidermis. Dessa migrerar till dermis och regionala lymfknutor (Olivry et al., 2010), där de presenterar antigen för naiva T-lymfocyter som sedan utvecklas till T-hjälparceller (Th). Vilken subtyp beror på vilka cytokiner som immunologiska celler i omgivningen frigör; interleukin-12 (IL-12) aktiverar Th1-celler, och IL-4 aktiverar Th2-celler (Tizard, 2009). Även här har mastcellen en viktig roll, då de först kan fungera som antigenpresenterande celler och därefter driva fram ett Th2-svar genom att utsöndra IL-4 i signifikanta mängder (Metcalf et al., 1997). Detta utgör en viktig skillnad i det immunologiska svaret, då Th1-celler utvecklar ett

cellmedierat svar genom att via IL-2 och IFN- γ aktivera andra T-celler, B-celler, NK-celler och makrofager samt inhibera Th2-celler. Th2-cellerna orsakar istället ett humoralt immunsvaret genom att via bland annat IL-4 stimulera B-celler till proliferation och antikroppsproduktion, framförallt IgE-antikroppar vilka har ett viktigt samband med allergier (Tizard, 2009). Studier har visat signifikanta skillnader mellan atopiska och normala hundar gällande vilka cytokiner som uttrycks. Hos atopiska hundar sker en överproduktion av IL-4 (vilket är ett tecken på Th2-svar) samt lägre produktion av transformering growth factor- β (TGF β) som har visats vara viktig i den perifera toleransen mot allergen från omgivningen (Nuttall, 2002).

Sensibilisering av mastceller innebär att allergenspecifika antikroppar bildade av B-celler binder till högaffinitetsreceptorer (Fc ϵ RI) på mastcellens yta. Nästa gång allergen påträffas, korsbinds det till två antikroppar, vilket omedelbart orsakar degranulering av en mängd mediatorer som påverkar blodkärl och skapar en akut inflammation som utgör den tidiga reaktionen. Detta sker inom 20 minuter från det att antigenet har injicerats i huden (Tizard, 2009). Många studier har gjorts för att jämföra eventuella skillnader i mastcellers funktion mellan atopiska och normala hundar. Antalet mastceller i huden skiljer inte mellan varken atopiska/normala hundar, eller förändrad/oförändrad hud (DeMora et al., 1996; Welle et al., 1999; Olivry et al., 2001), men det finns tecken på att mastcellerna hos atopiska hundar är mer aktiverade. Färgning för chymas och tryptas visade signifikant lägre densitet hos både förändrad och oförändrad hud hos atopiska hundar jämfört med normala hundar, vilket tyder på att mastcellerna har aktiverats och degranulerat hos atopiska hundar (Welle et al., 1999; Olivry et al., 2001).

Genom jämförelser mellan atopiska och normala hundar har man upptäckt att mastcellerna hos atopiska hundar har högre aktivitet efter antigen-antikroppsaktivering. Förutom en fördubblad histaminsekretion, sågs även signifikant högre mängder histamin i mastcellerna, högre histaminmängder i huden hos atopiska hundar (DeMora et al., 1996), samt högre andel histamin som frigörs spontant (DeMora et al., 1996; Jackson et al., 1996; Olivry et al., 2001). Eftersom man såg signifikant höjd histaminfrisättning hos de atopiska hundarna och inte de normala, och det inte var någon skillnad i produktion av allergenspecifika IgE-antikroppar mellan grupperna, är det mest troligt att överaktiviteten beror felaktigheter i immunregleringen, och inte mängden IgE i serum vilket man tidigare trott (Jackson et al., 1996). Överproduktion av cytokinen stamcells faktor (SCF) i huden hos atopiska hundar har föreslagits vara en av anledningarna till att mastcellerna är överaktiva. SCF bildas av fibroblaster och keratinocyter och har visats förstärka mastcellers degranulering efter korsbindning av IgE, hos både människor och hundar. Jämförelse mellan atopiska och normala hundar visar att enbart atopiska hundar har SCF i huden mellan kollagena fibrer, och dessutom hittas SCF inte bara i förändrad hud utan också i till synes normal hud (Hammerberg et al. 2001).

Sen reaktionsfas

Mastcellen fortsätter att påverka sjukdomens uppkomst genom att mediatorerna som frisatts orsakar migrering av andra immunceller till platsen. Blodflödet förändras; neutrofila granulocyter adhererar till kärlväggarna och emigrerar ut i vävnaden; och lymfocyter och eosinofiler lockas till området (Metcalf et al., 1997). Experimentell injektion av allergen i huden hos atopiska och normala hundar har visat att en sen reaktion uppstår hos båda grupperna, men med signifikanta skillnader både makroskopiskt och mikroskopiskt. Makroskopiskt sågs rodnad och svullnad i området för injektion både hos normala och atopiska hundar, men mer intensivt hos atopiska. Mikroskopiskt sågs efter 6-12 timmar upp till tio gånger högre neutrofilantal i atopiska hundar hud jämfört med före injektionen, vilket hos normala hundar var dubbelt antal. Eosinofiler migrerade senare än neutrofilerna och sågs i dubbelt antal hos atopiska än hos normala (Olivry et al., 2001). Mastcellernas cytokiner och kemokiner aktiverar cellerna i omgivningen, vilket leder till att ännu fler mediatorer frigörs från bland annat keratinocyter. Eosinofiler degranulerar och orsakar därigenom skada i epidermis och dermis. Mastceller tillsammans med Th2-celler driver ytterligare på ett Th2-svar med IgE-produktion som följd (Olivry et al., 2010).

I detta läge uppstår de första symtomen på atopisk dermatit. Oftast uppstår klådan före några andra förändringar i huden kan ses (Favrot et al., 2010). Vad som orsakar klådan är dock fortfarande inte känt trots forskning, här skiljer sig hunden åt från både människa och mus där histamin med ursprung från mastceller visats vara orsaken till klådan. De första förändringarna som kan ses är små områden med papler och erythem, vilket dock snabbt övergår till självinducerade lesioner med alopeci, likenifikation och hyperpigmentering, se figur 3 nedan (Olivry et al., 2010).



*Figur 3. Ventralt på buken mot ljumskarna ses självinducerad alopeci, erythem och hyperpigmentering.
Foto av Sofie Andersson*

Kronisk fas

Att inflammationen persisterar och att kroniska lesioner uppkommer beror förmodligen på flera faktorer som självskador, mikrober och neuromediatorer. Klådan orsakar självskada som skapar ännu mer inflammation i huden och en cykel av cytokinproduktion (Olivry et al., 2010). Sekundära infektioner är vanliga, enligt Favrot et al. drabbar det 66% av hundarna (2010). Studier har visat att *Staphylococcus intermedius* adhererar i signifikant högre utsträckning till korneocyter från både förändrad och oförändrad hud hos atopiska hundar, jämfört med korneocyter från normala hundar. Hypotesen är att Th2-svaret skapar en miljö som tillåter förstärkt bindning av stafylokocker, och koloniseringen predisponerar hunden för stafylokockorsakad pyodermi (McEwan et al., 2006).

Att ställa diagnos

Det finns två olika sorters allergitest; serologi där man analyserar blodprov med avseende på allergenspecifika IgE-antikroppar; och intradermaltest (se figur 4) där man injicerar allergenextrakt på olika punkter i huden och jämför reaktionen mot en positiv och negativ kontroll. Dessa tester är viktiga för att ta reda på vilka allergen som hunden reagerar mot och därmed kunna behandla specifikt (Olivry et al., 2010). Hela 86% av atopiska hundar testar positivt (Favrot et al., 2010). Den grundläggande diagnosen kan dock inte ställas via allergitester på grund av låg specificitet, det vill säga att även normala hundar kan testa positivt. Diagnos ställs istället genom noggrann undersökning och utförlig anamnes, då sjukdomen ofta uppvisar typiska symtom och progressivitet, samt genom att utesluta möjliga differentialdiagnoser (Olivry et al., 2010). Dessutom kan man, som tidigare nämnts, inte detektera IgE-antikroppar hos alla hundar med atopisk dermatit (Halliwell, 2006).



Figur 4. Intradermalt allergitest hund. Foto av Caroldermoid CC (BY-SA) (http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Intradermal_allergy_test.jpg)

Då det inte finns några patognomoniska tecken på atopisk dermatit har flera försök till kriterier gjorts för att underlätta diagnostiseringen. Den senaste gjordes av Favrot et al. år 2010, där man undersökte 1542 hundar med kronisk eller återkommande klåda från femton länder i Europa, Nordamerika, Sydamerika och Japan. Listan på kriterier som gav bäst sensitivitet och specificitet var följande:

- ✓ Sjukdom uppkommen före 3 års ålder
- ✓ Hund som levt mestadels inomhus
- ✓ Klåda som minskas av glukokortikoider
- ✓ Kroniska eller återkommande jästsvampsinfektioner
- ✓ Påverkade framtassar
- ✓ Påverkade ytteröron
- ✓ Icke påverkade öronkanter
- ✓ Icke påverkad i dorso-lumbala området

Om fem av dessa kriterier uppfylls ger det en specificitet på 79% och en sensitivitet på 85% (Favrot et al., 2010). Detta innebär alltså fortfarande att ungefär en av fem hundar får fel diagnos, men om man samtidigt utesluter differentialdiagnoser höjs specificiteten avsevärt. Sex kriterier höjer specificiteten till 89%, men sänker samtidigt sensitiviteten till 58% (Olivry et al., 2010).

De differentialdiagnoser som måste uteslutas är i princip de sjukdomar som också kan orsaka klåda: parasiter som skabbkvalster och demodex; infektioner som stafylokockorsakade ytliga pyodermier och malasseziadermatiter; eller andra sorters allergier som kontaktallergi eller födoallergier (Olivry et al., 2010).

Behandlingsalternativ

Allmänt om behandling

År 2010 utformade International Task Force on Canine Atopic Dermatitis (Olivry et al.) en evidensbaserad vägledning för hur man bör behandla hundar med atopisk dermatit. Behandlingen måste vara individualiserad, med utgång från vad som verkar effektivt på hunden utan att ge för mycket biverkningar, men också på om sjukdomen har uppkommit akut eller är kronisk, och om symtomen är lokala eller generaliserade. Dessutom är det viktigt att hundägaren är involverad i valet av behandling, då detta kan innebära stora skillnader i både kostnader och tidsåtgång. Viktigt är också att komma ihåg att det oftast krävs en kombination av olika behandlingar för att få ett tillfredsställande resultat (Olivry et al., 2010).

Profylaktisk behandling

Grundläggande är att försöka undvika allergenkontakt, detta förutsätter att ett allergitest har gjorts (Olivry et al., 2010). Det vanligaste allergenet i Sverige som hundar reagerar mot är husdammkvalster (Öhlén, 1992), vilket också är det svåraste att undvika om hunden inte kan bo

utomhus. Studier har gjorts för att undersöka om olika insektsprayer kan förbättra hundarnas tillstånd, men än så länge finns inga bevis för detta. Vad man istället kan göra är att tvätta de textilier som hunden kommer i kontakt med så ofta som möjligt, samt dammsuga och våttorka golven ofta. Effekten av detta kan dock dröja flera månader, då allergen kan persistera länge i miljön (Olivry et al., 2010).

Nästa steg är att förbättra hundens hud- och pälskvalité genom att varje vecka bada hunden med ett mildt schampo och ljummet vatten. Klinisk erfarenhet visar att det verkar vara själva duschningen som förbättrar hundens tillstånd genom att mekaniskt skölja bort allergener och mikrober från huden, att hydrera huden, samt mildra klådan. Vid symtom på sekundära infektioner av bakterier eller överväxt av jästsvamp, kan man behöva använda speciella schampon. Ett annat sätt att förbättra hundens pälskvalité är att ge kosttillsatser av essentiella fettsyror, och evidens för effektivitet finns från minst en randomiserad, kontrollerad studie. Eventuella förbättringar ses dock inte förrän cirka två månaders användning. (Olivry et al., 2010).

Farmakologisk behandling

Antihistaminer är av stort intresse i detta arbete, då de har en tydlig koppling till mastceller. Läkemedlen verkar som antagonister mot histaminreceptor typ 1. Hos hundar med kroniska hudlesionser finns dock stark evidens för att varken första - eller andra generationens (sederande respektive icke-sederande) antihistaminer ger någon förbättring. Biverkningar av vissa antihistaminer är just sederande, och detta kan eventuellt orsaka minskad klåda i vissa fall, särskilt om hunden lider av störd sömn. Den allmänna bristen på verkan beror förmodligen på att histamin inte har någon större roll i kronisk atopisk dermatit, eller att dess receptor inte finns i stor mängd, alternativt att man använder sig av felaktiga doseringar. De antihistaminer som ändå kan testas är de som visats ha inhibitorisk effekt vid intradermal injektion av histamin, nämligen hydroxyzine och ceterizine (Olivry et al., 2010).

Farmakologisk behandling kan istället ske lokalt via en topikal glukokortikoid som sprayas på påverkad hud och verkar antiinflammatoriskt. Studier har visat god effekt av dessa hos atopiska hundar (högsta evidens, det vill säga meta-analys), men man bör inte använda dem mer än två månader, då man kan se kutan atrofi som bieffekt vid långtidsanvändning. Orala glukokortikoider har ofta god effekt, men då de har systemisk påverkan ser man ofta dosrelaterade biverkningar, som polyfagi, polyuri, polydipsi och så vidare. Man bör därför sträva efter att sänka dosen till den minsta effektiva (och inte använda sig av långtidsverkande injektioner då man vill kunna styra doseringen) för att i största mån undvika biverkningar som uppstår efter lång tids användning (ex. calcinosis cutis). Veterinären bör sträva efter att kombinera orala glukokortikoider med andra alternativ för att minska intaget (Olivry et al., 2010).

Allergenspecifik immunoterapi

Den enda behandlingen som kan påverka uppkomsten av symtom och även förändra hur sjukdomen utvecklas, är hyposensibilisering. Detta innebär en allergenspecifik immunoterapi, där man injicerar gradvis ökande mängder extrakt av just det allergen som hunden varit positiv för i allergitest, med målet att minska reaktiviteten. Det finns stark evidens för både effektivitet och säkerhet med denna metod, men man måste vänta i upp till ett år innan full effekt nås. Uppskattningsvis mellan 50 och 80% av hundarna visar förbättring, och metoden bör övervägas hos alla hundar som fått diagnosen och visat positivt för vissa allergen som är omöjliga att undvika, samt där tillgängliga läkemedel gett otillräcklig effekt eller biverkningar, och ägaren är införstådd i vad behandlingen innebär i form av tidsåtgång, kostnad och arbete (Olivry et al., 2010).

Studier har gjorts för att undersöka på vilket sätt hyposensibilisering förändrar immunsvaret. Analys av blodprov tagna före tre månaders immunoterapi från tio atopiska hundar visade ett signifikant lägre uttryck av cytokinen IFN- γ jämfört med normala kontroller. Detta stämmer överens med vad man sett hos människor med atopisk dermatit, och tyder på att inflammationen är av Th2-typ hos sjuka individer. Efter hyposensibilisering sågs ett signifikant höjt uttryck av IFN- γ , vilket indikerar att behandlingen orsakar övergång till ett mer normalt Th1-svar (Shida et al., 2004).

DISKUSSION

Mastcellen har i denna litteraturöversikt visats ha en nyckelroll i både uppkomst och fortgång av den relativt vanliga, och kliniskt relevanta sjukdomen atopisk dermatit hos hund. Mastcellernas stora tillgång på olika inflammatoriska mediatorer möjliggör en bred funktionalitet i immunsvaret, och då de är konstant placerade ute i vävnaden är mastcellen den första effektorcellen i allergiska reaktioner. Mediatorerna orsakar den tidiga reaktionens inflammation, och lockar andra immunceller till området där allergen tagit sig genom huden. Dessutom bidrar de till att driva inflammationen mot ett felaktigt Th2-svar med överproduktion av IgE-antikroppar som följd. Studier har visat att mastceller hos atopiska hundar skiljer sig från normala hundar med avseende på aktivitet, då de utsöndrar större mängder histamin som är en viktig komponent i inflammationen. Även uttrycket av cytokinen stamcellsfaktor (SCF) som påverkar mastcellens aktivitet är högre hos atopiska hundar, vilket kan vara en av anledningarna till att sjukdomen uppstår.

Mastcellen är dock bara en del av ett komplext samspel mellan genetik och miljö som leder till att hundar drabbas av atopisk dermatit. Att behandling med antihistaminer inte har större effektivitet kan ses som bevis för att det inte bara är mastceller som bidrar, och att inte IgE-antikroppar kan detekteras hos alla hundar är också ett tecken på att alternativ till de nuvarande teorierna kring immunopatogenesen bör övervägas. Grundorsaken till att en predisponering för sjukdomen ses hos vissa raser är fortfarande okänt, men avel på hundar med kliniska symtom bör undvikas för att hindra att fler hundar drabbas.

Mer forskning inom området behövs, och kan förutom att gynna hundar och hundägare även bidra till förståelsen för atopiska sjukdomar hos människor, då hunden har visats fungera som en bra modell för dessa. Vad gäller den genetiska predispositionen är förhoppningen att SLU:s genetikprojekt ska resultera i ett gentest som kan påvisa bärare av sjukdomsanlag för att kunna undvika avel på dessa hundar. Då sjukdomen oftast är livslång är det av yttersta vikt att man finner fungerande behandling, som inte bara maskerar symtomen. Hyposensibilisering är hittills den enda behandlingen som kan förändra sjukdomens fortgång. Därför anser jag att möjligheterna att utveckla nya sorters läkemedel som riktas mot mastcellen, exempelvis via SCF och dess receptor, borde undersökas. Viktigt är dock att behålla mastcellens positiva egenskaper.

REFERENSER

- DeMora, F., García G., Puigdemont, A., Arboix, M., & Ferrer, L. (1996). Skin mast cell releasability in dogs with atopic dermatitis. *Inflammatory Research* 45, 424-427.
- Favrot, C., Steffan, J., Seewald, W. & Picco, F. (2010). A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary Dermatology* 21, nr. 1, 23-31.
- García G., Brazís, P., Majó, N., Ferrer, L., de Mora, F. & Puigdemont, A. (1998). Comparative morphofunctional study of dispersed mature canine cutaneous mast cells and BR cells, a poorly differentiated mast cell line from a dog subcutaneous mastocytoma. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 62, nr 4, 323-337.
- Halliwell, R. (2006). Revised nomenclature for veterinary allergy. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 114, nr. 3-4, 207-208.
- Hammerberg, B., Olivry, T., & Orton, S.M. (2001). Skin mast cell histamine release following stem cell factor and high-affinity immunoglobulin E receptor cross-linking in dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology* 12, 339-346.
- Heine H. & Förster, F.J. (1975) Histophysiology of mast cells in skin and other organs. *Archives for Dermatological Research* 253, nr 3, 225-228.
- Hillier, A. & Griffin, C.E. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 81, nr. 3-4, 147-151.
- Holm, L. (2007). Sammanställning av data från svenska djurkliniker: dermatologiska diagnoser och atopisk dermatit hos hund. *Svensk veterinärtidning* 13, 13-19.
- Jackson, H.A., Miller, H.R.P., & Halliwell, R.E.W. (1996). Canine leucocyte histamine release: response to antigen and to anti-IgE. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 53, 195-206.
- Pejler, G. & Nilsson, G. (2009). Mastcellen – både ond och god. *Läkartidningen* 12, 845-849.
- Metcalf, D.D., Baram, D., & Mekori, Y.A. (1997). Mast cells. *Physiological reviews* 77, nr 4, 1033-1079.
- McEwan, N.A., Mellor, D., & Kalna, G. (2006) Adherence by *Staphylococcus intermedius* to canine corneocytes: a preliminary study comparing noninflamed and inflamed atopic canine skin. *Veterinary Dermatology* 17, nr 2, 151-154.

- Nødtvedt, A., Egenvall, A., Bergvall, K. & Hedhammar, A. (2006). Incidence of and risk factors for atopic dermatitis in a Swedish population of insured dogs. *The Veterinary Record* 159, nr. 8, 241-246.
- Nuttall, T.J, Knight, P.A., McAleese, S.M., Lamb, J.R., & Hill, P.B. (2002). T-helper 1, T-helper 2 and immunosuppressive cytokines in canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 87, 379-384.
- 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., DeBoer, D.J., Favrot, C., Jackson, H.A., Mueller, R.S., Nuttall, T. & Prélud, P. International Task Force on Canine Atopic Dermatitis (2010). Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Veterinary Dermatology* 21, nr. 3, 233-248.
- Schiessl B., Zemann, B., Hodgin-Pickart, L.A., de Weck, A.L., Griot-Wenk, M., Mayer, P., Nefzger, M., Schneider, H. & Liehl, E. (2003). Importance of early allergen contact for the development of a sustained immunoglobulin E response in a dog model. *International Archives of Allergy and Immunology* 130, nr. 2, 125-134.
- Shaw, S.C., Wood, J.L., Freeman, J., Littlewood, J.D. & Hannant, D. (2004). Estimation of heritability of atopic dermatitis in Labrador and Golden Retrievers. *American Journal of Veterinary Research* 65, nr. 7, 1014-1020.
- Shida, M., Kadoya, M., Park, S.J., Nishifuji, K., Momoi, Y. & Iwasaki, T. (2004). Allergen-specific immunotherapy induces Th1 shift in dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 102, nr. 1-2, 19-31.
- Sveriges Lantbruksuniversitet. Pågående projekt – Atopisk dermatit. [online] (2011-02-24) Tillgänglig: <http://hunddna.slu.se/>. [2011-03-11]
- Tizard, I.R. (2009) *Veterinary Immunology: An Introduction*, 8. uppl. Saunders. Kap. 2, 12 och 25.
- Welle M.M., Olivry, T., Grimm, S., & Suter, M. (1999) Mast cell density and subtypes in the skin of dogs with atopic dermatitis. *Journal of Comparative Pathology* 120, nr. 2, 187-197.
- Öhlén, B.M. (1992) Projekt allergitester i Sverige. *Svensk Veterinärtidning* 44, nr. 8-9, 365-371.