

## Ihon läpi tapahtuvan veden haihtumisen (TEWL) ja ihon kliinisen kunnon (CADESI-4) korrelaatio atooppisissa dermatiitissa staffordshirenbulteriireillä Suomessa



Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma

ELK Anna-Maria Hakkarainen

Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto, Pieneläinten sairauksien oppiaine  
Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto, Mikrobiologian ja epidemiologian oppiaine

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Helsingin yliopisto

Kevät 2017



Tiedekunta - Fakultet - Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto - Avdelning – Department Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto, Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto	
Tekijä - Författare - Author Anna-Maria Karoliina Hakkarainen			
Työn nimi - Arbetets titel - Title Ihon läpi tapahtuvan veden haihtumisen (TEWL) ja ihon kliinisen kunnon (CADESI-4) korrelaatio atooppisessa dermatiitissa staffordshirenbulterriereillä Suomessa			
Oppiaine - Läroämne – Subjec Pieneläinten sairauksien oppiaine, Mikrobiologian ja epidemiologian oppiaine			
Työn laji - Arbetets art - Level Lisensiaatin tutkielma, alkuperäistutkimuksen sisältävä		Aika - Datum - Month and year 4/2017	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 45
Tiivistelmä - Referat – Abstract <p>Koirien atooppinen dermatiitti on ihmisten atooppista ihottumaa muistuttava ihosairaus. Se määritellään perinteisesti kutisevaksi, tulehdukselliseksi, allergiseksi ihosairaudeksi, johon liittyy geneettinen alttius tuottaa IgE-vasta-aineita erityisesti ympäristöväliitteisiä allergeeneja kohtaan. Perinteisen IgE-vasta-aineiden välittämän yliherkkyysoireyksen rinnalle on nykyisin nostettu myös muita näkökohtia, kuten ihon läpäisyesteessä ilmeneviä puutteita. Ihmisillä on useiden tutkimusten perusteella osoitettu TEWL:n eli transepidermaalisen veden haihtumisen mittauksen olevan luotettava työkalu näiden ihon läpäisyesteen puutteiden havaitsemiseen. Tämän lisensiaatin tutkielman tavoitteena oli selvittää, kuinka hyvin TEWL-arvot ja ihon kliininen kunto korreloivat keskenään atooppista dermatiittia sairastavilla koirilla. Hypoteesina oli kohtalainen positiivinen korrelaatio TEWL-arvojen ja ihon kliinistä kuntoa mittaavien kokonais-CADESI-4 (canine atopic dermatitis extent and severity index) -arvojen välillä.</p> <p>Tutkimuspopulaatio koostui 45 yksityisesti omistetusta, yli vuoden ikäisestä staffordshirenbulterrieristä. Tutkimukseen osallistuneet koirat kerättiin retrospektiivisesti DOGRISK-projektiin kuuluneesta kliinisestä ruokintatutkimuksesta (www.dogrisk.com). Atooppinen dermatiitti -ryhmään (31 koiraa) kuuluivat koirat, jotka täyttivät viisi kahdeksasta ns. Favrotin kliinisestä kriteeristä. Lisäksi aineistoon sisältyi kuusi koiraa, joilla oli lievä tulehduksellinen ihosairaus ja seitsemän tervettä kontrollia. Atooppinen dermatiitti -ryhmän koirista tehtiin myös 18 koiran osa-aineisto, josta oli poissuljettu koirat, joiden TEWL-mittauksissa oli epäselvyyksiä, historiassa kortisonilääkityksiä tai joilla oli todettu muita sairauksia loppukäynnin yhteydessä. Mikrobi-infektioita ei kontrolloitu TEWL-mittausten suorittamisen yhteydessä. TEWL-mittaukset tehtiin ruokintatutkimuksen loppukäynnillä ns. suljetun kamion menetelmää hyödyntävän TEWL-mittauslaitteen (Vapometer) avulla kolmelta eri ihoalueelta (korvanlehden sisäpinta, kyynärtaive, inguinaalialue) ilman karvojen ajelua. Kaikkien koirien ihon kliinisen kunnon arvioi sama tutkija CADESI-4-menetelmän avulla. Saatujen CADESI-4- ja TEWL-arvojen välistä korrelaatiota analysoitiin kahden eri ei-parametrisen testin, Kendallin tau ja Spearmanin rhon, avulla kaikilla atooppisen dermatiitin ryhmään kuuluvilla koirilla ja osa-aineiston koirilla.</p> <p>Tutkimustuloksissa havaittiin asetetun hypoteesin mukaisesti CADESI-4- ja TEWL-arvojen välillä kohtalaista korrelaatiota, mutta vain osa-aineistossa, josta oli poistettu mittauksiin liittyvät epävarmuustekijät sekä mittauksiin mahdollisesti vaikuttavat muut sairaudet ja lääkitykset. Osa-aineistossa kokonais-TEWL ja kokonais-CADESI-4 korreloivat heikosti sekä inguinaali-TEWL ja kokonais-CADESI-4 heikosti/kohtalaisesti keskenään.</p> <p>Tarvitaan lisää tutkimusta riittävän isolla aineistolla, että voitaisiin selvittää TEWL-mittausten luotettavuus ihon läpäisyesteen arviointiin atooppista dermatiittia sairastavilla koirilla. Mikäli TEWL-mittaukset todetaan luotettaviksi, voisi niistä koirilla olla hyötyä muun muassa erilaisten ihon läpäisyesteen vahvistamiseen tähtäävien hoitomuotojen arvioinnissa. Ne voisivat myös osaltaan edistää mahdollisimman varhaisen diagnoosin saamista atooppista dermatiittia sairastavilla koirilla.</p>			
Avainsanat - Nyckelord - Keywords dermatologia, koirien atooppinen dermatiitti, TEWL (transepidermal water loss), ihon läpäisyeste, ihon kliininen kunto, CADESI-4			
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktor och ledare - Director and Supervisor(s) Johtaja: Thomas Spillmann, professori Ohjaajat (vastuullinen ohjaaja alleviivattu): <u>Leena Sajjonmaa-Koulumies, ELT, dosentti, pieneläinsairauksien erikoiseläinlääkäri</u> Riitta Seppänen, ELL, KTM, sairaalaeläinlääkäri Anna-Maija Virtala, ELT, dosentti Anna Hielm-Björkman, ELT, dosentti			

## Sisällys

Johdanto.....	4
A. Kirjallisuuskatsaus: Atooppinen dermatiitti koirilla.....	4
1 YLEISTÄ KOIRAN ATOOPPISESTA DERMATIITISTA.....	4
1.1 Atooppisen dermatiitin esiintyminen .....	5
2 ETIOLOGIA JA PATOGENEESI.....	6
2.1 Ihon läpäisyeste.....	6
2.1.1 Normaali rakenne.....	6
2.1.2 Lipidit.....	7
2.1.3 Proteiinit.....	10
2.1.4 Transepidermal water loss eli ihon läpi tapahtuva veden haihtuminen .....	12
3 KLIINISET OIREET .....	15
3.1 Signalementti, historia .....	15
3.2 Patognomiset tekijät .....	16
3.3 Sekundaariset tulehdusmuutokset .....	16
3.3.1 Sekundaarinen Staphylococcus-infektio (pinnallinen pyoderma) .....	18
3.3.2 Sekundaarinen Malassezia-infektio .....	18
3.3.3 Sekundaarinen korvatulehdus .....	18
4 DIAGNOSTIIKKA.....	19
4.1 Kliiniset kriteerit.....	19
4.2 Erotusdiagnoosit .....	21
4.2.1 Ektoparasiittitartuntojen poissulku.....	21
4.2.2 Sekundaaristen infektioiden poissulku .....	22
4.2.3 Eliminaatiodieetti ja altistus.....	22
4.3 Intradermaalinen ja serologinen allergeestitesti .....	23
5 HOITO .....	25
5.1 Yleistä koiran atooppisen dermatiitin hoidosta.....	25
5.2 Ihon läpäisyesteen tukemiseen tähtäävät hoidot .....	26
5.2.1 Shampooterapia.....	27
5.2.2 Suun kautta annettavat rasvahappolisät.....	28
5.2.3 Topikaaliset lipidivalmisteet .....	30
5.3 Voiko lääkityksillä vaikuttaa ihon läpäisyesteeseen? .....	31
B. Tutkimusosio .....	32
6 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET .....	32
7 AINEISTO JA MENETELMÄT .....	32
7.1 Lähdepopulaatio ja tutkimuksen kulku .....	32
7.2 Tutkimuspopulaatio .....	35
7.3 Ihon läpäisyesteen arviointi TEWL-mittausten avulla .....	36
7.4 Tilastolliset menetelmät.....	36
8 TULOKSET .....	37
8.1 Tutkimuspopulaation kuvaaminen.....	37
8.2 Eläinten perustietojen kuvaaminen .....	37
8.3 Korrelaatioanalyysit: TEWL ja CADESI-4.....	38
8.4 TEWL-arvojen keskiarvot, mediaanit ja jakautuminen eri diagnoosiryhmissä .....	40
9 POHDINTA .....	41
10 KIITOKSET .....	46
11 LÄHDELUETTELO.....	<b>Virhe. Kirjanmerkkiä ei ole määritetty.</b>

## Johdanto

Koirien atooppinen dermatiitti on suhteellisen yleinen, ihmisten atooppista ihottumaa muistuttava tulehduksellinen, kutiseva ihosairaus geneettisesti alttiilla yksilöillä. Atooppinen dermatiitti on monitekijäinen sairaus, jonka syntymekanismeja ei vielä ole täysin kyetty selvittämään. Taudin patogeneesissä on aiemmin korostettu erityisesti mastosolujen kautta tapahtuvaa IgE-välitteistä yliherkkyysoireita ympäristöperäisille allergeeneille. Viime aikoina rinnalle on kuitenkin nostettu myös muita taudin syntyyn vaikuttavia tekijöitä, kuten T-tulehdussolutyypin välinen epätasapaino, muut kuin ympäristöperäiset allergeenit sekä ihon läpäisyesteessä ilmenevät puutteet. Tämä lisensiaatin tutkielma keskittyy ihon läpäisyesteeseen merkitykseen koirien atooppisessa dermatiitissa. Kirjallisuuskatsauksessa käsitellään ensin etiologiaa ja patogeneesiä ihon läpäisyesteeseen vaikuttavien rakennetekijöiden kautta. Hoitokappaleessa keskitytään hoitovaihtoehtoihin, joiden tarkoituksena on vahvistaa ihon luonnollista läpäisyestettä ja siten ehkäistä/hidastaa atooppisen dermatiitin oireiden kehittymistä. Tämän lisäksi kirjallisuuskatsausosiossa käsitellään tutkimusosion ymmärtämisen kannalta olennaiset asiat, kuten diagnostiset kriteerit ja tärkeimmät atooppisen dermatiitin differentiaalidiagnoosit. Tutkimusosion tavoitteena on selvittää, kuinka hyvin ihon kliininen kunto ja ihon läpi tapahtuvaa veden haihtumista kuvaava TEWL (transepidermal water loss) korreloivat keskenään koiran atooppisessa dermatiitissa. Tutkimuksen hypoteesina oli heikko tai kohtalainen, positiivinen korrelaatio ihon kliinistä kuntoa mittaavien CADESI-4 eli canine atopic dermatitis extent and severity index -arvojen ja TEWL-arvojen välillä. Ihmisten atooppisessa dermatiitissa TEWL-arvot ovat aiemman tutkimustiedon perusteella luotettava mittari arvioimaan ihon läpäisyesteeseen toimivuutta.

### **A. Kirjallisuuskatsaus: Atooppinen dermatiitti koirilla**

#### **1 YLEISTÄ KOIRAN ATOOPPISESTA DERMATIITISTA**

Koiran atooppinen dermatiitti eli atooppinen ihottuma on yleisin ilmenemismuoto koiralla tavattavien atooppisten sairauksien ryhmästä. Muita tähän ryhmään kuuluvia sairauksia ovat mm. atooppinen riniitti eli nuha ja atooppinen konjunktiviitti eli sidekalvontulehdus (Olivry ym. 2001). Koiran atooppinen dermatiitti on monitekijäinen sairaus, jonka taustatekijät ja ilmenemismuodot

voivat vaihdella potilaiden välillä (Favrot ym. 2010, Wilhem ym. 2010, katsauksessa Marsella ym. 2011, katsauksessa Bizikova ym. 2015b, katsauksessa Santoro ym. 2015). Aikaisemmin atooppinen dermatiitti määriteltiin geneettisen alttiuden omaavilla yksilöillä ilmenevänä tulehduksellisena ja kutisevana allergisena ihosairautena, johon liittyy IgE-vasta-aineiden tuotto useimmiten ympäristöperäisiä allergeeneja kohtaan (Halliwell 2006). Kliinisen oirekuvan taustalla voi olla herkistyminen myös muille allergeeneille, kuten ruoka-aineille (ruoan indusoima atooppinen ihottuma eli food induced atopic dermatitis; FIAD ja ruokayliherkkyys eli canine adverse food reaction; cAFR) (Pucheu-Haston ym. 2015). Osalla potilaista havaitaan tyypilliset atooppiseen dermatiittiin viittaavat oireet, mutta IgE-vasta-aineiden muodostumista ympäristöallergeeneille tai muille allergeeneille ei pystytä toteamaan. Tätä tilaa kutsutaan nimellä atopian kaltainen dermatiitti (atopic-like dermatitis) (Halliwell 2006). Syynä voi olla, että kyseinen yksilö ei ole muodostanut IgE-vasta-aineita juuri kyseisiä, tutkimukseen valittuja allergeeneja kohtaan. On myös mahdollista, että atooppisen dermatiitin alkuvaiheessa yksilö ei ole vielä ehtinyt muodostaa IgE-vasta-ainevälitteisiä allergioita tai sairauden piirteet ovat muutoin yhtenevät atooppisen dermatiitin kanssa, mutta tilaan ei liity IgE-vasta-ainevälitteisiä allergioita (katsauksessa Marsella ym. 2011).

### **1.1 Atooppisen dermatiitin esiintyminen**

Atooppisen dermatiitin prevalenssi ja insidenssi vaihtelevat eri tutkimusten välillä ja niihin todennäköisesti vaikuttavat sekä maantieteelliset että populaation sisäiset tekijät (Halliwell & Schwartzman 1971, Nesbitt 1978, Sischo ym. 1989, Lund ym. 1999, Nodtvedt ym. 2006). Ruotsissa vakuutettujen koirien atooppisen dermatiitin insidenssin arvioitiin olevan 1,7 tapausta 1000 koiravuotta kohden (Nodtvedt ym. 2006). Vuonna 1995 Yhdysvalloissa pieneläinklinikoille suunnatussa kyselytutkimuksessa atooppisen ja allergisen dermatiitin insidenssiksi (n= 31 484 koira) arvioitiin 8,7 % (Lund ym. 1999). Pelkästään ihotautipotilaista koostuvissa tutkimuksissa koiran atooppisen dermatiitin prevalenssi on vaihdellut 3,3 %:sta (Halliwell & Schwartzman 1971) aina 30 %:iin (Nesbitt 1978). Esimerkiksi laajassa Sischo ym. (1989) kyselytutkimuksessa, joka toteutettiin 17:ssä eläinlääketieteellisessä opetussairaалassa, 8 %:lla 11 456 ihotautipotilaasta diagnosoitiin atooppinen dermatiitti, ruokayliherkkyys tai allerginen dermatiitti. On huomattava, että kyseisessä tutkimuksessa näitä kolmea eri sairaustilaa ei eroteltu toisistaan. Eriteltyjä tutkimuksia on myös vaikea verrata keskenään, koska insidenssi mittaa uusia tapauksia ja prevalenssi kaikkia tapauksia, jotka yleensä saadaan poikittaisella tutkimuksella.

## 2 ETIOLOGIA JA PATOGENEESI

Koiran atooppisen dermatiitin patogeneesi on vielä osittain epäselvä. Perinteisesti taudin syntymekanismissa on korostettu IgE-vasta-aineiden välittämää yliherkkyysoiretta, jossa elimistön tulehdussoluihin kuuluvat mastosolut vapauttavat histamiinia ja muita tulehduksen välittäjä-aineita vasteena kohtaamilleen ympäristön allergeeneille (katsauksessa Olivry ym. 2010). Uusien tutkimusten valossa kuitenkin myös mm. ihon läpäisyesteiden puutteilla (Marsella ym. 2009, Shimada ym. 2009, Yoon ym. 2011) sekä T-soluilla (Olivry ym. 1999, Schlotter ym. 2011) voi olla merkitystä taudin synnissä. Taudin patogeneesistä on esitetty useita teorioita vuosien varrella. Kaksi pääteoriaa ovat ns. "outside-inside"- ja "inside-outside"-teoriat (katsauksessa Santoro ym. 2015). Perinteisen mallin kannalla oleva "inside-outside" -teoria katsoo immuunijärjestelmän geneettisen vaihtelun ja siitä seuraavien epänormaalien vasteiden, kuten ylenmääräisen allergeenispesifisen IgE:n tai Th2-sytokiinien tuoton, olevan tärkeimpiä taudin synnyn kannalta (katsauksessa Wolf & Wolf 2012, katsauksessa Santoro ym. 2015). Uudempi "outside-inside"-teoria korostaa ihon läpäisyesteessä ilmenevien puutteiden merkitystä (katsauksessa Wolf & Wolf 2012). Teoriat eivät kuitenkaan ole toisensa poissulkevia ja onkin esitetty nämä kaksi teoriaa yhdistävä malli ("outside-inside-outside"-teoria). Tässä mallissa puutteet ihon läpäisyesteessä johtavat immuunijärjestelmän solujen lisääntyneeseen kontaktiin allergeenien ja mikrobien kanssa. Ylikorostunut immuunijärjestelmän aktivoituminen taas johtaa ylenmääräiseen tulehduksen välittäjäaineiden vapautumiseen, jotka entisestään heikentävät ihon läpäisyestettä (katsauksessa Elias ym. 2008).

### 2.1 Ihon läpäisyeste

#### 2.1.1 Normaali rakenne

Iho peittää nisäkkäiden kehon kauttaaltaan ja toimii tärkeänä suojamuurina erilaisille ympäristöstä peräisin oleville fysikaalisille, biologisille ja kemiallisille tekijöille (katsauksessa Madison 2003, katsauksessa Nishifuji & Yoon 2013, kirjassa Rosenkrantz ym. 2014). Iho koostuu epidermiksestä eli orvaskedestä, dermiksestä eli verinahkasta ja subkutiksesta eli ihonalaiskudoksesta. Uloin kerros eli epidermis jakaantuu neljään eri kerrokseen: stratum corneumiin eli sarveiskerrokseen, stratum granulosumiin eli jyväiskerrokseen, stratum spinosumiin eli okasolukerrokseen ja stratum basaleen eli tyvisolukerrokseen. Tärkeimpänä solutyypinä epidermiksessä ihon läpäisyesteiden kannalta sekä lukumäärällisesti ovat keratinosyytit eli sarveissolut (80-85 % soluista), joita muodostetaan stratum basalessa olevasta kantasolukosta. Muita solutyyppejä epidermiksessä ovat Langerhansin solut,

melanosyytit ja Merkelin solut (kirjassa Jain 2012). Ylemmissä epidermisen kerroksissa keratinosyytit tuottavat keratiinifilamentteja, keratiinifibrillejä ja keratohyaliniinijyväsiä, joista lopulta muodostuu kypsää keratiinia. Ennen erilaistumistaan stratum corneumin tumattomiksi, kuolleiksi korneosyyteiksi jyväiskerroksen keratinosyytit tuottavat kolesterolista, fosfolipideistä ja glykosyylikeramideista ns. lamellaarigranuloissa eli lamellaarijyvässä lipidilamelleja eli lipidiliuskoja, jotka vapautetaan stratum corneumin ja stratum granulosumin rajalla soluvälitilaan eksosytoosilla (katsauksessa Madison 2003). Epidermisen uloin kerros stratum corneum koostuu korneosyyteistä (ns. ”tiilet”) sekä niitä ympäröivistä lipideistä (ns. ”laasti”) (kuva 1 s. 7), jotka yhdessä muodostavat ihoa suojaavan läpäisyesteen (kirjassa Nuttall ym. 2009a, kirjassa Jain 2012, katsauksessa Nishifuji & Yoon 2013). Korneosyytit saavat muotonsa ja mekaanisen kestäväytensä niiden sisältämistä keratiinifilamenteista ja filagriini-nimisen proteiinin monomeereistä eli pienistä molekyylialayksiköistä, jotka muodostavat yhdessä tiukkoja kimpumaisia rakenteita korneosyyttien sytoplasmaan eli solulimaan. Tämän lisäksi korneosyyttien sisemmässä solukalvossa ovat ns. ”vaippaproteiinit” kuten involukriini tarjoavat mekaanista ja rakenteellista kestävyttä (katsauksessa Nishifuji & Yoon 2013). Korneosyytit liittävät solukalvonsa toisiinsa korneodesmosomi-nimisten kiinnikeproteiinirakenteiden välityksellä. Ihon pinnan normaalin hilseilyn aikana erilaiset seriiniproteaasit kuten kallikreiinit hajottavat näitä kiinnikeproteiinirakenteita. Lisää kestävyttä stratum corneumin rakenteeseen tuo osan lipideistä kovalentti sitoutuminen korneosyyttien sisemmän solukalvon ”vaippaproteiineihin”, mikä muodostaa solunulkoisille lipidilamelleille tukirakenteiston (katsauksessa Nishifuji & Yoon 2013).



*Kuva 1: Yksinkertaistettu "tiilit ja laasti"-malli stratum corneumin eli sarveiskerroksen rakenteesta. Mukailtu kirjasta Nuttall ym. 2009a ja katsauksesta Nishifuji & Yoon 2013.*

### 2.1.2. Lipidit

Stratum corneumin lipideihin kuuluvat vapaat rasvahapot, kolesteroli ja keramidit (katsauksessa Marsella ym. 2011). Suurimman osan lipideistä muodostavat keramidit, joita on ihmisen stratum corneumissa noin 50 % kokonaislipideistä (Masukawa ym. 2009). Keramideihin kuuluu ihmisellä yhteensä 11 erilaista molekyyliiryhmää (Masukawa ym. 2008) ja ne ovat heterogeenisin stratum

corneumin lipidien ryhmä (katsauksessa Marsella ym. 2011). Keramidit ovat kemialliselta rakenteeltaan sfingoidiemäksiä, joihin on amidisidoksella liittynyt eri rasvahappoja (kirjassa Rosenkrantz ym. 2014).

Terveiden ja atooppisten koirien ihon stratum corneumin lipidikoostumuksessa on havaittu eroja (Inman ym. 2001, Reiter ym. 2009, Shimada ym. 2009, Yoon ym. 2011, Popa ym. 2011a). Shimadan ym. (2009) tutkimuksessa vertailtiin ihon lipidikoostumusta ihobiopsianäytteissä ohutkerroskromatografia-menetelmän avulla atooppista dermatiittia sairastavien koirien ihomuutoksia sisältävien, terveeltä näyttävien alueiden sekä terveiden koirien kesken. Tutkimuksessa havaittiin, että ihon suhteellinen keramidipitoisuus oli tilastollisesti merkitsevästi matalampi sekä ihomuutoksia sisältävillä että terveiltä näyttävillä ihoalueilla verrattuna terveisiin kontrolleihin. Sen sijaan kolesterolin ja rasvahappojen suhteellisessa osuudessa ei ollut havaittavissa eroja ryhmien välillä. Olivryn (2011) katsausartikkelissa todetaan, että Shimadan ym. (2009) tutkimuksessa havaitut alentuneet keramidipitoisuudet saattavat selittyä koirien keskimääräisellä iällä, joka oli atooppista dermatiittia sairastavilla yli kaksinkertainen kontrolleihin verrattuna. Vastaavia tuloksia saatiin kuitenkin Yoonin ym (2011) ja Reiterin ym. (2009) tutkimuksissa, joissa terveet kontrollit vastasivat iältään atooppista dermatiittia sairastavia. Yoonin ym (2011) tutkimuksessa vapaiden, ei proteiiniin sitoutuneiden keramidiryhmien profiili todettiin ihmistä vastaavaksi (Masukawa ym 2008) ja keramidien kokonaismäärä selvästi alhaisemmaksi atooppisessa dermatiitissa. Lisäksi havaittiin, että erityisesti tietyt keramidiryhmät CER[EOS], CER[EOP] ja CER[NP] olivat vähentyneet atooppista dermatiittia sairastavien koirien ihossa. Reiterin ym. (2009) tutkimuksessa havaittiin keramidiryhmien CER-1 ja CER-9 prosentuaalisen osuuden olevan tilastollisesti merkitsevästi alhaisempi atooppikkokoirilla verrattuna terveisiin kontrolleihin. Lisäksi kolesteroli-keramidi -suhteen havaittiin olevan tilastollisesti merkitsevästi korkeampi atooppista dermatiittia sairastavilla koirilla. Lisää tutkimusnäyttöä keramidien määrän vähenemisestä koiran atooppisessa dermatiitissa saatiin Popan ym. (2011a) tutkimuksessa, jossa selvitettiin vapaiden lipidien lisäksi myös proteiiniin sitoutuneiden lipidien määriä stratum corneumissa. Tuloksissa havaittiin kokonaiskeramidien ja tiettyjen keramidiryhmien (CER[EOP], CER[AH]) määrän olevan tilastollisesti merkitsevästi alhaisempi atooppikkokoirilla verrattuna terveisiin kontrolleihin. Tutkimuksessa havaittiin lisäksi, että keramidien esiasteita eli vapaita glykosylykeramideja ei todettu lähes lainkaan terveen koiran stratum corneumissa. Atooppista dermatiittia sairastavalla koiralla niitä sen sijaan havaittiin stratum corneumin kaikissa kerroksissa suuria määriä. Tämä voisi merkitä



sitä, että atooppista dermatiittia sairastavilla koirilla on jokin epätyypillinen keramidien metaboliareitti, kuten puutos entsyymissä, joka muuttaa glykosyylikeramideja keramideiksi (katsauksessa Olivry 2011).

Lipidilamellien järjestämisessä stratum corneumissa on havaittu eroja atooppista dermatiittia sairastavien koirien ja terveiden kontrollien välillä (Inman ym. 2001, Marsella ym. 2009). Inmanin ym. (2001) tutkimuksessa vertailtiin atooppista dermatiittia sairastavien ja terveiden kontrollikoirien ihobiopsianäytteitä läpäisyelektronimikroskoopilla. Tutkimuksessa havaittiin atooppikkokoirilla stratum corneumin lipidilamellikerrostumien olevan epäyhtenäisiä ja lipidilamellien rakenteen olevan poikkeava verrattuna terveisiin kontrolleihin. Ns. flare factorin eli atooppisen dermatiitin oireiden äkillistä pahentumista aiheuttavan tekijän nopeita vaikutuksia stratum corneumin lipidilamellien rakenteeseen osoitettiin puolestaan Marsellan ym. (2009) tutkimuksessa, jossa vertailtiin lipidilamellien ja lamellaarin järjestäytymistä stratum corneumissa kokeellisesti aikaansaatuja, atooppista dermatiittia jäljittelevien koirien ja terveiden koirien välillä. Tutkimukseen osallistui pölypunkille (*Dermatophagoides farinea*) kokeellisesti herkistettyjä beaglejä ja terveitä kontrollibeaglejä. Kaikki koirat altistettiin pölypunkeille kolmena peräkkäisenä päivänä ja niiltä kerättiin ihobiopsiat inguinaali- eli nivusalueelta ennen altistusta ja kolme vuorokautta altistuksen jälkeen. Näytteet tutkittiin läpäisyelektronimikroskoopilla. Ennen altistusta otetuissa näytteissä havaittiin terveillä koirilla stratum corneumin olevan säännöllisesti ja tiiviisti järjestäytyneet. Sen sijaan atooppisessa ihossa havaittiin jo tässä vaiheessa stratum corneumin lipidilamellien olevan epäsäännöllisemmin järjestäytyneitä ja keratinosyyttien välillä oli havaittavissa leveämpiä soluvälitiloja. Allergeenialtistuksen jälkeen otetuissa näytteissä atooppisilla koirilla havaittiin entistä leveämpiä soluvälitiloja, lipidilamellien epäjärjestäytyneisyyttä ja epänormaaleja, rakenteettomia lipidikeräytyksiä. Terveillä kontrolleilla ei havaittu merkittäviä muutoksia allergeenialtistuksen jälkeisissä näytteissä.

Bäumerin ym. (2011) tutkimuksessa selvitettiin keramideista muodostuvan sfingosiini-1-fosfaatin määrää ihossa ja plasmassa terveillä ja atooppista dermatiittia sairastavilla koirilla. Sfingosiinia muodostetaan ihossa keramideista ja se fosforoidaan sfingosiinikinaasien toimesta sfingosiini-1-fosfaatiksi (Herzinger ym. 2007). Sfingosiini-1-fosfaatti osallistuu ihon suojavaipan muodostumiseen, jonka lisäksi se toimii signaalimolekyylinä. Sillä on merkitystä immuunisolujen säätelyssä ja se toimii anti-inflammatorisena yhdisteenä (Mandala ym. 2002). Bäumerin ym. (2011) tutkimuksessa

sfingosiini-1-fosfaatin (S1P) määrä ihobiopsioissa ja plasmanäytteissä oli tilastollisesti merkitsevästi vähentynyt atooppista dermatiittia sairastavilla verrattuna terveisiin kontrolleihin. Lisäksi tutkittiin eroavaisuuksia eksogeenisesti eli ulkoisesti lisätyn sfingosiini-1-fosfaatin hajoamisessa ihobiopsianäytteissä. Tutkimuksessa todettiin ihomuutoksia sisältävissä atooppisen ihon biopsianäytteissä sfingosiini-1-fosfaatin hajoamisnopeuden olevan tilastollisesti merkitsevästi korkeampi verrattuna terveeseen ihoon (Bäumer ym. 2011). Korkeampi hajoamisnopeus atooppisessa ihossa voisi mahdollisesti viitata S1P:tä hajottavan entsyymin, S1P-lyyaasin, normaalia suurempaan aktiivisuuteen atooppista dermatiittia sairastavilla koirilla (katsauksessa Olivry 2011).

Edellä mainittujen tutkimusten perusteella koirien atooppiseen dermatiittiin vaikuttaisi liittyvän selkeästi sekä lipidilamellien poikkeava järjestäytyminen stratum corneumissa että lipidikoostumuksen muutokset (keramidien kokonaismäärän väheneminen, tiettyjen keramidiryhmien väheneminen) (Inman ym. 2001, Marsella ym. 2009a, Shimada ym. 2009, Yoon ym. 2011, Popa ym. 2011a). Keramidien määrän vähenemistä havaitaan myös kliinisesti terveiltä näyttävillä ihoalueilla (Shimada ym. 2009, Popa ym. 2011a). Lisäksi on todettu, että atooppista dermatiittia sairastavien koirien stratum corneumissa esiintyy runsaasti glykosyylikeramideja, keramidien esiasteita, kun ne taas puuttuvat lähes kokonaan terveiltä kontrolleilta. Tämä voisi merkitä keramidien epätyypillistä metaboliareittiä atooppista dermatiittia sairastavien koirien ihossa (Popa ym. 2011a). Keramideista muodostettavaa sfingosiini-1-fosfaattia, joka osallistuu ihon läpäisyesteen muodostumiseen ja toimii signaalimolekyylinä, taas esiintyy tilastollisesti merkitsevästi vähemmän atooppikkokoirien stratum corneumissa verrattuna terveisiin kontrolleihin (Bäumer ym. 2011).

### 2.1.3 Proteiinit

Atooppista dermatiittia sairastavilla ihmisillä on havaittu epidermaaliseen erilaistumiseen/keratinisaatioon osallistuvien proteiinien määrän vähenemistä epidermiksessä. Erityisen tärkeänä nykytiedon valossa pidetään filagriini-nimisen proteiinin määrän vähenemistä stratum corneumissa (Chen ym. 2011, Kawasaki ym. 2011, Osawa ym. 2011). Sitä koodaavan geenin (FLG) mutaation katsotaan ihmisillä olevan tällä hetkellä tärkein tutkituista kandidaattigeeneistä ja sen katsotaan olevan suuri riskitekijä atooppisen dermatiitin synnyssä (Palmer ym. 2006, Baurecht ym. 2007, Irvine 2007, O'Regan & Irvine 2010). Irvinen (2007) tutkimuksessa FLG-

mutaatioposiitiivisten osuuden arvioitiin olevan 18-48 % atooppista dermatiittia sairastavista ihmisistä. Vähentynyt filagriinin määrä voi kuitenkin olla myös sekundaarinen, mm. Th2-sytokiinien tai epigeeneettisten tekijöiden aiheuttama muutos. Myös FLG-mutaation suhteen negatiivisilla yksilöillä sekundaarisella filagriinin vähentymisellä voi olla kliinistä merkitystä (katsauksessa Marsella ym. 2011, katsauksessa Marsella 2013).

Osalla atooppista dermatiittia sairastavista koirista esiintyy filagriiniproteiinin määrän ja mRNA:n geeni-ilmentymisen vähentymistä (Chervet ym. 2010, Roque ym. 2011). Allergeenialtistuksen on myös yhdessä tutkimuksessa osoitettu mahdollisesti johtavan ns. feedback- eli palautemekanismin kautta lisääntyneeseen mRNA:n määrään filagriiniproteiinien hajoamisen lisääntyessä (Santoro ym. 2013). Chervetin ym. (2010) tutkimuksessa todettiin filagriiniproteiinin ilmentymisen olevan vähentynyttä suurella osalla tutkimukseen osallistuneista atoopikkokoirista. Lisäksi 22 %:lla eli noin viideosalla atoopikkokoirista puuttui ihmisten tutkimustietoa vastaavasti filagriinin ns. C-terminaalien ilmentyminen merkiten mahdollisesti FLG-geenimutaatiota, joka aiheuttaa C-terminaalien tyypistymisen filagriinin proteiinirakenteessa. Tutkimuksessa sekä atoopikkokoirien että terveiden kontrollien ihobiopsianäytteitä tutkittiin immunofluoresenssimenetelmällä. Roquen ym. (2011) tutkimuksessa tutkimuspopulaation pienellä osajoukolla, jotka olivat kaikki valkoisia länsiylämaan terriereitä, todettiin filagriinin mRNA:n eli lähetti-RNA:n ilmentymisen PCR-tutkimuksessa olevan tilastollisesti merkitsevästi vähäisempää atoopikkokoirien ihobiopsianäytteissä verrattuna terveisiin kontrolleihin. Tutkimuksessa todettiin johtopäätöksenä, että filagriinin mRNA:n ilmentymiseen voisi liittyä rotukohtaisia eroja.

Santoron ym. (2013) tutkimuksessa filagriinin mRNA:n ilmentymisen havaittiin olevan tilastollisesti merkitsevästi suurempi pölypunkki-allergeenille (*Dermatophagoides farinae*) kokeellisesti herkistetyillä, atooppista dermatiittia jäljittelevillä koirilla allergeenialtistuksen jälkeen verrattuna terveisiin kontrolleihin. Kaikki koirat altistettiin samalle pölypunkki-allergeenille, jolle atooppista dermatiittia sairastavat oli aiemmin kokeellisesti herkistetty. Ihobiopsianäytteet otettiin ennen ja jälkeen allergeenialtistuksen. Filagriinin mRNA:n ilmentymisen tutkimiseen käytettiin kvantitatiivista, reaaliaikaista PCR-menetelmää. Lisääntyneeseen filagriinin mRNA:n ilmentymiseen ei kuitenkaan liittynyt lisääntynyt filagriiniproteiinin ilmentyminen. Tämä voisi johtua pölypunkki-allergeenin aiheuttamasta lisääntyneestä filagriiniproteiinien hajoamisesta, joka johtaa ns. feedback -eli palautemekanismin kautta lisääntyneeseen filagriinin geeni-ilmentymiseen.

Tulosta tukee Theerawatanasirikulin ym. (2012) tutkimus, jossa atooppista dermatiittia sairastavien koirien ihomuutoksia sisältävissä ihobiopsianäytteissä todettiin tilastollisesti merkitsevästi korkeampi FLG:n geeni-ilmentyminen.

Johtopäätöksenä voidaan todeta, että filagriini-proteiinien ja sitä koodaavan FLG-geenin poikkeavaa ilmentymistä esiintyy ainakin osalla atooppista dermatiittia sairastavista koirista. Tutkimuksia aiheesta on kuitenkin toistaiseksi vähän, aineistot ovat pieniä ja osassa tutkimuksista atooppinen dermatiitti on aikaansaatu kokeellisesti (Chervet ym. 2010, Roque ym. 2011, Theerawatanasirikul ym. 2012, Santoro ym. 2013). Tästä johtuen tarvitaan lisää vakuuttavaa tutkimusnäyttöä, jotta voitaisiin luotettavasti arvioida filagriinin osuutta koirien atooppisessa dermatiitissa.

#### 2.1.4 Transepidermal water loss eli ihon läpi tapahtuva veden haihtuminen

Ihmisillä ihon läpäisyesteen toimivuutta voidaan epäsuorasti arvioida TEWL:n eli ihon läpi tapahtuvan veden haihtumisen mittauksen ja ihon hydraatiomittausten avulla. TEWL-arvo kuvaa sitä kondensoituneen veden tiheyttä, joka diffundoituu epidermiksestä ja dermiksestä ihon pinnalle. TEWL-arvot ilmaistaan yksikössä  $g/m^2/h$  (katsauksessa Kottner ym. 2013). TEWL-mittaukset mahdollistavat ihon läpäisyesteen puutteellisuuden havaitsemisen myös kliinisesti terveiltä näyttävillä ihoalueilla (katsauksessa Marsella ym. 2011). TEWL-arvon suurenemisen ja ihmisen atooppisen dermatiitin oireiden vakavuuden välillä on useiden tutkimusten perusteella havaittu vahva korrelaatio (Kim ym. 2006, Gupta ym. 2008, Hon ym. 2008). Esimerkiksi Kimin ym. (2006) tutkimuksessa havaittiin, että keskimääräinen TEWL-arvo atooppista dermatiittia sairastavilla ihmisillä oli tilastollisesti merkitsevästi korkeampi kontrolleihin verrattuna kaikissa viidessä leesioita sisältävässä mittauskohdassa, joita olivat korvantaus, kyynärvarsi, vatsa, reisi ja popliteaalifossa. Punoitusmuutokset ja kovettuma-/papulaatiomuutokset korreloivat tilastollisesti merkitsevästi TEWL-arvojen kanssa neljässä mittauskohdassa ja xerosis- eli ihokuivuusarvot kolmessa mittauskohdassa. Tulee kuitenkin muistaa, että mm. anatominen sijainti (Kim ym. 2006) tai potilaan ikä (Nikolovski ym. 2008) voivat aiheuttaa vaihtelua TEWL-arvoihin. Esimerkiksi Nikolovskin ym. (2008) tutkimuksessa, jossa TEWL-arvoja mitattiin käsivarren iholta kahdesta kohdasta, todettiin lapsien TEWL-arvojen olevan tilastollisesti merkitsevästi korkeampia aikuisiin verrattuna.

TEWL- mittausten hyödyllisyydestä koirilla on toistaiseksi toisistaan poikkeavia mielipiteitä.

Tutkimuksia aiheesta on vähän ja tulokset ovat vaihtelevia. On mahdollista, että TEWL-arvot voivat kertoa myös koirilla ihon läpäisyesteen kunnosta (Shimada ym. 2008, Hightower ym. 2010, Shimada ym. 2009, Cornegliani ym. 2011, Zajak ym. 2014). Useimmat vanhempien tutkimuksien TEWL-mittauksista koirilla on tehty ns. avoimen kammion (open-chamber) menetelmällä, jossa mittauskohta jää avoimeksi mittauksen ajaksi (Watson ym. 2002, Hester ym. 2004). Suljetun kammion menetelmässä (closed-chamber) iho tai muu mittauspinta sulkee mittausensorin sisältävän mittauskammion, jolloin ympäristön ilmavirtauksilla ei ole vaikutusta tuloksiin (Yoshihara ym. 2007). Yoshiharan ym. (2007) tutkimuksessa todetaan suljetun kammion menetelmän olevan luotettavampi, koska sillä saadaan minimoitua ympäristön suhteellisen kosteuden ja koirien liikehännän vaikutukset tuloksiin. Tässä tutkimuksessa mitattiin terveiden koirien TEWL-arvoja selän, olkapään, säären sekä hännänjuuren alueilta sekä avoimen että suljetun kammion menetelmillä. Lau-Gillardin ym. Vapometer-mittauslaitteen (2010) validointitutkimuksessa toisaalta havaittiin suljetulla kammiomenetelmällä mitatuissa TEWL-arvoissa selvää vaihtelua anatomisen sijainnin, ajan ja koirayksilöiden suhteen. Koiria oli edustettuna useista eri koiraroduista. Mittaukset suoritettiin tassuista ja kyynärvarsista. Tutkimuksen johtopäätöksenä todettiin, että Vapometer-laitetta tulisi käyttää vain hyvin standardoidun protokollan omaavissa tutkimuksissa, jos haluttaisiin saavuttaa luotettavia tuloksia. Yksimielisyyttä eri TEWL-mittausmenetelmien paremmuudesta koirilla ei ole siis saavutettu.

Myös ihmispuolella on tehty vertailevia tutkimuksia näitä kahta menetelmää hyödyntävien laitteiden kesken eivätkä tulokset ole sielläkään yksiselitteisiä (Paepe ym. 2005, Steiner ym. 2011). Paepen ym. (2005) ja Steinerin ym. (2011) tutkimuksissa havaittiin, että suljetun kammion menetelmään perustuva TEWL-mittauslaite (Vapometer) ei ole ihmisillä yhtä herkkä havaitsemaan pieniä muutoksia kokeellisissa ihovaurioissa verrattuna avoimen kammion menetelmään. Avoimen kammion menetelmää hyödyntävän laitteen kapasiteetti korkeisiin TEWL-arvoihin taas voi olla rajoittunutta (Steiner ym. 2011). Karvapeitteen vaikutusta koirien TEWL-arvoihin on myös tutkittu. Esimerkiksi Watsonin ym. (2002) terveillä labradorinnoutajilla tehdyssä tutkimuksessa todetaan, että karvojen ajaminen karvanleikkurilla laskee TEWL-arvoja tilastollisesti merkitsevästi (44 %) ja tämä vaikutus säilyy 24 h ajan. Vastaavaa vaikutusta ei havaittu, kun karvoja lyhennettiin saksilla. Syitä ilmiölle voisivat olla esim. karvojen ajon aiheuttaman ihon pinalämpötilan lasku tai karvapeitteen suoranainen vaikutus veden haihtumiseen iholta (Watson ym. 2002).

Shimadan ym. (2008) tutkimuksessa selvitettiin ihon läpäisyesteen ja TEWL-arvon välistä korrelaatiota vaurioittamalla stratum corneumia keinotekoisesti teippirepäisy menetelmän avulla 10 terveellä koiralla. TEWL mitattiin suljetun kammion menetelmällä. Tuloksissa havaittiin, että TEWL-arvot nousivat tilastollisesti merkitsevästi teippirepäisykertojen määrän kasvaessa. Kokeellisesti aiheutetut ihon vauriot siis heikensivät ihon läpäisyestettä ja TEWL-arvon nousu oli suoraan verrannollinen ihovaurioiden voimakkuuteen. Atooppisen dermatiitin vaikutus ihon läpäisyesteen kuntoon pystyttiin puolestaan osoittamaan Shimadan ym. (2009) tutkimuksessa, jossa mitattiin TEWL-arvoja suljetun kammion (closed-chamber) menetelmällä atooppista dermatiittia sairastavan koirien ja terveiden kontrollien inguinaalialueelta. Koirien karvapeite ajeltiin mitattavalta ihoalueelta ennen mittauksen suorittamista. TEWL-arvojen todettiin olevan tilastollisesti merkitsevästi korkeampia ihomuutoksia sisältävässä atooppisessa ihossa verrattuna terveisiin kontrolleihin. Tutkimuksessa havaittiin lisäksi, että myös terveeltä näyttävillä ihoalueilla atooppisten koirien TEWL-arvot olivat tilastollisesti merkitsevästi suurempia verrattuna terveisiin kontrolleihin, eli sekundaariset muutokset ihon läpäisyesteeseen eivät pelkästään selittäneet TEWL-arvojen nousua. Cornegliani ym. (2011) tutkimuksessa puolestaan osoitettiin, että TEWL-arvot ovat tilastollisesti merkitsevästi alhaisempia remissio- eli elpymisvaiheessa olevilla atooppikkokoirilla verrattuna hoitamattomiin/kontrolloimattomiin atooppikkokoiriin. Toisin sanoen onnistuneen lääkityksen kautta tapahtuvalla ihon kliinisen kunnan paranemisella oli havaittavissa selvä, positiivinen vaikutus TEWL-arvoihin. Hoitona käytettiin joko allergeenispesifistä immunoterapiaa tai siklosporiinilääkitystä vähintään vuoden ajan. Remissio- eli elpymisvaihe määriteltiin niin, että tietty pistemäärä alittui ihon kliinistä kuntoa arvioivassa canine atopic dermatitis extent and severity index eli CADESI-3-menetelmässä. Kolme tutkimusta yhdistäneessä Marsellan (2012) retrospektiivisessä tutkimuksessa selvää korrelaatiota ihon kliinisen kunnan (CADESI-3) ja TEWL-arvojen välillä atooppista dermatiittia sairastavilla koirilla ei havaittu. Avoimen kammion menetelmän mittauslaitetta käytettiin yhdessä tutkimuksista. Karvoja ei ajeltu ennen mittausten suorittamista. Tutkimuksessa havaittiin ainoastaan korvanlehden TEWL-arvon ja CADESI-arvojen välillä positiivinen korrelaatio. Toisaalta Zajacin ym. (2014) tutkimuksessa, jossa arvioitiin TEWL- ja CADESI-3-arvojen korrelaatiota atooppikkokoirilla kymmenellä eri mittausalueella, todettiin johtopäätöksenä TEWL-arvojen voivan kertoa ihon kliinisestä kunnosta. Positiivista korrelaatiota tosin havaittiin tässäkin tutkimuksessa vain viidessä kymmenestä mittauskohdasta.

Hightowerin ym. (2010) tutkimuksessa selvitettiin ns. akuutin leimahduksen eli atooppisen

dermatiitin oireiden äkillisen pahenemisen aiheuttajan, tässä tapauksessa pölypunkkiallergeenialtistuksen (*Dermatophagoides farinae*), vaikutuksia TEWL-arvoihin allergeenille aiemmin kokeellisesti herkistetyillä, atooppisilla koirilla ja terveillä, samanrotuisilla kontrolleilla. TEWL-mittaukset suoritettiin avoimen kammion menetelmällä ennen altistusta ja kolme vuorokautta altistuksen jälkeen. Jo ennen altistusta mitatuissa TEWL-arvoissa havaittiin tilastollisesti merkitsevä ero atooppisten ja terveiden koirien välillä kuudessa kymmenestä mittauskohdasta. Atooppisilla koirilla havaittiin allergeenialtistuksen jälkeen tilastollisesti merkitsevä nousu TEWL-arvossa ainoastaan yhdessä kymmenestä mittauskohdasta. Terveillä koirilla allergeenialtistuksella ei ollut lainkaan tilastollisesti merkitsevää vaikutusta. Kyseisen tutkimuksen perusteella akuuttia leimahdusta aiheuttaneella tekijällä ei havaittu selvää, välitöntä vaikutusta TEWL-arvoihin.

Esiteltyjen tutkimuksien perusteella TEWL-mittaukset koirilla voivat kertoa yleisesti ihon läpäisyesteen puutteista (Shimada ym. 2008, Shimada ym. 2009) ja jopa kokeellisesti aiheutettujen ihovaurioiden vakavuusasteesta (Shimada ym. 2008) mutta käytännössä atooppisen dermatiitin yhteydessä ne eivät välttämättä ole luotettava mittari arvioimaan ihon läpäisyesteen vaurioiden voimakkuutta (Hightower ym. 2010, Cornegliani ym. 2011, Marsella 2012, Zajac ym. 2014).

## 3 KLIINISET OIREET

### 3.1 Signalementti, historia

Tyypillisimmin atooppinen dermatiitti alkaa oireilla nuorella iällä, noin 1/2-3 vuoden iässä (kirjassa Nuttall ym. 2009a, katsauksessa Olivry ym. 2010, katsauksessa Bizikova ym. 2015b). Laajassa, 843 atooppista dermatiittia sairastavaa koira käsittävissä Favrotin ym. (2010) tutkimuksessa havaittiin, että 68 %:lla koirista oireet olivat ilmaantuneet ennen kolmen vuoden ikää ja keskimääräinen sairastumisikä oli 2,2 vuotta. Sukupuolen vaikutuksesta on saatavilla toisistaan poikkeavia tutkimustuloksia, vaihdellen narttujen tai urosten suuremmasta alttiudesta siihen, että sukupuolella ei ole lainkaan merkitystä (katsauksessa Griffin & DeBoer 2001). Esimerkiksi aiemmin mainitussa Favrotin ym. (2010) tutkimuksessa ei havaittu eroja esiintyvyydessä sukupuolten välillä.

Oireilu voi olla joko kausittaista tai ympäri vuoden tapahtuvaa (Scott 1981, Favrot ym. 2010). Scottin

(1981) tutkimuksessa noin 80 %: n kausittain oireilevista koirista havaittiin oireilevan pääasiassa keväällä ja kesällä. Osalla koirista oireilu voi myös olla jatkuvaa, mutta voimistua jonakin tiettyinä vuodenaikana (kirjassa Nuttall ym. 2009a, Favrot ym. 2010, katsauksessa Olivry ym. 2010, kirjassa Rosenkrantz ym. 2014). Esimerkiksi Favrotin ym. (2010) tutkimuksessa 24 %: lla 843 tutkimukseen osallistuneista atooppisesta koirasta kliinisten oireiden voimakkuudessa oli havaittavissa vuodenaikaisvaihtelua.

### **3.2 Patognomiset tekijät**

Kliininen oirekuva vaihtelee paljon eikä ole olemassa varsinaisia taudille patognomisia tekijöitä (kirjassa Nuttall ym. 2009a, Favrot ym. 2010, kirjassa Rosenkrantz ym. 2014). Diagnostiikan helpottamiseen on kuitenkin kehitetty erilaisia kriteeristöjä, tuoreimpana ns. Favrotin kriteerit (Favrot ym. 2010). Nämä käsitellään myöhemmin tässä tutkielmassa diagnostiikka-kappaleen kohdalla. Yksi yleisimmistä atooppiseen dermatiittiin liittyvistä oireista on kutina (Favrot ym. 2010, katsauksessa Olivry ym. 2010). Favrotin ym. (2010) tutkimuksessa 61 %: lla tutkimukseen osallistuneista koirista oli havaittu alkuvaiheessa ainoastaan kutinaa ilman ihomuutoksia. Kutinan aste vaihtelee ja se voi olla joko paikallistunutta tietyille alueelle/alueille tai yleistynyttä. Tyypillisiä kutisevia iho-alueita ovat mm. korvanlehdet, silmänympärykset, kaulan ventraaliosat, kainalot, kyljet, tassut, vatsan alue tai hännänalus (kirjassa Nuttall ym. 2009a, Favrot ym. 2010, katsauksessa Bizikova ym. 2015b). Suurimmalla osalla koirista (78 %) atooppiseen dermatiittiin liittyvä kutina lievittyy glukokortikoidihoidolla (Favrot ym. 2010). Kutina on atooppiselle dermatiitille jopa niin tyypillinen oire, että sen puuttuminen sulkee pois atooppisen dermatiitin mahdollisuuden (kirjassa Rosenkrantz ym. 2014). Lievä kutina voi kuitenkin jäädä omistajalta havaitsematta, jolloin eläinlääkäriin tulee tarkastella kutinan aiheuttamia epäsuoria muutoksia ihoon, kuten nirhaumia tai katkeilleita ja syljen värjäämiä karvoja (Nuttall ym. 2009a). Mahdollisia primaarimuutoksia kutinan lisäksi voivat olla punoitus, makulat eli läikät ja pienet papulat eli näppylät. Rajanveto primaarien ja sekundaaristen muutosten välillä voi kuitenkin välillä olla hankalaa (katsauksessa Olivry ym. 2010, katsauksessa Bizikova ym. 2015b).

### **3.3 Sekundaariset tulehdusmuutokset**

Useimpien atooppista dermatiittia sairastavien koirien ihoon kehittyy sekundaarisia ihomuutoksia (Favrot ym. 2010). Hyperpigmentaatiota eli ihon tummumista voi esiintyä tulehduksen tai itse



aiheutetun ihoärsytyksen seurauksena (kirjassa Nuttall ym. 2009a, katsauksessa Olivry ym. 2010). Kroonistuessaan nämä tekijät voivat johtaa myös ihon likenifikaatioon eli ns. jäkälöitymiseen. Yleisimmin jäkälöityismuutoksia esiintyy korvissa, silmien ympärillä, kaulan ventraaliosissa, kainaloissa, kyljissä, huulissa ja hännäanaluksessa (kirjassa Nuttall ym. 2009a). Muita mahdollisia ihossa ilmeneviä sekundaarimuutoksia ovat mm. seborrea eli lisääntynyt talineritys, hilseily, naarmut ja alopesia eli karvattomuus (kirjassa Nuttall ym. 2009a, katsauksessa Olivry ym. 2010).

Sekundaariset mikrobi-infektioiden aiheuttamat muutokset ihossa voivat entisestään heikentää ihon läpäisyestettä (katsauksessa Santoro ym. 2015). Tärkeimmät bakteerit atooppisen dermatiitin yhteydessä ovat patogeenisiä eli taudinauheuttamiskykyisiä stafylokokkeja (katsauksessa Santoro ym. 2015). Osa näistä stafylokokkeista voi esimerkiksi tuottaa ns. superantigeeneinä toimivia toksiineja aiheuttaen ylenmääräisen T-solujen aktivaation ja sytokiinien eli tulehduksen välittäjäaineiden tuotannon (Skov ym. 2000, Hendricks ym. 2002). Ihmisellä merkityksellisimpänä lajina pidetään *Staphylococcus aureus* -bakteeria (Leyden ym. 1974) ja koiralla *Staphylococcus pseudintermedius* -bakteeria (Fazakerley ym. 2009). Bakteerit voivat hyödyntää ihon läpäisyesteen puutteita selviytyäkseen ja lisääntyäkseen paremmin ihossa. Ihmisillä on osoitettu, että jopa 90 %:lla atoopikoista on havaittavissa *Staphylococcus aureus* -bakteerin kolonisaatiota iholla verrattuna 5-30 %:iin terveillä kontrolleilla (Leung 2003). Saman on osoitettu pätevän myös atooppisilla koirilla, joilla 91,7 %:lla on havaittavissa koagulaasipositiivisten stafylokokkien kolonisaatiota iholla verrattuna 39,5 %:iin terveillä koirilla (Fazakerley ym. 2009). Lisäksi ihmisillä *Staphylococcus aureus* -bakteerin (Cole & Silverberg 1986) ja koirilla *Staphylococcus pseudintermedius* -bakteerin (Simou ym. 2005) on todettu kiinnittyvän tilastollisesti merkitsevästi enemmän atooppikkojen korneosyytteihin verrattuna terveisiin kontrolleihin. Syitä lisääntyneelle bakteerien kolonisaatiolle voivat olla esimerkiksi antigeenejä tunnistavien ns. toll like- reseptorien vähentynyt toiminta ja keratinosyyttien vähentynyt antimikrobisten peptidien tuotanto (Kuo ym. 2013). Lisääntynyt bakteeriperäinen aktiviteetti puolestaan voi edelleen heikentää ihon läpäisyestettä ja tämä luo ns. "noidankehän" (Cole & Silverberg 1986, Cho ym. 2001). Esimerkiksi Chon ym. (2001) tutkimuksessa osoitettiin hiirimallin avulla, että Th2-solujen tuottamat sytokiinit voivat lisätä fibronectiinin tai fibrinogeenin tuotannon kautta *Staphylococcus aureus* -bakteerin kiinnittymistä ihoon eli toisin sanoen elimistön oma tulehdusvaste vaikuttaisi tutkimuksen perusteella edesauttavan bakteerin kiinnittymistä.

### 3.3.1 Sekundaarinen *Staphylococcus*-infektio (pinnallinen pyoderma)

Infektion alkuvaiheessa on havaittavissa pieniä, punoittavia papuloita eli näppylöitä, jotka voivat kehittyä pustuloiksi eli märkärakkuloiksi. Ajan kuluessa nämä ihomuutokset laajenevat ja niihin voi muodostua punoittava vyöhyke, ns. epidermaalikollarette. Muita mahdollisia ihomuutoksia voivat olla ruvet, runsas hilseily ja pyöreät, punoittavat ja/tai karvattomat ihoalueet (kirjassa Nuttall ym. 2009a). Erityisesti lyhytkarvaisilla roduilla voidaan havaita ”koinisyömiä”, läikittäisiä alopesia-alueita ympäri kehoa (kirjassa Nuttall ym. 2009a). Ihomuutosten koko vaihtelee 1–7 cm välillä ja niitä voi esiintyä joka puolella kehoa, tavallisimmat paikat ovat kuitenkin kainalot, vatsan alue ja hännänalus (kirjassa Nuttall ym. 2009a). Favrotin ym. (2010) tutkimuksessa todettiin sekundaarinen bakteeritulehdus 66 %:lla atooppista dermatiittia sairastavista koirista.

### 3.3.2 Sekundaarinen *Malassezia*-infektio

*Malassezia*-ylikasvuun liittyy koirilla lähes aina jokin altistava tekijä, atooppisen dermatiitin lisäksi muun muassa ruoka-aineallergia, keratinisaatiohäiriö tai pitkäaikainen kortikosteroidien käyttö (kirjassa Nuttall ym. 2009a). Hiivatulehdus voi pahentaa selvästi atooppisen koiran kokemaa kutinaa ja voimistaa ihon punoitusta. Ihomuutokset ovat epäspesifisiä kuten karvattomuutta, jäkälöitymistä, lisääntyntä talineritystä, naarmuja ja ihon tummumista (katsauksessa Negre ym. 2008, katsauksessa Hensel ym. 2015). Niihin voi liittyä hiivalle tyypillinen, eltaantunut haju (kirjassa Nuttall ym. 2009a). Tyypillisesti ihomuutoksia tavataan pään ja kaulan alueella (korvakäytävissä, silmien ja suun ympärillä) sekä ihopoimuissa (katsauksessa Negre ym. 2008). Favrotin ym. (2010) tutkimuksessa todettiin sekundaarinen hiivatulehdus 33 %:lla atooppista dermatiittia sairastavista koirista.

### 3.3.3 Sekundaarinen korvatulehdus

Noin neljän viidestä atooppisista koirista arvioidaan kärsivän kroonisista tai toistuvista korvatulehduksista ja noin viidesosalla korvatulehdus voi olla ainoa atooppisen dermatiittiin liittyvä oire (kirjassa Nuttall ym. 2009a). Korvatulehduksessa korvakäytävässä voi ilmetä punoitusta, turvotusta, haavaumia, ihohiertymiä ja eritteisyyttä (Nuttall & Bensignor 2014). Favrotin ym. (2010)

tutkimuksessa 50 %:lla atooppista dermatiittia sairastavista koirista todettiin samanaikainen otitis externa eli ulkokorvan tulehdus.

## 4 DIAGNOSTIIKKA

Atooppinen dermatiitti on kliininen diagnoosi, joka perustuu tyypillisen oirekuvan ja historian lisäksi suurelta osin muiden kutinaa aiheuttavien syiden poissulkemiseen (kirjassa Nuttall ym. 2009a, katsauksessa Olivry ym. 2010). Henselin ym. (2015) katsausartikkelissa annetaan ajantasaiset suositukset koirien atooppisen dermatiitin diagnostiikkaan.

### 4.1 Kliiniset kriteerit

Favrotin ym. (2010) tutkimuksessa esiteltiin ns. Favrotin kriteerit (kriteeristö 1 ja kriteeristö 2) atooppisen dermatiitin diagnosoinnin avuksi. Mikäli kriteeristö 1:ssä (katso taulukko 1 s. 20) viisi kahdeksasta kriteeristä täyttyy, voidaan 85 % sensitiivisyydellä ja 79 % spesifisyydellä erottaa atooppinen dermatiitti muista, kroonista tai toistuvaa kutinaa aiheuttavista syistä. Kriteeristö 2:ssa puolestaan saadaan 42 % sensitiivisyys ja 94 % spesifisyys, mikäli potilaalla todetaan kuusi seitsemästä kriteeristä. Kriteerit ovat hyvä apuväline, kun niitä hyödynnetään yhdessä differentiaalidiagnoosien pois sulkemisen kanssa (katsauksessa Olivry ym. 2010).

Aiemmin julkaistuja atooppisen dermatiitin kriteerejä ovat ns. Willemsen kriteerit (Willemsen ym. 1986) ja ns. Prelaudin kriteerit (Prelaud ym. 1998). Willemsen kriteerit sovellettiin suoraan ihmisen vastaavista kriteereistä, mutta niitä ei validoitu spesifisyyden tai sensitiivisyyden suhteen verrattuna mihinkään ns. golden standardiin eli parhaaseen, yleisesti saatavilla olevaan menetelmään. Prelaudin kolmen kriteerin täyttymiselle puolestaan on määritetty sensitiivisyydeksi 79 % ja spesifisyydeksi 81 % (katsauksessa Olivry ym. 2010).

Taulukko 1: Kriteerit koiran atooppisen dermatiitin diagnostiikkaan (muokattu katsauksesta Olivry ym. 2010 ja kirjasta Rosenkrantz ym. 2014).

Favrotin kriteeristö 1	Favrotin kriteeristö 2	Willemsen kriteerit	Prelaudin kriteerit
<ul style="list-style-type: none"> <li>Oireet alkavat alle kolmen vuoden iässä</li> <li>Elää lähinnä sisätiloissa</li> <li>Glukokortikoidihoidolla saatu vaste kutinaan</li> <li>Krooniset tai toistuvat hiivatulehdukset</li> <li>Oireita etujaloissa</li> <li>Oireita korvalehdissä</li> <li>Ei oireita korvan reunoissa</li> <li>Ei oireita ristiselän alueella</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Oireet alkavat alle kolmen vuoden iässä</li> <li>Elää lähinnä sisätiloissa</li> <li>Kutina ilman näkyviä ihomuutoksia</li> <li>Oireita etujaloissa</li> <li>Oireita korvalehdissä</li> <li>Ei oireita korvan reunoissa</li> <li>Ei oireita ristiselän alueella</li> </ul>	<p>Vähintään kolme seuraavista peruspiirteistä tulee täytyä:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Kutina</li> <li>Tyypillinen jakautuminen: muutoksia pään tai varpaiden alueella tai jäkälöitymistä tarsaalnivelen koukistajan pinnalla ja/tai karpaalivelen ojentajan pinnalla</li> <li>Krooninen tai uusiutuva ihotulehdus</li> <li>Yksilöllä tai suvulla atopiahistoriaa tai ns. tyyppirotu</li> </ul> <p>Vähintään kolme seuraavista vähäisemmistä piirteistä tulee täytyä:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Oireet alkavat alle kolmen vuoden iässä</li> <li>Pään punoitus ja huulitulehdus</li> <li>Molemminpuolinen sidekalvontulehdus</li> <li>Pinnallinen <i>Staphylococcus</i>-ihotulehdus</li> <li>Hyperhidroosi (liikahikoilu)</li> <li>Välitön ihotestireaktio inhalaatioallergeenille eli hengityselimistön kautta elimistöön kulkeutuneille allergeeneille</li> <li>Kohonnut allergeenispesifi IgG/IgE</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Oireiden alkua kuuden kuukauden– kolmen vuoden iässä</li> <li>Glukokortikoidihoidolla saatu vaste kutinaan</li> <li>Molemminpuolinen, etujalkojen varpaiden punoittava tassutulehdus</li> <li>Korvalehden sisäpinnan punoitus</li> <li>Huulitulehdus</li> </ul>

## 4.2 Erotusdiagnoosit

Tärkeimmät atooppisen dermatiitin erotusdiagnoosit ovat ektoparasiitti - eli ulkoloistartunnat (*Sarcoptes scabiei* eli syyhypunkki, *Cheyletiella* eli hilsepunkki, *Ctenocephalides canis* eli koiran kirppu, *Demodex canis* eli sikaripunkki, *Otodectes cynotis* eli korvapunkki, *Pneumonyssos caninum* eli nenäpunkki), infektiot (*Malassezia*-dermatiitti, *Staphylococcus*-pyoderma) tai muut allergiset ihosairaudet (ruoka-aineallergia, kontaktidermatiitti, kirppuallergiadermatiitti, hyönteisen pureman aiheuttama yliherkkyys). Harvinaisempia differentiaalidiagnooseja ovat mm. iholymfooma ja psykogeeninen dermatiitti. (kirjassa Nuttall ym. 2009a, katsauksessa Olivry ym. 2010, katsauksessa Hensel ym. 2015). Jotkut näistä, kuten *Malassezia*-dermatiitti tai *Staphylococcus*-pyoderma, voivat ilmetä samanaikaisesti atooppisen dermatiitin kanssa ja pahentaa atooppisen dermatiitin oireita (kirjassa Nuttall ym. 2009a, Favrot ym. 2010, katsauksessa Olivry ym. 2010). Kuten aiemmin todettiin, osalla atooppista dermatiittia sairastavista koirista ruoka-allergeenit voivat toimia oireiden aiheuttajana (ns. "ruoan indusoima atooppinen dermatiitti) tai pahentajana ("atopic dermatitis partially triggered by food") (katsauksessa Pucheu-Haston ym. 2015).

### 4.2.1 Ektoparasiittitartuntojen poissulku

Mahdolliset ulkoloistartunnat iho-oireiden taustalla tulisi pyrkiä sulkemaan pois ottamalla kattavasti mm. teippi-, raape- ja karvanäytteitä (katsauksessa Hensel ym. 2015). Syyhypunkin (*Sarcoptes scabiei*) (katsauksessa Curtis 2004) ja hilsepunkin (*Cheyletiella*) (Paradis & Villeneuve 1988) osalta näytetulokset voivat monesti olla virhenegatiivisia, joten näiden parasiittien osalta tulisi suorittaa hoitokokeilu (kirjassa Nuttall ym. 2009a, katsauksessa Hensel ym. 2015). Kirppujen suhteen endeemisillä alueilla varsinaisten kirpputartuntojen lisäksi myös kirppun pureman aiheuttama allerginen dermatiitti on tärkeä atooppisen dermatiitin differentiaalidiagnosi. Lisäksi tulee muistaa, että sekä varsinaiset kirpputartunnat että kirppuallergiadermatiitti voivat aiheuttaa akuutteja leimahduksia ("flare ups") eli aiheuttaa äkillistä atooppisen dermatiitin oireiden pahenemista. Allergiaa aiheuttavat kirppumäärät voivat olla niin pieniä, etteivät ne tule esille näytteenotossa. Tästä johtuen hoitokokeilu on myös kirppuallergiadermatiittia epäiltäessä suositeltavaa (katsauksessa Hensel ym. 2015). Viitteitä kirppuallergiadermatiitistä voi saada ihomuutosten tyypillisestä jakautumisesta ristiselän alueelle, hännän tyveen ja reisien sisäpinnalle. Akuutissa

vaiheessa ihomuutokset ovat makuloita eli läikkiä, papuloita eli näppylöitä tai ns. hot spotteja eli pinnallisia, kosteita ihotulehdusmuutoksia. Tilan kroonistuessa ihomuutoksiin kuuluvat alopesia eli karvattomuus, likenifikaatio- eli jäkälöitymismuutokset ja ihon tummuminen (Bruet ym. 2012).

#### 4.2.2 Sekundaaristen infektioiden poissulku

Sekundaariset *Staphylococcus pseudintermedius* -bakteerin aiheuttamat tulehdukset tulisi poissulkea sytologisin näyttein, jotka värjätään Diff-Quik -värjäysmenetelmällä (katsauksessa Mendelsohn ym. 2006). Parhaita näytteenottoaikoja ovat neulalla pistetyt pustulat eli märkärakkulat niistä saadun suuren bakteerimäärän vuoksi (katsauksessa Hensel ym. 2015). Tietyissä tapauksissa, kuten potilailla, joilla on taustalla aiempia antibioottikuureja tai joiden edellinen antibioottikuuri ei ole tehonnut, tulee lisäksi suorittaa bakteeriviljely ja herkkyysmääritys (Okunaka ym. 2013).

Sekundaarisessa *Malassezia pachydermatitis* -infektiossa diagnoosi perustuu tyypillisten oireiden lisäksi sytologisiin näytteisiin oireilevilta ihoalueilta (katsauksessa Mendelsohn ym. 2006). Joillakin koirilla esiintyy kuitenkin *Malassezia*-yliherkkyyttä, jolloin vain pienet määrät hiivasoluja riittävät aiheuttamaan kliiniset oireet (katsauksessa Negre ym. 2008). Tämän vuoksi tyypillisesti oireileville koirille, joilla sytologinen näytetulos on negatiivinen tai hiivamäärät pieniä, tulisi joka tapauksessa suorittaa hoitokokeilu (katsauksessa Hensel ym. 2015). Sytologisten näytteiden lisäksi on mahdollista suorittaa myös viljely, joka ainakin Bensignorin ym. (2002) tutkimuksessa on todettu sytologisia näytteitä sensitiivisemmäksi tutkimusmenetelmäksi.

#### 4.2.3 Eliminaatiodieetti ja altistus

Ruokayliherkkyys voi oireilla kliinisesti atooppisena ihottuma ja toimia atooppisen ihottuman leimahduksia aiheuttavana tekijänä (katsauksessa Pucheu-Haston ym. 2015). Mikäli oireilu on ympärivuotista tai siihen liittyy myös ruoansulatuskanavan oireita, on aiheellista suorittaa eliminaatiodieetti ruokayliherkkyyden osallisuuden selvittämiseksi (kirjassa Nuttall ym. 2009a, katsauksessa Hensel ym. 2015). Yleisimpiä ruoka-aineallergeeneja ovat koiralla naudanliha, maitotuotteet, vehnä sekä kana. Harvinaisempia ovat muun muassa soija, sianliha ja kala (Roudebush 2013). Eliminaatiodieetin peruserätyksenä on rajoittaa ensin proteiinien ja

hiilihydraattien saanti yhteen, koiran elimistölle ennestään tuntemattomaan lähteeseen. Tämän jälkeen oireiden helpottuessa ruokavalioon lisätään yksitellen koiran ruokavaliossa aiemmin olleita proteiinin ja hiilihydraattien lähteitä ja seurataan, aiheuttavatko ne oireiden palaamista (=altistus- eli provokaatiovaihe). Vaihtoehtoisesti voidaan palata kerralla täysin koiran aikaisempaan ruokavalioon ja seurata kahden viikon ajan mahdollisten oireiden palaamista (katsauksessa Hensel ym. 2015). Ruokavaliona voidaan käyttää eliminaatiovaiheessa kotiruokaa, kaupallista hypoallergeenista ruokaa, jossa proteiinien ja hiilihydraattien lähteitä on rajoitettu ja siten vähennetty allergisten reaktioiden mahdollisuutta tai hydrolysoitua ruokaa, jossa proteiinin lähteet on entsyymaattisesti pilkottu eli hydrolysoitu polypeptideiksi eli monesta aminohaposta koostuvaksi ketjuksi (Loeffler ym. 2006). Eliminaatiodieetin kestoksi suositellaan vähintään kahdeksaa viikkoa (katsauksessa Hensel ym. 2015, katsauksessa Olivry ym. 2015 a, b). Olivryn ym. (2015b) katsausartikkelissa todettiin, että kahdeksan viikon eliminaatiodieetillä aikaansaadaan paras sensitiivisyys eri aikajaksoja vertailtaessa. Tässä ajassa 90 %:n eliminaatiodieettiin vastaavista koirista tulisi saavuttaa täydellinen remissio eli oireiden häviäminen. On huomattava, että useat markettiruokat mutta myös osa erityisesti eliminaatiodieettiin kehitellyistä ruoista voivat sisältää kontaminaationa myös muita kuin pakkausselosteessa mainittuja proteiini- ja hiilihydraattilähteitä (Ricci ym. 2013). Lisäksi 11 eri tutkimusta analysoineessa Olivryn & Bizikovan (2010) katsausartikkelissa havaittiin, että osittaisesta hydrolysointikäsitteystä huolimatta 20–50 % hydrolysoitua koiranruokaa saavista koirista voi reagoida proteiinille, jolle ne ovat aiemmin herkistyneet. Koirien ja kissojen hydrolysoituja kuivaruoikia käsittelevässä Caven (2006) katsausartikkelissa puolestaan todetaan johtopäätöksenä, että hydrolysointikäsitteily voi olla ideaalinen ravitsemuksen ja sulavuuden kannalta. Se ei kuitenkaan välttämättä ole riittävä takaamaan partikkelien riittävän pientä kokoa ja siten täyttä allergeenivapautta valmisteissa. Näistä syistä johtuen suositellaan vielä kotiruokakokeilua, jos eliminaatiodieetti kaupallisella ruokavalmisteella ei tuota haluttuja tuloksia. Kotiruokakokeilu ei kuitenkaan sovellu kasvaville eikä koirille, joilla on ravitsemukseen liittyviä erityisvaatimuksia. Sitä ei myöskään voida käyttää sellaisenaan pitkäaikaisruokintaan (katsauksessa Hensel ym. 2015).

#### **4.3 Intradermaalinen ja serologinen allergiatesti**

Atooppisen dermatiitin diagnoosin ei tulisi perustua allergiatesteihin. Sekä intradermaalisessa että serologisessa allergiatestissä voidaan todeta joidenkin allergeenien osalta positiivisia reaktioita

täysin terveillä koirilla (Ginel ym. 1998, Halliwell ym. 1998.) Noin 10-30 %: lta kliinisen kuvan perusteella atooppiseksi dermatiitiksi luokitelluilta koirilta on todettu puuttuvan positiivinen reaktio intradermaalisessa allergeitesteissä (Hensel ym. 2012). Allergeitesteit ovatkin lähinnä apuväline diagnoosin varmistumisen jälkeen, kun halutaan saada tietoa mahdollisista oireita aiheuttavista, merkittävistä ympäristöallergeeneista atooppisen dermatiitin taustalla. Tulosten avulla voidaan joko yrittää välttää tiettyjä allergeeneja tai niitä voidaan käyttää siedätys hoidon perustana (kirjassa Rosenkrantz ym. 2014, katsauksessa Hensel ym. 2015). Siedätys hoidon aloitus on perusteltua, mikäli oireilu on voimakasta, kestää yli kolme kuukautta vuodesta tai jos oireen mukaisella hoidolla ei saavuteta riittäviä tuloksia (katsauksessa Hensel ym. 2015).

Intradermaalinen allergeitesti (in vivo -testi) on pisimpään käytössä ollut allergeitesti ja sitä pidetään ns. golden standardina eli parhaana, yleisesti saatavilla olevana testinä, johon muita testejä verrataan. Siinä pieniä määriä tiettyä allergeeniliuosta injektoidaan suoraan koiran dermikseen eli verinahkaan. Positiivinen reaktio havaitaan turvotuksena injektio kohdassa ja tulokset arvioidaan useimmiten subjektiivisesti (kirjassa Rosenkrantz ym. 2014, katsauksessa Hensel ym. 2015).

Serologinen allergeitesti (in vitro -testi) on nykyään yleisemmin käytössä ihotestiin verrattuna. Testi perustuu allergeenispesifisten IgE-vasta-aineiden havaitsemiseen verinäytteessä (katsauksessa DeBoer & Hillier 2001). Peruseriaatteena potilaan seerumin annetaan ensin reagoida valitun allergeenin kanssa, jonka jälkeen reagoimattomat IgE-vasta-aineet poistetaan. Allergeeniin sitoutunut IgE puolestaan saadaan havaittua sille spesifin reagenssin avulla, johon on liitetty esimerkiksi entsyymi tai radioisotooppi. IgE-spesifin reagenssin määrä ja sitä kautta allergeenille spesifin IgE:n määrä saadaan määritettyä kolorimetrisellä, fluorometrisellä tai radiometrisellä menetelmällä (katsauksessa DeBoer&Hillier 2001). Menetelmiä serologisessa allergeitesteissä on käytössä useita, mm. ELISA- ja RAST-testi (katsauksessa DeBoer&Hillier 2001, kirjassa Rosenkrantz ym. 2014).

Serologisen allergeitestin luotettavuutta verrattuna golden standardiin eli intradermaaliseen allergeitestiin on arvioitu useissa eri tutkimuksissa. Useita luotettavia tutkimuksia samasta menetelmästä ei kuitenkaan ole juurikaan saatavilla (Mueller ym. 1999, Gerlach ym. 2005, Tarpataki ym. 2008, Plant ym. 2014). Muelllerin ym. (1999) tutkimuksessa vertailtiin 84 atooppista dermatiittia sairastavan koiran testituloksia intradermaalisessa ja serologisessa (ELISA) allergeitesteissä. Lisäksi



määritettiin intradermaalista allergiatestiä standardina käyttäen serologisen allergiatestin sensitiivisyys ja spesifisyys sekä yleisesti että yksittäisille allergeeniryhmille. Yleiseksi sensitiivisyydeksi ja spesifisyydeksi saatiin 90,4 % ja 91,6 %. Tulosten perusteella kyseisessä tutkimuksessa arvioitiin ELISA-menetelmällä tehdyn serologisen allergiatestin olevan luotettava osa diagnostiikkaa. Gerlachin ym. (2005) tutkimuksessa taas kahden eri serologisen testin (monoklonaalisilla eli identtisillä vasta-aineilla; IVAT-M ja polyklonaalisilla eli eri B-solulinjoista saaduilla vasta-aineilla; IVAT-P) sensitiivisyys ja spesifisyys todettiin melko alhaisiksi. IVAT-M-testillä sensitiivisyydeksi saatiin 41,7 % ja spesifisyydeksi 72,2 % pölypunkkiallergeenien osalta, muilla testatuilla allergeeneilla arvot olivat vielä huomattavasti alhaisemmat. IVAT-P-testin osalta taas sensitiivisyydeksi saatiin 77,7 % ja spesifisyydeksi 45,5 % pölypunkkien osalta. Plantin ym. (2014) tutkimuksessa vertailtiin neljää USA:ssa tarjolla olevaa kaupallista serologista testimenetelmää (ACTT, VARL Liquid Gold, Allercept ja Greer Aller-g-complete). Tutkimuksessa havaittiin, että serologisten testien tulosten yhteneväisyys oli vain hieman sattumaa parempi. Jo testin valinnalla voidaan siis ratkaisevasti vaikuttaa siihen, saadaanko allergiatestissä positiivisia reaktioita.

## 5 HOITO

### 5.1 Yleistä koiran atooppisen dermatiitin hoidosta

Koska atooppinen dermatiitti on monitekijäinen sairaus, hoidon tulee olla laaja-alaista, joustavaa ja yksilölliset erot huomioon ottavaa. Atooppisen dermatiitin hoito on lähes aina elinikäistä (kirjassa Rosenkrantz ym. 2014, katsauksessa Olivry ym. 2015a). Atooppisen dermatiitin hoito voidaan pääpiirteissään jakaa käsittämään akuuttien leimahdusten eli äkillisesti pahentuneiden ihottuma- ja kutinaoireiden hoitoa sekä kroonisen sairauden pitkäaikaishoitoa (katsauksessa Olivry ym. 2015a). Tekijöitä, jotka voivat akuutisti pahentaa atooppisen dermatiitin oireiden voimakkuutta (ns. flare factors), ovat muun muassa kirpun puremat endeemisillä alueilla, ruoka-tai ympäristöallergeenit sekä sekundaariset iho-tai korvatulehdukset (katsauksessa Olivry ym. 2015a). Akuuttien leimahdusten hoitoon kuuluu olennaisena osana leimahduksia aiheuttavien tekijöiden tunnistaminen ja asianmukainen hoito (katsauksessa Olivry ym. 2015a). Lisäksi on tärkeää lisätä hygieniaa käyttämällä mietoja shampoopesuja (Löflath ym. 2007, Besignor ym. 2013). Kutinan ja allergisten tulehdusoireiden lievittämiseen käytetään nopeavaikuttaisia anti-inflammatorisia lääkityksiä, kuten paikallisia (DeBoer ym. 2002, Nuttall ym. 2009, Nam ym. 2012) ja/tai systeemisiä

kortisonivalmisteita (Plevnik ym. 2009, Tazskun 2010, Kovalik ym. 2011, Gadeyne ym. 2014) tai oklasitinibia (Cosgrove ym. 2013, Gadeyne ym. 2014). Kroonisen sairauden pitkäaikaishoidossa tärkeää on tunnistaa ja mahdollisuuksien mukaan välttää oireilua pahentavia tekijöitä (katsauksessa Olivry ym. 2015a). Niillä, joilla todetaan IgE-välitteisiä allergioita ympäristöallergeeneille, voidaan käyttää allergeenispesifistä immunoterapiaa eli siedätyshoitoa (Schnabl ym. 2006). Lisäksi säännölliset shampoopesut turkin ja ihon hygienian parantamiseksi ovat todennäköisesti hyödyksi (katsauksessa Olivry ym. 2015a). Kutinan ja allergisten tulehdusoireiden lievittämiseen voidaan käyttää nopeavaikutteisten anti-inflammatoristen lääkitysten lisäksi hidaskaikutteisempia vaihtoehtoja, kuten siklosporiinia (Olivry ym. 2002a, Olivry ym. 2002b, Iwasaki ym. 2002, Burton ym. 2004, Steffan ym. 2004), takrolimuusia (Marsella ym. 2004) ja antihistamiineja (Eichenseer ym. 2013). Pitkäaikaishoitoon kuuluu myös ihon läpäisyesteen tukeminen (katsauksessa Olivry ym. 2015a). Seuraavissa kappaleissa keskitytään käsittelemään ihon läpäisyesteen kannalta olennaisimpia atooppisen ihottuman hoitomuotoja.

## **5.2 Ihon läpäisyesteen tukemiseen tähtäävät hoidot**

Ihon läpäisyesteen vahvistamiseen tähtäävistä hoitomuodoista on saatavilla vain rajoitetusti ja riittämättömästi tietoa (katsauksessa Marsella 2013, katsauksessa Olivry ym. 2015a, katsauksessa Santoro ym. 2015). Ihon luonnollisen läpäisyesteen tukemisesta voi kuitenkin olla hyötyä atooppisen dermatiitin oireiden lievittämisessä (katsauksessa Marsella 2013). Santoron ym. (2015) laajassa katsausartikkelissa, joka käsittelee ihon läpäisyesteen merkitystä koiran atooppisen dermatiitin patogeenisissä, todetaan monien atooppista dermatiittia sairastavien koirien todennäköisesti hyötyvän ihon läpäisyestettä tukevista hoidoista. Koska laajaa tutkimusnäyttöä laadukkaista kliinistä tutkimuksista ei kuitenkaan tähän mennessä ole saatavilla, suosituksia yksittäisistä hoitovaihtoehdoista ei voida tällä hetkellä antaa.

Seuraavissa kappaleissa esiteltyjen hoitovaihtoehtojen tehokkuuden arviointiin käytetään visual analog eli VAS-menetelmää (Hill ym. 2007) ja/tai jotakin versiota canine atopic dermatitis and severity index eli CADESI-menetelmästä (CADESI-2; Olivry ym. 2002a, CADESI-3; Olivry ym. 2007, CADESI-4 Olivry ym. 2014). VAS- menetelmässä omistajat arvioivat koiran kokemaa kutinaa kymmenportaisen asteikon ja sanallisten selitysten avulla (Hill ym. 2007). CADESI-menetelmässä tutkija luokittelee erilaisia ihomuutoksia tietyllä asteikolla usealta eri ihoalueelta (Olivry ym. 2002a,

Olivry ym. 2007, Olivry ym. 2014). Esimerkiksi CADESI-3-menetelmässä, joka on tähänastisista versioista laajin, neljää erilaista ihomuutosta (punoitus, likenifikaatio eli jäkälöityminen, hiertymä, itse aiheutettu alopesia eli karvattomuus) arvioidaan viisiportaisella asteikolla 62:ssa eri kehonosassa (Olivry ym. 2007). Muutamissa tutkimuksissa arviointiin on käytetty myös TEWL-mittauksia (Marsh ym. 2000. Marsella ym. 2013).

### 5.2.1 Shampooterapia

Tietyt shampoovalmisteet (Allermyl, Virbac & Douxo Calm, Sogeval) voivat lyhyessä ajassa helpottaa koiran kokemaa kutinaa ja lieventää ihomuutoksia (Löflath ym. 2007, Bensignor ym. 2013). Löflathin ym. (2007) tutkimuksessa, joka oli satunnaistettu, plasebo-kontrolloitu ja kaksoissokkoutettu, tutkittiin viikoittaisen shampoopesun vaikutusta kutisevien koirien VAS- ja CADESI-3-arvoihin. Kutinasta kärsivillä koirilla oli diagnosoitu joko allergista tai idiopaattista kutinaa sulkemalla pois muut kutinaa aiheuttavat syyt, kuten ulkoloiset tai bakteeritulehdukset. Tutkittava shampoo sisälsi lipidejä, sokeriyhdisteitä ja antiseptisiä aineita (Allermyl, Virbac). Shampooon annettiin vaikuttaa 10 min ajan ennen sen pois huuhtelua. Omistajat arvioivat koiran kokeman kutinan määrän VAS:n avulla 24 h kuluttua shampoopesusta. Tutkimuksessa todettiin, että shampoopesu kyseisellä shampooilla puolitti kutinan määrän 25% :lla tutkimukseen osallistuneista koirista. Jopa 90 % kutinasta lievittyi noin 6 %:lla tutkimukseen osallistuneista koirista. Bensignorin ym. (2013) tutkimuksessa taas todettiin Allermyl-shampooon lisäksi myös fytofungosiiniä, vadelmaöljyä ja lipidejä sisältävän shampooon (Douxo Calm, Sogeval) lievittävän tilastollisesti merkitsevästi sekä kutinaoireita (VAS) että ihomuutoksia (CADESI-3) allergisilla koirilla. Kyseessä oli 80 allergista koiraä käsittävä, satunnaistettu, vertaileva, kontrolloitu ja sokkoutettu tutkimus.

Kroonisessa atooppisessa dermatiitissa viikoittaiset pesut miedolla, ihoa ärsyttämättömällä shampooilla ovat todennäköisesti hyödyksi (katsauksessa Olivry ym. 2010). Shampoopesut voivat rauhoittaa ihoa, poistaa ihon pinnalta ja turkista allergeeneja ja mikrobeja, rajoittaa mikrobien kolonisaatiota iholla sekä lisätä ihon kosteutta (katsauksessa Olivry ym. 2010, kirjassa Rosenkrantz ym. 2014). Minkään yksittäisen shampooon ei ole todettu olevan toisia parempi (katsauksessa Olivry ym. 2010, kirjassa Rosenkrantz ym. 2014). Lisäksi tulee muistaa, että suurin hyöty saattaa yksinkertaisesti tulla mekaanisesta, säännöllisesti tapahtuvasta pesusta (kirjassa Rosenkrantz ym. 2014, katsauksessa Olivry ym. 2015a). Shampoo tulee aina valita potilaskohtaisesti ihon kunnon

mukaan. Esimerkiksi hilseilevälle ja rasvaiselle iholle tulisi valita talin erityistä hillitsevä shampoo. Säännöllinen pesu erityisesti talin erityistä hillitsevällä tai antiseptisellä shampooilla voi kuitenkin kuivattaa ja ärsyttää ihoa, jolloin tulee mahdollisesti vaihtaa shampoo ihoa vähemmän ärsyttävään vaihtoehtoon. Myös erilaiset hoitoaineet ja kosteusvoiteet voivat mahdollisesti lieventää shampoopesun jälkeistä ihon kuivuutta (katsauksessa Olivry ym. 2010).

### 5.2.2 Suun kautta annettavat rasvahappolisät

Välttämättömät rasvahapot voivat vaikuttaa atooppisen dermatiitin taustalla oleviin mekanismeihin monin eri tavoin. Toisaalta ne voivat hillitä allergista tulehdusreaktiota vaikuttamalla prostaglandiinien ja leukotrieenien tuotantoon ja inhiboimalla eli estämällä tulehdussolujen aktivaatiota ja sytokiinituotantoa. Toisaalta taas niillä saattaa olla vaikutusta ihon läpäisyesteen koostumukseen ja toimintaan esimerkiksi stratum corneumin lisääntyneen lipidimäärän kautta (katsauksessa Olivry ym. 2001, Popa ym. 2011b). Tällä hetkellä ei ole riittävästi tutkimustietoa, jonka perusteella voitaisiin antaa suosituksia siitä, minkälainen rasvahappokoostumus, annostelu, omega-3- ja omega-6-suhde tai antomuoto olisi tehokkain koirien atooppisessa dermatiitin hoidossa (Glos ym. 2000, Marsh ym. 2000, Saevik ym. 2004, Popa ym. 2011b). Kirjallisuudessa on kuitenkin annettu kokemuksiin pohjautuvia suosituksia välttämättömien rasvahappolisien annoksille, mm. vähintään 25 mg/kg vuorokaudessa (kirjassa Rosenkrantz ym. 2014). Yleisesti ottaen erityisruoat, joihin on lisätty rasvahappoja, tarjoavat suuremman annoksen välttämättömiä rasvahappoja kuin rasvahappojen anto lisäravinteena (katsauksessa Olivry ym. 2010). Välttämättömien rasvahappojen mahdollinen oireita ja ihon kuntoa parantava vaikutus on rajallinen eikä yksinään riittävä hoidossa. Lisäksi rasvahappolisien hyödyt tulevat esille vasta noin kahden kuukauden kuluessa, joten niistä onkin lähinnä hyötyä atooppisen dermatiitin pitkäaikaishoidossa (Glos ym. 2000, Saevik ym. 2004).

Marshin ym. (2000) tutkimuksessa, johon osallistui 32 tervettä labradorinnoutajaa, todettiin rasvahappo- ja sinkkilisän lisäävän tilastollisesti merkitsevästi turkin kiiltävyyttä. Lisäksi tässä tutkimuksessa todettiin rasvahappolisän, sinkkilisän tai näiden yhdistelmän laskevan TEWL-arvoja tilastollisesti merkitsevästi. Ensimmäiset yhdeksän viikkoa tutkimuksesta kaikki koirat saivat samaa koirien kuivaruokaa, jonka jälkeen seuraavien yhdeksän viikon ajan osa koirista sai edelleen pelkkää kuivaruokaa tai vaihtoehtoisesti kuivaruoan lisänä välttämättömiä rasvahappoja ja/tai sinkkiä. Turkin kunto arvioitiin silmämääräisesti asteikkoarviointina (kiilto, pehmeys, ”optimaalinen turkin tuntu”,

hilseily) ja iholle suoritettiin TEWL-mittaukset molempien testijaksojen jälkeen.

Glosin ym. (2000) tutkimuksessa, joka oli satunnaistettu ja kaksoissokkoutettu, tutkittiin rasvahappolisien sijaan kolmen eri atooppiseen dermatiittiin suunnatun, rasvahappoja sisältävän kuivaruoan ja ns. ”normaalin” kuivaruoan vaikutusta ihon kuntoon ja kutinaan. Tutkimukseen osallistuneilla koirilla (43 kpl) oli diagnosoitu atooppinen dermatiitti ns. Willemsen kriteerien avulla ja sulkemalla pois mahdolliset differentiaalidiagnoosit. Suurimmalla osalla koirista (42/43) oli myös poissuljettu ruokayliherkkyyden mahdollisuus eliminaatiodieetin avulla. Koirat olivat valitulla dieetillään yhteensä 8 viikon ajan, jonka aikana ihon kuntoa arvioitiin kahdesti eläinlääkärin (CADESI-3) ja omistajan (VAS) toimesta. Sekä CADESI-3- että kutina- arvot paranivat tilastollisesti merkitsevästi atooppiseen dermatiittiin suunnatulla, kalaa, perunaa ja lisättyjä rasvahappoja sisältävällä dieetillä. Myös toisella atooppisen dermatiitin erityisruoalla (kalaa, hydrolysoitua kanaa, riisiä, rasvahappoja) havaittiin kutina-arvoissa tilastollisesti merkitsevä muutos parempaan. Toisaalta myös ”normaalia” kuivaruoakaa syöneillä koirilla havaittiin tilastollisesti merkitsevä CADESI-3-arvon pieneneminen. Vastaavia tuloksia saatiin myös Bensignorin ym. (2008) tutkimuksessa, jossa rasvahappoja sisältävän, kala- ja perunapohjaisen kuivaruoakavalmisteen (Eukanuba Veterinary Diets Dermatitis FP) todettiin parantavan sekä ihon kuntoa (CADESI-2) että lievittävän kutinaa (VAS). Positiivinen vaikutus oli kuitenkin vain rajoitettu, sillä CADESI-2-arvot eivät parantuneet yhdelläkään tutkituista koirista yli 50 %: a ja kutina lievittyi yli 50 %:a vain pienellä osalla (2/16). Tutkimuksessa todettiin johtopäätöksenä, että kyseisellä ruokavalmisteella on osoitettavissa vaikutus atooppisen dermatiitin hoidossa, mutta se ei tarjoa yksinään riittävän tyydyttävää hoitovastetta.

Kuten aiemmin todettiin, rasvahappopitoiset erityisruoat tarjoavat todennäköisesti suuremman annoksen välttämättömiä rasvahappoja kuin rasvahappojen anto lisäravinteena, joten myös niiden välittämät positiiviset vaikutukset kutinaan ja muihin klinisiin oireisiin ovat luultavasti selkeämmin havaittavimpia (katsauksessa Olivry ym. 2010). Toisaalta myös aiemmin mainitussa Marshin ym. (2000) tutkimuksessa pelkkä rasvahappolisän anto vaikutti positiivisesti TEWL-arvoihin. Tulee kuitenkin huomioida, että kaikki tutkimukseen osallistuneet koirat olivat terveitä. Saevikin ym. (2004) tutkimuksessa, joka oli satunnaistettu, plasebokontrolloitu ja kaksoissokkoutettu, selvitettiin välttämättömien rasvahappojen lisän vaikutusta tarvittavaan, oireet kurissa pitävään glukokortikoidiannostukseen (prednisoloni), kutina-arvoihin (VAS) ja primaarisiin sekä sekundaarisiin ihomuutoksiin (sama tutkija, asteikko 0-4). Kaikki koirat saivat 12 viikon

tutkimusjakson aikana samaa kuivaruokaa, jonka lisänä osa koirista sai purasruohon siemenöljyn ja kalaöljyn seosta ja osa taas plasebo-valmistetta. Omistajat arvioivat tutkimuksen aikana kutina-arvot päivittäin ja tutkija arvioi lisäksi koirat puolivälissä koetta ja kokeen lopussa. Sekä kutina-arvoissa että tutkijan arvioinneissa havaittiin tilastollisesti merkitsevä vähentymä 12 viikon tutkimusjakson loppuun mennessä. Lisäksi tarvittavan prednisolonin määrä väheni rasvahappolisää käyttävillä koirilla, mutta ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Ainakin tässä tutkimuksessa havaittiin rasvahappolisällä olevan positiivinen vaikutus normaalikuntoisen ihon (Marsh ym. 2000) lisäksi myös atooppista dermatiittia sairastavilla koirilla.

Lisää todisteita rasvahappolisän positiivista vaikutuksista saatiin Popan ym. (2011b) pilottitutkimuksessa, jossa keskityttiin kliinisten oireiden sijaan rasvahappolisän vaikutuksiin stratum corneumin eli sarveiskerroksen lipidirakenteessa. Atooppista dermatiittia sairastavat koirat saivat kahdeksan viikon tutkimusjakson aikana päivittäin suun kautta annettavaa rasvahappolisää (Virbac Megaderm). Atoopikkokoirilta ja niiden terveiltä kontrolleilta kerättiin stratum corneumin teippinäytteet ja ihobiopsianäytteet kliinisesti terveiltä ihoalueilta sekä tutkimuksen alkaessa että viikon mittaisen rasvahappokuurin jälkeen. Tuloksissa havaittiin, että ennen rasvahappokuuria atooppista dermatiittia sairastavien koirien lipidilamellit olivat epäjärjestäytyneitä ja lipidien kokonaismäärä oli tilastollisesti merkitsevästi alhaisempi verrattuna kontrolleihin. Rasvahappokuurin jälkeen havaittiin kuitenkin tilastollisesti merkitsevä lipidien kokonaismäärän nousu. Myös lipidilamellien havaittiin olevan järjestäytyneempiä ja vastaavan terveiden koirien tilannetta. Kyseinen tutkimus oli pieni, mutta siinä havaittiin selkeästi rasvahappolisän positiivinen vaikutus ihon lipidirakenteeseen.

### 5.2.3 Topikaaliset lipidivalmisteet

Topikaaliset lipidivalmisteet voivat olla hyödyksi osana koiran atooppisen dermatiitin hoitokokonaisuutta (Blascovic ym. 2014). Niitä tutkitaan tällä hetkellä laajasti ja tietämys aiheesta kasvaa jatkuvasti (kirjassa Rosenkrantz ym. 2014). Ajantasaisia hoitosuosituksia käsittelevässä Olivryn ym. (2015) katsausartikkelissa todetaan, että vaikka tutkimusnäyttö niiden tehosta onkin vaihtelevaa (Blascovic ym. 2014, Marsella ym. 2013), niitä voidaan käyttää liitännäishoitona muiden hoitomenetelmien ohessa. Lisähyöty on kuitenkin luultavasti vähäinen koirilla, jotka saavat jo suun kautta rasvahappolisää tai rasvahappopitoista kuivaruokaa.

Topikaalisen lipidivalmisteen positiivisia vaikutuksia ihon kuntoon havaittiin Blascovicin ym. (2014) tutkimuksessa, joka oli satunnaistettu, plasebo-kontrolloitu ja kaksoissokkoutettu. Tutkimuksessa selvitettiin iholle annosteltavan valedeliuoksen (Dermoscent Essential 6, Laboratoire de Dermo Cosmetique Animale) tehokkuutta kutinan ja ihomuutosten lieventämiseen koiran atooppisessa dermatiitissa. Valmiste sisälsi monityydyttymättömiä rasvahappoja, välttämättömiä öljyjä (mm. laventeliöljy, teepuuöljy) sekä E-vitamiinia. Valmistetta annosteltiin niskan alueelle kerran viikossa 8 viikon ajan. Koirien ihomuutokset tutkittiin eläinlääkärin toimesta (CADESI-3) ja kutinaa arvioitiin omistajien toimesta (VAS) sekä ennen tutkimusta että tutkimusjakson päätyttyä. Tutkimuksessa todettiin sekä CADESI-3- että kutina-arvojen parantuneen tilastollisesti merkitsevästi valedeliuosta saaneessa ryhmässä verrattuna plaseboryhmään. Koiria, joiden CADESI-3- ja kutina-arvot paranivat yli 50 %, oli lisäksi enemmän valedeliuosta saaneessa ryhmässä.

Tästä hieman poikkeavia tuloksia saatiin toisaalta Marsellan ym. (2013) tutkimuksessa, joka oli satunnaistettu, plasebo-kontrolloitu kaksoissokkotutkimus. Tutkimus käsitteli iholle annosteltavan sfingolipidivalmisteen (Allerderm spot on, Virbac) vaikutusta ihomuutoksiin (tutkija, CADESI-3), TEWL-arvoihin ja kutina-arvoihin (omistaja, VAS). Valmistetta annosteltiin kolmesti viikossa korvanlehtiin, kyynärpäihin, kyynärvarsiin ja ja nivusten alueelle yhteensä neljän viikon ajan eli laajemmin eri ihoalueille kuin aiemmin mainitussa tutkimuksessa, mutta toisaalta hoitajakso oli lyhyempi. Toinen ryhmistä sai plasebo-valmistetta samoihin kohtiin tutkimuksen ajan. Koirat arvioitiin CADESI-3- ja VAS- arvojen avulla ennen koetta, kokeen puolivälissä sekä kokeen loputtua. Myös tässä tutkimuksessa CADESI-3-arvot parantuivat tilastollisesti merkitsevästi valedeliuosta saaneessa ryhmässä. Kontrolliryhmässä keskiarvo sen sijaan huonontui. Sen sijaan Blascovicin ym. (2014) tutkimuksesta poiketen VAS- eli kutina-arvoissa ei havaittu tilastollisesti merkitsevää eroa ryhmien välillä. TEWL-arvoissa oli vaihtelua kahden eri mittajaan tulosten välillä. Toisen mittajaan tuloksissa ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja. Toisella taas hoitoa saaneiden ryhmässä sekä kyynärvarren että kyynärpään alueella oli havaittavissa tilastollisesti merkitsevä TEWL-arvojen vähentyminen sekä ajan suhteen että ryhmien välillä.

### **5.3 Voiko lääkityksillä vaikuttaa ihon läpäisyesteeseen?**

Kuten aiemmin todettiin, TEWL-mittauksien luotettavuutta koirien ihon läpäisyesteen arvioimiseen

ei ole voitu ainakaan vielä varmistaa ja tutkimuksia aiheesta on tehty vähän (Hightower ym. 2010, Cornegliani ym. 2011, Marsella 2012, Zajak ym. 2014). Tästä johtuen tutkimusnäyttöä eri lääkitysten vaikutuksista TEWL-arvoihin on saatavilla rajoitetusti. Esimerkkinä lääkityksen positiivisesta vaikutuksesta TEWL-arvoihin voidaan mainita Namin ym. (2012) tutkimus, jossa todettiin 0,0584 % hydrokortisoniaseponaatti- suihkeen (Cortavance®, Virbac) laskevan tilastollisesti merkitsevästi CADESI-3-arvoja, VAS-arvoja sekä TEWL-arvoja atooppista ihottumaa sairastavilla koirilla 14 vrk:n hoitajakson jälkeen. Mittaukset suoritettiin kortisonisuihkeella käsitellyiltä ihoalueilta suljetun kammion menetelmän laitteella (Vapometer).

## **B. Tutkimusosio**

### **6 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET**

Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää transepidermaalisen eli ihon läpi tapahtuvan veden haihtumisen mittaamisen ja CADESI-4- eli canine atopic dermatitis extent and severity index -arvojen (Olivry ym. 2014) välistä korrelaatiota atooppista dermatiittia sairastavilla koirilla. Hypoteesina tutkimuksessa oli heikko tai kohtalainen positiivinen korrelaatio arvojen välillä.

### **7 AINEISTO JA MENETELMÄT**

#### **7.1 Lähdepopulaatio ja tutkimuksen kulku**

Tutkimusaineisto on retrospektiivisesti kerätty DOGRISK-projektiin kuuluvasta staffordshirenbulteri-eriden kliinisestä ruokintatutkimuksesta. Lähdepopulaatio koostui yksityisesti omistetuista, yli vuoden ikäisistä staffordshirenbulteri-eristä (n=54). Ruokintatutkimuksessa selvitettiin raakaruokinnan vaikutuksia atooppisissa ja allergisissa ihosairauksissa. DOGRISK-ruokintatutkimuksessa koirat allokoitiin joko raakaruokaryhmään (MUSH Barf Vaisto®) tai kuivaruokaryhmään (Hill's Science Plan™ Canine Adult Sensitive Skin®). Ruokintatutkimuksen suunniteltu kesto oli minimissään neljä kuukautta. Lisätietoa projektista löytyy

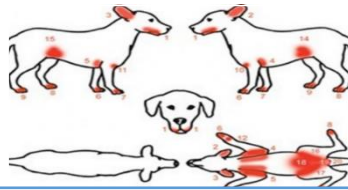


DOGRISK-sivuilta ([www.dogrisk.com](http://www.dogrisk.com)). Tutkimukseen osallistuneet koirat rekrytoitiin mm. edellisen DOGRISK-kyselyn, lehti-ilmoitusten ja sosiaalisen median välityksellä. Tutkimukset toteutettiin omistajien kirjallisella suostumuksella. Tutkimuksesta vetäytyminen oli mahdollista joka vaiheessa. Tutkimusprojekti on hyväksytty Eläinkoelautakunnassa (Dogrisk-projektin lupa ESAVI/3244/04.10.07/2013).

Ruokintatutkimukseen kuului kahdesta kolmeen käyntikertaa (ensikäynti, baseline eli lähtötilannekäynti ja loppukäynti), joiden aikana koirille suoritettiin kliininen yleistutkimus ja niiden verinäytteistä määritettiin täydellinen verenkuva, seerumin biokemia sekä tarvittaessa myös kilpirauhasarvot. Tutkimuskäyntien yhteydessä mahdolliset ulkoloistartunnat oli poissuljettu tarvittaessa raape- ja/tai karvanäytteiden avulla. Lisäksi koirat olivat saaneet ennen ruokintakoetta selamektiini-ulkoloishäädön (Stronghold<sup>®</sup>) kolme kertaa kahden viikon välein. Havaitut mikrobi-infektiot oli hoidettu asianmukaisesti baselinekäynnin yhteydessä, mutta ei enää loppukäynnillä. Lisäksi iho-oireisille koirille oli suoritettu eliminaatiodieetti, mikäli sitä ei ollut aiemmin tehty. Tarkoituksena oli paikallistaa ne atooppista dermatiittia sairastavat koirat, joilla atooppisen ihottuman taustasyynä oli ruokayliherkkyys ("ruoan indusoima atooppinen dermatiitti", "food induced atopic dermatitis"). Eliminaatiodieetin eliminaatiovaihe toteutettiin hydrolysoidulla Royal Canin Science Plan<sup>®</sup> Hypoallergenic -kuivaruoalla. Omistajat saivat kotona annetusta dieetistä kirjallisen ohjeistuksen. Eliminaatiovaihe oli kestoaltaan kuusi viikkoa, jota seurasi yhden viikon provokaatio- eli altistusvaihe. Omistajat arvioivat vasteen eliminaatiodieettiin ja altistukseen seuraamalla kutinan voimakkuutta VAS eli visual analog scale -menetelmän avulla (Hill ym. 2007).

Pitkäaikaislääkitystä muun muassa siklosporiinilla, glukokortikoideilla tai allergeenispesifisellä immunoterapialla sai jatkaa koko DOGRISK-tutkimuksen ajan. Lisälääkitykset olivat sallittuja, mutta glukokortikoideja oli ohjeistettu välttämään neljä viikkoa (systeminen) tai kaksi viikkoa (topikaalinen) ennen käyntejä. Vitamiinivalmisteita, öljyjä ja/tai rasvahappovalmisteita oli lupa käyttää tutkimusruoan ohella myös tutkimuksen ajan. Myös esim. koulutuksen yhteydessä annetut makupalat olivat sallittuja. DOGRISK-käyntien yhteydessä sama tutkija oli arvioinut koirien ihon kunnon käyttäen CADESI-4 eli canine atopic dermatitis extent and severity index -menetelmää (CADESI-4) (Olivry ym. 2014) (kuva 2 s. 34). Omistajat olivat arvioineet kutinan voimakkuutta käyntien yhteydessä ja kahden viikon välein tutkimuksen aikana validoitun VAS-menetelmän avulla (asteikko 1-10, sanalliset selitykset) (Hill ym. 2007) (kuva 3 s. 34). Ihon läpäisyesteen toimintaa

arvioitiin loppukäynnin yhteydessä tehtyjen TEWL- eli transepidermal water loss -mittausten avulla. Käyntien yhteydessä kerättiin myös muita näytteitä DOGRISK-tutkimustarkoituksiin.



**CADESI- eli canine atopic dermatitis extent and severity index-  
menetelmä (CADESI-4)**

20 eri kehonosaa

Kolme eri leesiota eli ihomuutosta: 1) punoitus, 2) likenifikaatio eli jäkälöityminen ja 3) alopesia eli karvattomuus & ihohiertymät

Neljäportainen asteikko: 0 (ei lainkaan)-3 (voimakas)

*Kuva 2: CADESI eli canine atopic dermatitis extent and severity index -menetelmän (CADESI-4) kuvaus koirien ihon kliinisen kunnan arviointiin (mukailtu Olivry ym. 2014).*

**Erittäin voimakas kutina/lähes jatkuva**

Kutina ei lopu, vaikka mitä tapahtuisi, ei edes eläinlääkärillä

**Voimakas kutina/pitkittyneitä kutinakohtauksia**

Kutinaa saattaa esiintyä lisäksi yöllä ja myös syömisen, leikkimisen, ulkoilun aikana tai kun huomio kiinnitetään muualle

**Kohtalainen kutina/säännölliset kutinakohtaukset**

Kutinaa voi esiintyä öisin, mutta ei syömisen, leikkimisen, ulkoilun aikana tai kun huomio kiinnitetään muualla

**Lievä kutina/ melko säännöllisesti**

Ei kutinaa nukkumisen, syömisen, leikkimisen tai ulkoilun aikana tai kun koiran huomiota kiinnitetään muualle

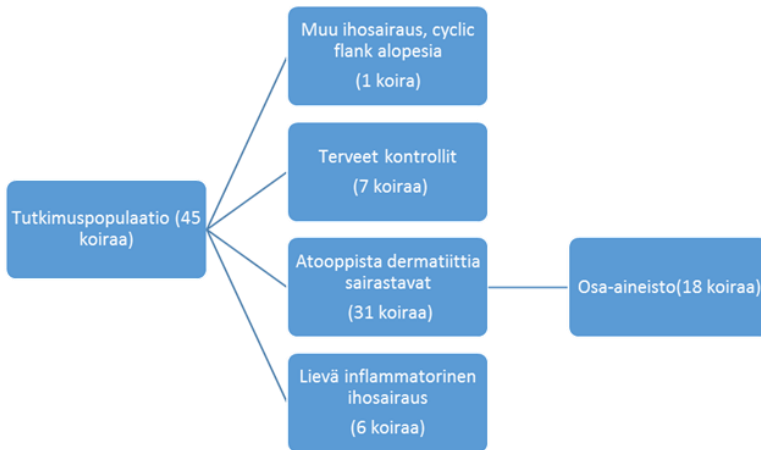
**Hyvin lievä kutina/hieman useammin**

Koira kutisee hieman enemmän kuin silloin, kun iho-ongelma alkoi

**Normaali koira-** en usko, että kutina on koiralle ongelma

*Kuva 3: VAS- eli visual analog scale- menetelmän kuvaus koiran kokemien kutinaoireiden arviointiin (mukailtu Hill ym. 2007).*

## 7.2 Tutkimuspopulaatio



Kuva 4: Staffordshirebulteri-eräiden atooppisen dermatiitin ihon kliinisen kunnon (CADESI-4-arvot) ja transepidermaalisen veden haihtumisen (TEWL-arvot) korrelaatiotutkimuksen tutkimuspopulaation ja alaryhmien kuvaus.

Tämän tutkimuksen tutkimuspopulaatioon (n=45) kerättiin DOGRISK-ruokintatutkimuksen aineistosta koirat, joille oli suoritettu TEWL-mittaus loppukäynnin yhteydessä. Koirat jaettiin retrospektiivisen diagnoosin perusteella alaryhmiin (kuva 4 s. 35). Atooppista dermatiittia sairastaviksi luokiteltiin koirat, jotka täyttivät vähintään viisi Favrotin kahdeksasta kriteeristä (Favrot ym. 2010). Atooppisen dermatiitin ryhmään kuului 31 koiraa. Lieviin inflammatorisiin eli tulehduksellisiin ihosairauksiin luokiteltiin koirat, jotka täyttivät alle viisi Favrotin kahdeksasta kriteeristä (Favrot ym. 2010), mutta joilla oli joko historiassaan tai DOGRISK-käyntien yhteydessä todettavissa lieviä inflammatorisia iho-oireita tai -sairauksia (mm. korvatulehduksia, furunkuloosia, punoitusta). Lieviä inflammatorisia ihosairauksia sairastavien ryhmään kuului kuusi koiraa. Terveiden kontrollien ryhmään (n=7) luokiteltiin koirat, joilla ei ollut historiassaan tai DOGRISK-käyntien yhteydessä havaittavissa ihosairausten oireita. Ns. pattern alopesia oli näillä poikkeus, koska se on rodulle tyypillinen, lähinnä kosmeettinen piirre.

Atooppista dermatiittia sairastavien joukosta poimittiin myös osa-aineisto, johon kuului 18 koiraa. Osa-aineistosta suljettiin pois koirat, joilla oli TEWL-mittauksiin vaikuttavia tekijöitä: koirat, joilla oli mittauksiin liittyviä epäselvyyksiä, mittauksiin mahdollisesti vaikuttavia lääkityksiä (topikaaliset glukokortikoidivalmisteet kaksi viikkoa, systeemiset glukokortikoidit/siklosporiinivalmisteet neljä viikkoa ennen mittauksia), muita ihosairauksia tai ruoan indusoima atooppinen ihottuma.

### 7.3 Ihon läpäisyesteen arviointi TEWL-mittausten avulla

Ihon läpäisyesteen toimintaa arvioitiin TEWL- eli transepidermal water loss -mittausten avulla. Saadut tulokset ilmaistiin  $\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$  -yksikkönä. Mittauksissa käytettiin suljetun kammion menetelmää hyödyntävää laitetta (Vapometer, Delfin Technologies Ltd, Kuopio, Suomi; kuva 5 s. 36). Mittaukset suoritettiin korvanlehden sisäpinnalta, inguinaalialueelta ja kyynärtaipeesta. Karvoja ei ajeltu mittausalueilta. TEWL-mittauksia suorittivat useat eri henkilöt. Mittaukset suoritettiin eläinsairaalassa kahdessa vierekkäisessä huoneessa. Näin ollen mittausolosuhteet pyrittiin pitämään mahdollisimman samanlaisina. Koirien annettiin olla huoneessa 30 minuutin ajan ennen mittausten suorittamista. Mittaukset toistettiin kolme kertaa ja analysointiin käytettiin näistä saatuja keskiarvoja. Mittauksista saatu aineisto käsiteltiin tietokoneen ja laitteen valmistajan tarjoaman ohjelmiston avulla.



Kuva 5: Vapometer- mittauslaite ([www.delfintech.com/en/product\\_information/vapometer/](http://www.delfintech.com/en/product_information/vapometer/)).

### 7.4 Tilastolliset menetelmät

Tilastolliset analyysit tehtiin SPSS-ohjelmalla (IBM® SPSS® Statistics version 24).

Kokonais-CADESI-4:n ja kokonais-TEWL:n sekä kokonais-CADESI-4:n ja eri mittauskohtien TEWL-arvojen väliset korrelaatiot tutkittiin Kendallin tau ja Spearmanin rho -testeillä atooppista dermatiittia sairastaville ja osa-aineistolle.  $P$ -arvo  $<0,05$  katsottiin tilastollisesti merkitseväksi. Monivertailun takia korrelaatioiden  $P$ -arvot korjattiin Bonferronikorjauksella kertomalla ne tehtyjen vertailujen määrällä (kirjassa McDonald 2014). Korrelaatiokertoimet tulkittiin seuraavasti: 0,00-0,30 olematon korrelaatio, 0,30-0,50 alhainen korrelaatio, 0,50-0,70 kohtalainen korrelaatio, 0,70-0,90 korkea korrelaatio ja 0,90-1,00 todella korkea korrelaatio (Mukaka 2012). TEWL-arvojen keskiarvoja

ja mediaaneja verrattiin eri diagnoosiryhmien välillä Kruskal-Wallis testillä;  $P$ -arvo  $<0,05$  katsottiin tilastollisesti merkitseväksi.

Koirien perustietoja (ikä, sukupuoli) tarkasteltiin lukumääräisesti ja prosentuaalisesti ryhmittäin (atoopikot, osa-aineisto, terveet kontrollit ja lievät inflammatoriset iho-oireet). Osuuksille laskettiin 95 %:n luottamusvälit käyttäen Epitools-laskuria (Sergeant 2017) Jeffreysin menetelmällä (Brown ym. 2001). Aineiston jakautuminen kuvattiin laatikko- ja -kuvioiden (box plot) ja piirakkamallien avulla.

## 8 TULOKSET

### 8.1 Tutkimuspopulaation kuvaaminen

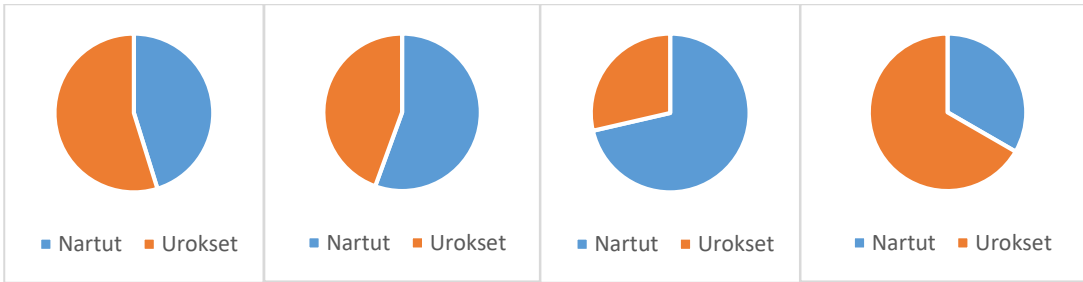
Atooppista dermatiittia sairastavien ryhmässä kaikille paitsi kahdelle oli suoritettu eliminaatiodieetti ennen DOGRISK-tutkimusruoan aloittamista. Kuusi koira oli osittain vastannut eliminaatiodieettiin (määritelmä: kutinan  $\geq 30$  % paraneminen eliminaatiovaiheen aikana ja oireilun palautuminen lähtötasolle tai lähelle lähtötasoa ilman, että lääkitysmuutokset eliminaation aikana selittäisivät näitä vaihteluita). Yksi koirista oli vastannut täydellisesti eliminaatiodieettiin. Osalla atooppista dermatiittia sairastavista koirista todettiin myös muita sairauksia (kolme koira). Yhdellä koirista todettiin baseliinikäynnin aikaan keuhkosairaus, jonka vuoksi koiralle aloitettiin systeeminen kortisonilääkitys. Toisella koirista todettiin loppukäynnin verinäytteissä kilpirauhasen vajaatoimintaan viittaavia muutoksia. Lisäksi yhdellä koiralla diagnosoitiin loppukäynnin yhteydessä paikallinen demodikoosimuutos.

Lievien inflammatoristen ihosairauksien ryhmässä yhteensä neljä koira oli tutkimuskäyntien aikaan oireettomia mutta kolmella näistä neljästä oli historiassaan yksittäisiä korvatulehduksia ja yhdellä furunkuloosi. Lopuilla kahdella taas ei ollut historiassaan iho-oireita mutta tutkimuskäyntien yhteydessä oli havaittavissa tassujen ja/tai suupielten punoitusta.

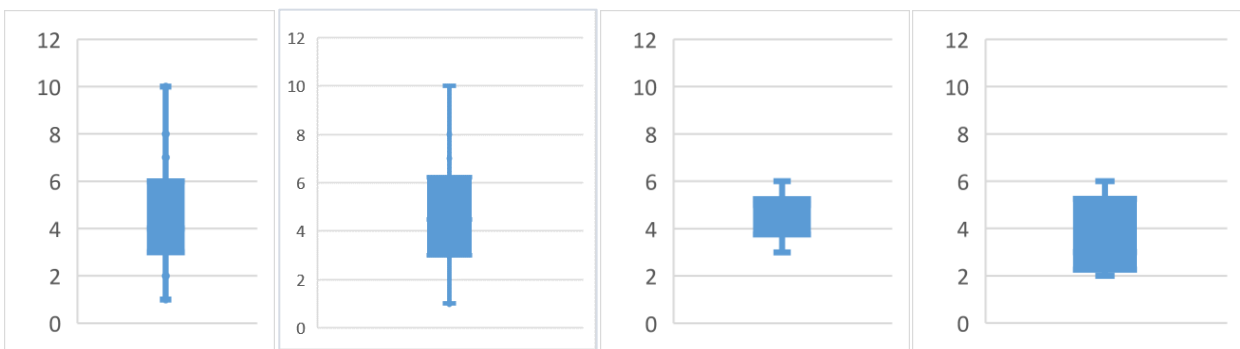
### 8.2 Eläinten perustietojen kuvaaminen

Koirien perustiedot (sukupuoli, ikä) ryhmiteltyinä (atoopikot, osa-aineisto, terveet kontrollit, lievät

inflammatoriset iho-oireet) on esitetty kuvissa 6-7 sivulla 38. Ryhmien välillä ei havaittu selviä eroja perustiedoissa.



Kuva 6: Staffordshirebullterriereiden atooppisen dermatiitin ihon kliinisen kunnon (CADESI-4-arvot) ja transepidermaalisen veden haihtumisen (TEWL-arvot) korrelaatiotutkimuksen tutkimuspopulaation sukupuolten jakautuminen. Jos nartun luottamusväli sisältää 50 %, niin naaraiden ja urosten osuudet eivät poikkea tilastollisesti merkitsevästi toisistaan: 1) atooppista dermatiittia sairastavien ryhmä (n=31) nartut 45 % (95 %:n luottamusväli 29-62 %) ja urokset 55 % 2) Osa-aineisto (n=18) (oikea puoli) nartut 55,5 % (95 %:n luottamusväli 33,2-76,3 %), urokset 44,4 % 3) Terveet kontrollit (n=7) nartut 71,4 % (95 %:n luottamusväli 35,2-93,5 %), urokset 28,6 % 4) Lievät inflammatoriset iho-oireet (n=6) nartut 33,3 % (95 %:n luottamusväli 7,7-71,4 %), urokset 66,7 %.



Kuva 7: Staffordshirebullterriereiden atooppisen dermatiitin ihon kliinisen kunnon (CADESI-4-arvot) ja transepidermaalisen veden haihtumisen (TEWL-arvot) mittauksen korrelointitutkimuksen tutkimuspopulaation iän jakaantuminen: 1) atooppista dermatiittia sairastavien ryhmässä (n=31), 2) osa-aineistossa (n=18), 3) terveillä kontrolleilla (n=7) ja 4) lievissä inflammatorisissa ihosairauksissa (n=6). Janojen päät kuvaavat minimia ja maksimia. Laatikko sisältää puolet arvoista. Y-akselilla on koiran ikä vuosina.

### 8.3 Korrelaatioanalyysit: TEWL ja CADESI-4

#### Atooppista dermatiittia sairastavat:

Kaikkien atooppista dermatiittia sairastavien joukossa havaittiin tilastollisesti merkitsevää, mutta asteeltaan olematonta/alhaista korrelaatiota kokonais-TEWL:n ja kokonais-CADESI-4:n välillä ( $P=0,035$  Spearmanin rho,  $P= 0,033$  Kendallin tau; taulukko 2 s. 39). Kun  $P$ -arvot Bonferronikorjattiin (kirjassa McDonald 2014), tilastollinen merkitsevyys hävisi.

Taulukko 2: Ihon kliinisen kunnon (CADESI-4-arvot) ja transepidermaalisen veden haihtumisen (TEWL-arvot) korrelaatiokertoimet ja niitä vastaavat P-arvot staffordshirenbulterioiden atooppista dermatiittia sairastavilla (n=31, **mukana kaikki tutkimuspopulaation koirat**). Tilastollisesti merkitsevät korrelaatiokertoimet ja P-arvot ( $P < 0,05$ ) merkitty punaisella; jos myös Bonferronikorjattu P-arvo on punainen, on korrelaatiokerroin lisäksi lihavoitu.

	Spearmanin rho korrelaatiokerroin (P-arvo; Bonferronikorjattu P-arvo)	Kendallin tau korrelaatiokerroin (P-arvo; Bonferronikorjattu P-arvo)
kokonais-TEWL & kokonais-CADESI-4	<b>0,381 (0,035; 0,14)</b>	<b>0,272 (0,033; 0,132)</b>
korvanlehti-TEWL & kokonais-CADESI-4	0,279 (0,129; 0,516)	0,190 (0,138; 0,552)
kyynärtaive-TEWL & kokonais-CADESI-4	0,192 (0,302; 1,208)	0,152 (0,233; 0,932)
inguinaali-TEWL & kokonais-CADESI-4	0,151 (0,416; 1,664)	0,088 (0,495; 1,980)

#### Osa-aineisto:

Osa-aineistossa saatiin esiin alhainen, tilastollisesti merkitsevä korrelaatio kokonais-TEWL:n ja kokonais-CADESI:n kesken ( $P=0,019$  Spearmanin rho,  $P=0,017$  Kendallin tau; taulukko 3). Kun P-arvot Bonferronikorjattiin (kirjassa McDonald 2014), tilastollinen merkitsevyys kuitenkin hävisi. Inguinaali-TEWL:n ja kokonais-CADESI:n välillä havaittiin tilastollisesti merkitsevä alhainen/kohtalainen positiivinen korrelaatio, jonka tilastollinen merkitsevyys säilyi Bonferronikorjauksen (kirjassa McDonald 2014) jälkeen ( $P=0,007$  Spearmanin rho,  $P=0,020$  Kendallin tau; taulukko 3 s. 40).

Taulukko 3: Ihon kliinisen kunnon (CADESI-4-arvot) ja transepidermaalisen veden haihtumisen (TEWL-arvot) korrelaatiokertoimet ja niitä vastaavat P-arvot staffordshirenbulterriereiden atooppista dermatiittia sairastavilla (n=18, mukana vain osa-aineiston koirat). Tilastollisesti merkitsevät korrelaatiokertoimet ja P-arvot (P<0,05) merkitty punaisella; jos myös Bonferronikorjattu P-arvo on punainen, on korrelaatiokerroin lisäksi lihavoitu.

	Spearmanin rho korrelaatiokerroin (P-arvo; Bonferronikorjattu P-arvo)	Kendallin tau korrelaatiokerroin (P-arvo; Bonferronikorjattu P-arvo)
kokonais-TEWL & kokonais-CADESI-4	<b>0,548 (0,019; 0,076)</b>	<b>0,417 (0,017; 0,068)</b>
korvanlehti-TEWL &kokonais-CADESI-4	0,031 (0,903; 1)	0,020 (0,909; 1)
kyynärtaive-TEWL & kokonais-CADESI-4	0,274 (0,272; 1)	0,213 (0,224; 0,896)
inguinaali-TEWL & kokonais-CADESI-4	<b>0,610 (0,007; 0,028)</b>	<b>0,407 (0,020; 0,080)</b>

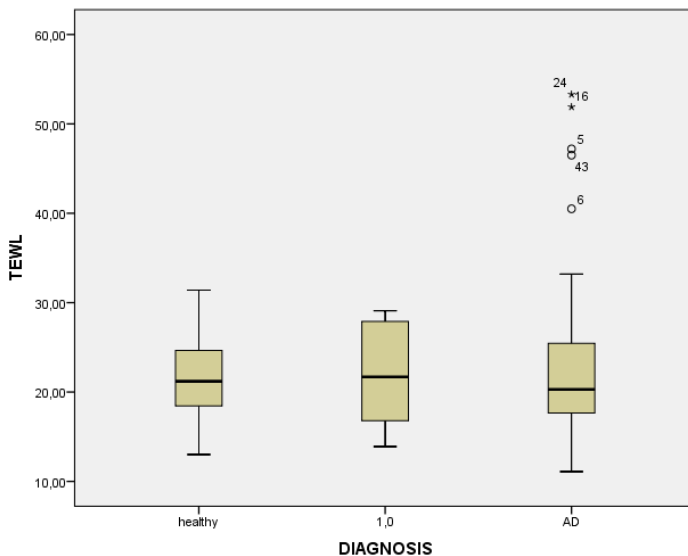
#### 8.4 TEWL-arvojen keskiarvot, mediaanit ja jakautuminen eri diagnoosiryhmissä

Terveiden kontrollien ryhmässä TEWL:n keskiarvo oli 21,7 g/m<sup>2</sup>/h (keskihajonta eli sd 2,2) ja mediaani 21,2 (min eli minimi 13,0 max eli maksimi 31,4).

Lieviä tulehduksellisia iho-oireita sisältävien ryhmässä TEWL:n keskiarvo oli lähes vastaava terveiden kontrollien kanssa, 21,9 g/m<sup>2</sup>/h (sd 2,6) ja mediaani 21,7 (min 13,9 max 29,1).

Atooppista dermatiittia sairastavien ryhmässä TEWL:n keskiarvo oli korkeampi kuin terveillä kontrolleilla, 24,0 g/m<sup>2</sup>/h (sd 2,1) ja mediaani 20,3 (min 11,1 max 53,3).





Kuva 7: Laatikko-jana -kuviot TEWL:n eli transepidermaalisen veden haihtumisarvojen jakautumisesta tutkimuspopulaation eri diagnoosiryhmissä terve (=healthy), lievä tulehduksellinen iho-oire (=1,0) ja atooppinen dermatiitti (=AD). Y-akselilla TEWL-arvot g/m<sup>2</sup>/h. Janojen päät kuvaavat minimia ja maksimia. Ääriarvoja on kuvattu yksittäisillä pisteillä. Laatikko sisältää puolet arvoista. Mediaani on merkitty laatikon sisälle viivalla.

TEWL-arvojen jakautumisen välillä ei havaittu tilastollisesti merkitsevää eroa eri ryhmien välillä (Kruskal-Wallis,  $P=0,996$ ).

## 9 POHDINTA

Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää TEWL-mittausten ja ihon kunnon välistä yhteyttä koirien atooppisessa dermatiitissa. Tätä arvioitiin tutkimalla TEWL- ja CADESI-4-arvojen välistä korrelaatiota hypoteesina heikko tai kohtalainen korrelaatio. Asetettu hypoteesi täyttyi ainoastaan osa-aineistossa, jossa kokonais-CADESI-4 ja kokonais-TEWL sekä kokonais-CADESI-4 ja inguinaali-TEWL korreloivat keskenään alhaisesti/kohtalaisesti. Kuten kirjallisuuskatsauksessa todettiin, aiempien tutkimusten perusteella ei ole saavutettu konsensusta TEWL-mittausten hyödyllisyydestä koirilla (Shimada ym. 2008, Hightower ym. 2010, Shimada ym. 2009, Cornegliani ym. 2011). Kokeellisissa olosuhteissa on kuitenkin havaittu selvä positiivinen korrelaatio ihovaurioiden ja TEWL-arvojen välillä (Shimada ym. 2008). Ihmisillä luotettava näyttö positiivisesta, vahvasta korrelaatiosta ihon kunnon ja TEWL:n välillä on kertynyt useissa tutkimuksissa (Kim ym. 2006, Gupta ym. 2008, Hon ym. 2008). Zajac ym. (2014) havaitsivat tätä tutkimusta vastaavasti TEWL- ja CADESI-arvojen välillä tilastollisesti merkitsevää korrelaatiota atooppista dermatiittia sairastavilla koirilla viidessä kymmenestä mittauskohdasta. Koska he käyttivät ihon kunnon kliiniseen arviointiin CADESI-3-menetelmää, joka on nykyisen vanhempi versio, tulokset eivät todennäköisesti ole vertailukelpoisia

keskenään. Lisäksi heidän tutkimuspopulaatiossaan oli useita rotuja ja TEWL-mittaukset suoritettiin 10 eri kohdasta.

Tutkimuspopulaation rajaaminen yhteen, lyhytkarvaiseen rotuun oli perusteltua, koska näin saatiin minimoitua karvapeitteen vaikutus mittaustuloksiin ilman, että karvoja tarvitsisi ajella. Aiemmin on jo osoitettu, että karvapeitteen ajeleminen laskee TEWL-arvoja tilastollisesti merkitsevästi ( $P=0,048$ ) 44 % (Watson ym. 2002). Lisäksi Lau-Gillardin ym (2010) Vapometerin validointitutkimuksessa osoitettiin, että lyhytkarvaisella koiralla TEWL-arvot olivat tilastollisesti merkitsevästi alhaisempia ( $p<0,001$ ) verrattuna pitkäkarvaiseen koiraan. Toisaalta samassa tutkimuksessa ei havaittu vastaavaa karvojen ajelun aiheuttamaa tilastollisesti merkitsevää vaikutusta TEWL-arvoihin kuin Watson ym. (2002) tutkimuksessa.

TEWL-mittaukset suoritettiin useasta eri kohdasta ja mittauksissa hyödynnettiin suljetun kammion menetelmään perustuvaa Vapometer-mittauslaitetta. Aikaisemmissa tutkimuksissa TEWL-arvojen on havaittu poikkeavan toisistaan eri mittauskohtien välillä (Lau-Gillard ym. 2010, Watson ym. 2002) ja suljetun kammion menetelmä on todettu avointa luotettavammaksi, koska se minimoi ympäristön suhteellisen kosteuden ja koirien liikehännän vaikutuksia mittaustuloksiin (Yoshihara ym. 2007). Ihon kunnon kliiniseen arviointiin käytettiin CADESI-4-menetelmää, jossa tutkija arvioi ihomuutoksia 20 eri ihoalueelta (Olivry ym. 2014), kun taas TEWL-mittaukset suoritettiin vain kolmelta eri ihoalueelta. Nämä mittauskohdat sisältyivät CADESI-4-arviointikohtiin, mutta mittausten ulkopuolelle jäi edelleen monta eri ihoaluetta, joissa ilmenneet ihon läpäisyesteen puutokset ovat voineet nostaa kokonais-CADESI-4-arvoa ja siten vaikuttaa korrelaatioanalyysin tuloksiin. Onkin mahdollista, että esille olisi tullut suurempia, luotettavampia korrelaatioita, mikäli tietyn ihoalueen TEWL-arvoa ja CADESI-4-arvoa olisi verrattu toisiinsa. Toinen työläs mutta informatiivinen vaihtoehto olisi suorittaa TEWL-mittaukset kaikista CADESI-4- menetelmään sisältyvistä alueista ja täten verrata kokonais-TEWL- ja kokonais-CADESI-4- arvoja sekä eri mittauskohtien TEWL- ja CADESI-4-arvoja keskenään.

Tuloksia tulkitessa tulee ottaa huomioon useita tutkimukseen liittyneitä epävarmuustekijöitä. TEWL-mittauksissa ei noudatettu yhtenäistä protokollaa, sillä mittauksia suorittivat useat eri henkilöt ilman kattavaa ohjeistusta tai ulkopuolisen suorittamaa valvontaa. Vapometer-laitteen validointitutkimuksessa (Lau-Gillard ym. 2010) on erityisesti painotettu tarkkaa, standardoitua

protokollaa luotettavien tulosten saamiseksi. Aiemmissa TEWL-mittauksia sisältävissä koiratutkimuksissa on pääsääntöisesti käytetty vain yhtä mittaajaa. Kaikissa tutkimuksissa ei tosin ole erillistä mainintaa mittaajien lukumäärästä (Shimada ym. 2008, Shimada ym. 2009, Hightower ym. 2010, Lau-Gillard ym. 2010, Cornegliani ym. 2011, Marsella 2012, Zajac ym. 2014).

Tässä tutkimuksessa oli mukana koiria, joita oli lääkitty joko topikaalisilla glukokortikoideilla (kaksi viikkoa) tai systeemillä anti-inflammatorisella lääkityksellä (neljä viikkoa) ennen TEWL-mittauksia. Yhdellä koirista oli myös käynnissä allergeenispesifinen immunoterapia. Aiemmissa tutkimuksissa käytännöt ovat olleet vaihtelevia (Shimada ym. 2009, Cornegliani ym. 2011, Zajac ym. 2014). Esimerkiksi Shimadan ym. 2009 tutkimuksessa ainoastaan topikaaliset valmisteet oli ohjeistettu lopettamaan viikkoa ennen tutkimuksia. Zajacin ym. (2014) tutkimuksessa puolestaan kaikki anti-inflammatoriset lääkitykset (steroidit, antihistamiinit, siklosporiinit, rasvahapot) tai antibiootit olivat kiellettyjä kolme kuukautta ennen TEWL-mittausten suorittamista. Eri lääkitysten vaikutuksista atooppista dermatiittia sairastavien koirien TEWL-arvoihin on tähän mennessä julkaistu ainoastaan pari tutkimusta (Cornegliani ym. 2011, Nam ym. 2012). Corneglianin ym. (2011) tutkimuksessa vertailtiin remissiossa eli elpymisvaiheessa olevia, vähintään vuoden ajan joko siklosporiinilääkityksellä tai allergeenispesifisellä immunoterapialla olleita koiria ei-remissiossa oleviin, atooppista dermatiittia sairastaviin koiriin. Tutkimuksessa TEWL-arvojen havaittiin olevan alhaisempia remissiossa olevilla koirilla. Epäselväksi kuitenkin jäi, johtuivatko erot primaaristi lääkityksestä vai sen vaikutuksesta ihon kuntoon. Remissiokriteeriksi tutkimuksessa oli asetettu tietyn kokonais-CADESI-3 -arvon alittuminen, mikä viittaisi lähinnä epäsuoraan vaikutukseen ihon kunnossa. Namin ym. (2012) tutkimuksessa todettiin topikaalisen glukokortikoidivalmisteeseen (0,0584 % hydrokortisoniaseponaatti, Cortavance<sup>®</sup>, Virbac) laskevan tilastollisesti merkitsevästi CADESI-3-arvoja, VAS-arvoja sekä TEWL-arvoja atooppista ihottumaa sairastavilla koirilla 14 vrk:n hoitojakson jälkeen. TEWL-mittaukset suoritettiin valmisteella käsitellyiltä ihoalueilta.

Lisäksi tähän tutkimuspopulaatioon kuului kolme koiraa, joilla oli todettu muu taustasairaus. Yhdellä koirista todettiin baseliinikäynnin aikoihin keuhkosairaus, jonka vuoksi sille aloitettiin systeeminen kortisonilääkitys. Aikaisemman pohdinnan mukaisesti systeemisen kortisonilääkityksen mahdollisista vaikutuksista koiran TEWL-arvoihin ei ole kuitenkaan tällä hetkellä tutkimustietoa. Myöskään kahdella muulla koiralla todetuista kilpirauhasen vajaatoiminnasta tai demodikoosista ei ole tehty tutkimuksia TEWL-arvoihin liittyen.

Edellä mainittuja epävarmuustekijöitä huomioitiin suorittamalla korrelaatioanalyysit myös osa-aineistolla, jossa rajattiin pois koirat, joiden TEWL-mittauksissa oli havaittu epäselvyyksiä, joiden historiassa oli kortisonilääkityksiä tai joilla oli todettu loppukäynnin yhteydessä muita sairauksia (kilpirauhasen vajaatoiminta, demodikoosi), joiden vaikutuksista TEWL-mittauksiin ei tällä hetkellä ole tietoa. Rajausten avulla osa-aineistossa saatiinkin esille vahvempaa korrelaatiota. Tutkimusaineiston heikkoutena oli kuitenkin aineiston pieni koko, mikä korostui entisestään osa-aineiston kohdalla. Ihmispuolen tutkimuksissa tutkimuspopulaatioiden koko on tavallisesti suuri, mikä lisää niiden luotettavuutta. Esimerkiksi Nikolovskin ym. 2008 tutkimuspopulaation koko oli 228 henkilöä. Koska tutkimuspopulaation koirat oli diagnosoitu retrospektiivisesti, diagnoosien välillä voi myös olla lievää päällekkäisyyttä. Atooppisten joukossa on hyvin lieväoireisia (Favrot 5/8 sensitiivisyys 85 %) ja toisaalta taas lieviin inflammatorisiin ihosairauksiin luokitelluilla koirilla taustatekijänä voi olla allerginen ihosairaus. Suurin osa korrelaatioiden tilastollisesti merkitsevistä *P*-arvoista muuttui ei-merkitseväksi, kun ne Bonferroni-korjattiin monivertailun varalta, että tyyppi-1-virheen (todennäköisyys löytää tilastollisesti merkitsevä korrelaatio, vaikka sellaista ei oikeasti olisi) mahdollisuus säilyisi halutulla tasolla. Korkeimmat korrelaatiokertoimet olivat kuitenkin osapopulaatiossa tasoa 0,5-0,6, mikä viittaa kohtalaiseen, jopa huomattavaan korrelaatioon ja isommalla otoskoolla tilastollisesti merkitseviä korrelaatioita olisi voinut löytyä enemmänkin.

Kun ihon läpäisyesteessä ilmenee puutteita, TEWL-arvot nousevat aiheuttajasta riippumatta. Primaarit ihon suojamuurin puutteet ovat rakenteellisia poikkeavuuksia ihon koostumuksessa. Tähän läpäisyesteeseen voi kuitenkin tulla myös sekundaarisesti muutoksia mm. atooppista ihottumaa sairastavilla yleisesti esiintyvien sekundaari-infektioiden tai raapimisesta aiheutuneiden ihorikkojen vuoksi (katsauksessa Marsella ym. 2011). Koska sekundaari-infektioita ei tässä tutkimuksessa enää loppukäynnillä diagnosoitu tai hoidettu, osa-aineistoon sisältyi mahdollisesti sekundaari-infektioista kärsineitä koiria. Tästä johtuen ei voida ottaa kantaa, ovatko TEWL-mittaustulosten kautta heijastuvat mahdolliset ihon läpäisyesteen puutteet primaareja vai infektioiden aiheuttamia. Lisäksi myös CADESI-4-arvot ovat voineet nousta sekundaari-infektioiden myötä. Mikäli primaarien suojamuurin puutteiden osuutta haluttaisiin arvioida TEWL-mittauksilla, sekundaari-infektiot ja raapimisesta aiheutuneet ihorikot tulisi tunnistaa ja hoitaa hyvissä ajoin ennen mittauksia. Toinen vaihtoehto olisi suorittaa mittaukset terveiltä näyttäviltä ihoalueilta.

Primaareja ihon läpäisyesteen puutteita on tutkittu jonkin verran etenkin ihmispuolen tutkimuksissa mm. keramidien ja filagriini-proteiinin osalta (Macheleidt ym. 2002, Farwanah ym. 2005, Palmer ym. 2006, Baurecht ym. 2007, Irvine 2007, O`Regan & Irvine 2010). Koirien osalta tutkimustietoa aiheesta on vielä tällä hetkellä rajoitetusti (Shimada ym. 2009, Popa ym. 2011a, Yoon ym. 2011). Ihmisillä filagriinia koodaava geenimutaatio ja sitä seuraava filagriinin määrän väheneminen on yksi tärkeimmistä riskitekijöistä atooppisen dermatiitin synnyssä (Palmer ym. 2006, Baurecht ym. 2007, Irvine 2007, O`Regan & Irvine 2010). Tämänhetkisen tutkimustiedon perusteella osalla atooppista dermatiittia sairastavista koirista esiintyy filagriini-proteiinin ja sitä koodaavan FLG-geenin poikkeavaa ilmentymistä. Tutkimuksia aiheesta on kuitenkin toistaiseksi vähän, aineistot ovat pieniä ja osassa tutkimuksista atooppinen dermatiitti on aikaansaatu kokeellisesti (Chervet ym. 2010, Roque ym. 2011, Theerawatanasirikul ym. 2012, Santoro ym. 2013).

Atooppisen dermatiitin syntyyn vaikuttaa useita eri tekijöitä ihon läpäisyesteen puutteiden lisäksi ja nämä tekijät voivat vielä vaihdella eri potilaiden välillä (katsauksessa Bizikova ym. 2015a, katsauksessa Marsella ym. 2011). Tällä hetkellä ei esimerkiksi tiedetä, mikä osuus ihon läpäisyesteen puutteilla olisi niiden atooppista dermatiittia sairastavien koirien patogeneesissä, joiden atooppinen ihottuma on ruokayliherkkyyden indusoima (katsauksessa Olivry ym. 2007). Tästä johtuen aineistosta suljettiin pois koira, joka vastasi täysin eliminaatiodieettiin. Osa-aineistoon jäi kuitenkin useampi koira, joilla oli havaittu osittainen vaste eliminaatiodieettiin eli ruoka voi siis toimia atooppisen ihottuman pahentajana ("flare factor"). On myös huomioitava, että eliminaatiodieetteihin liittyvässä datassa ja datan perusteella myös dieettien suorittamisessa oli puutteita (epäselvyyksiä merkinnöissä, ylimääräisiä lääkityksiä, makupaloja, aikaisempi ruokavalio jo rajoitettu jne.) Myöskään kuuden viikon mittaista eliminaatiodieettiä hydrolysoiduilla koiranruoalla sitä seuraavalla viikon altistusvaiheella ja vasteiden arvioinnin perustamista pelkkään omistaja-arviointiin ei pidetä optimaalisena (katsauksessa Olivry ym. 2007, katsauksessa Hensel ym. 2015). Koska atooppiselle dermatiitille on kuitenkin tunnusomaista oireiden aaltoilu, on pidettävä mielessä, että osittainen paraneminen eliminaation aikana on voinut johtua myös muista, ruokavalioon liittymättömistä seikoista. Näistä syistä johtuen ei ole varmuutta siitä, että osa-aineistossa olisi saatu luotettavasti poissuljettua koirat, joilla atooppinen dermatiitti on ruokayliherkkyyden indusoima. Jatkossa olisi mielenkiintoista selvittää, havaitaanko TEWL-arvoissa eroja eri lailla herkistyneiden atoopikkojen välillä (FIAD, NFIAD, ALD). Kuten myös läpäisyesteen puutteiden roolia koirilla, joilla ruoka toimii oireita pahentavana tekijänä ("flare factor") Tämä edellyttää TEWL-mittausten suorittamista

sekundaari-infektioista vapailta ihoalueilta, jotta voitaisiin vertailla primaareja ihon läpäisyesteen puutteita etiologialtaan erilaisten atooppikkojen välillä.

TEWL-mittaukset tuskin tulevat syrjäyttämään perinteisiä ihon kunnan arviointiin käytettäviä menetelmiä kliinisessä työssä, koska koirien TEWL-arvoissa on havaittavissa niin suurta biologista variaatiota (päivä-, mittauskohta-, mittaaja- ja koirakohtaiset erot) (Lau-Gillard ym. 2010). Näiden tekijöiden hallitseminen käytännön kliinisessä työssä olisi monesti vaikeaa tai jopa mahdotonta. Mikäli TEWL-mittaukset kuitenkin osoittautuvat luotettavaksi ihon läpäisyesteen arviontimenetelmäksi koirilla, niitä voitaisiin hyödyntää mm. ihon läpäisyesteen toimintaan vaikuttavien lääkitysten tutkimuksissa. TEWL-mittauksia on jo koirilla hyödynnetty arvioimaan mm. shampoovalmisteen (Pin ym. 2014), lääkevoiteen (Pellicoro ym. 2013) tai pölypunkki-allergeenialtistuksen (Hightower ym. 2010) vaikutuksia ihon läpäisyesteeseen. Ihmispuolella TEWL-mittauksia pidetään jo yhtenä tärkeimmistä parametreista ihon läpäisyesteen arvioimiseen (katsauksessa Kottner ym. 2013). Viime aikoina TEWL-mittausten on esimerkiksi osoitettu ennustavan tilastollisesti merkitsevästi atooppisen dermatiitin kehittymistä 1-vuotiailla lapsilla, kun mittaukset on suoritettu kaksi päivää syntymän jälkeen. Tämä mahdollistaa puuttumisen atooppisen dermatiitin kehittymiseen jo varhaisessa vaiheessa (Kelleher ym. 2015).

Tässä tutkimuksessa saatiin asetettujen tavoitteiden ja hypoteesin mukaisesti selville, että TEWL- ja CADESI-4-arvot korreloivat keskenään kohtalaisesti. Korrelaatio oli kuitenkin havaittavissa ainoastaan osa-aineistossa, jossa oli poistettu mittauksiin liittyvät epävarmuustekijät sekä mittauksiin mahdollisesti vaikuttavat muut sairaudet ja lääkitykset. Tutkimukseen liittyi useita edellä pohdittuja ongelmakohtia eikä yksittäisen tutkimustuloksen perusteella voida tehdä johtopäätöksiä TEWL-mittausten luotettavuudesta koirien ihon läpäisyesteen arvioinnissa. Tieteellisesti hyväksyttävän arvioinnin aikaansaamiseksi tarvitaankin edelleen lisää laadukkaita, laajalla tutkimuspopulaatiolla suoritettuja tutkimuksia.

## 10 KIITOKSET

Haluan kiittää lämpimästi ohjaajaani Riitta Seppästä jatkuvasta tuesta ja neuvoista liseniaatin tutkielman aikana. Erytiskiitokset myös ohjaajilleni Leena Saijonmaa-Koulumiehelle ja Anna-Maija

Virtalalle sekä työn johtajalle Thomas Spillmanille. Haluan myös esittää suurkiitokset Anna Hielm-Björkmanille luvasta hyödyntää hänen DOGRISK-aineistoaan lisensiaatin tutkielmassani sekä rasvahappotutkija Mikko Griinarille, joka lainasi Delfin Vapometer-laitteensa DOGRISK-ryhmälle.

## 11 LÄHDELUETTELO

- Baurecht H, Irvine A D, Novak N. Toward a major risk factor for atopic eczema: meta-analysis of filaggrin polymorphism data. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 1406–12.
- Bensignor E, Jankowski F, Seewald W, Touati F, Deville M, Guillot J. Comparison of two sampling techniques to assess quantity and distribution of *Malassezia* yeasts on the skin of Basset Hounds. *Vet Dermatol* 2002; 13: 237–241.
- Bensignor E, Morgan D M, Nuttall T. Efficacy of an essential fatty acid-enriched diet in managing canine atopic dermatitis: a randomized, single-blinded, cross-over study. *Vet Dermatol* 2008; 19: 156-162.
- Bensignor E, Pin D, Bourdeau P. A multicentric randomised controlled single blinded study to evaluate the value of a new protocol with a shampoo and a foam to treat canine allergic dermatitis (in French). *Pratt Méd Chir Anim Comp.* 2013; 48: 49–55.
- Bizikova P, Pucheu-Haston C M, Eisenschenk M N C, Marsella R, Nuttall T, Santoro D. Review: Role of genetics and the environment in the pathogenesis of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2015; 26: 95-103.
- Bizikova P, Santoro D, Marsella R, Nuttall T, Eisenschenk M N C, Pucheu-Haston C M. Review: Clinical and histological manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2015; 26: 79-e24.
- Blascovic M, Rosenkrantz W, Neuber A, Sauter-Louis C, Mueller R S. The effect of a spot-on formulation containing polyunsaturated fatty acids and essential oils on dogs with atopic dermatitis. *Vet J* 2014; 199: 39-43.
- Brown L D, Tony C T, Anirban D. Interval Estimation for a Binomial Proportion. *Stat Sci* 2001; 16: 101-117.
- Bruet V, Bourdeau P J, Roussel A, Imperato L, Desfontis JC. Characterization of pruritus in canine atopic dermatitis, flea bite hypersensitivity and flea infestation and its role in diagnosis. *Vet Dermatol* 2012; 23: 487–e49.

- Burton G, Burrows A, Walker R ym. Efficacy of cyclosporine in the treatment of atopic dermatitis in dogs: combined results from two veterinary dermatology referral centres. *Aust Vet J* 2004; 82: 681–685.
- Bäumer W, Rossbach K, Mischke R, Reines I, Langbein-Detsch I, Luth A, Kleuser B. Decreased Concentration and Enhanced Metabolism of Sphingosine-1-Phosphate in Lesional Skin of Dogs with Atopic Dermatitis: Disturbed Sphingosine-1-Phosphate Homeostasis in Atopic Dermatitis. *J Invest Dermatol* 2011; 131: 266-268.
- Cave N J. Hydrolyzed Protein Diets for Dogs and Cats. *Vet Clin Small Anim* 2006; 36: 1251-1268.
- Chen H, Common J E, Haines R L ym. Wide spectrum of filaggrin-null mutations in atopic dermatitis highlights differences between Singapore Chinese and European populations. *Br J Dermatol* 2011; 165: 106–114.
- Chervet L, Galichet A, McLean WH, et al. Missing C-terminal filaggrin expression, NFkappaB activation and hyperproliferation identify the dog as a putative model to study epidermal dysfunction in atopic dermatitis. *Exp Dermatol* 2010; 19: e343–e346.
- Cho S-H, Strickland I, Tomkinson A, Fehringer A P, Gelfand E W. Preferential binding of *Staphylococcus aureus* to skin sites of Th2-mediated inflammation in a murine model. *J Inves Dermatol* 2001; 116: 658-663.
- Cole G W, Silverberg N L. The adherence of *Staphylococcus aureus* to human corneocytes. *Ama Arch Derm Syph* 1986; 122: 166-169.
- Cornegliani L, Vercelli A, Sala E, Marsella R. Transepidermal water loss in healthy and atopic dogs, treated and untreated: a comparative preliminary study. *Vet Dermatol* 2011; 23: 41-44.
- Cosgrove S B, Wren J A, Cleaver D M, Martin D D, Walsh K F, Harfst J A, Follis S L, King V L, Boucher J F, Stegemann M R. Efficacy and safety of oclacitinib for the control of pruritus and associated skin lesions in dogs with canine allergic dermatitis. *Vet Dermatol* 2013; 24: 479-e114.
- Curtis C F. Current trends in the treatment of *Sarcoptes*, *Cheyletiella* and *Otodectes* mite infestations in dogs and cats. *Vet Dermatol* 2004; 15: 108-114.
- DeBoer D J, Hillier A. The ACVD Task Force on Canine Atopic Dermatitis (XVI): laboratory evaluation of dogs with atopic dermatitis with serum-based "allergy" tests. *Vet Immunol and*



Immunopathol 2001; 81: 277-287.

- DeBoer D J, Schafer J H, Salsbury C S ym. Multiple-center study of reduced-concentration triamcinolone topical solution for the treatment of dogs with known or suspected allergic pruritus. *Am J Vet Res* 2002; 63: 408–413.
- Eichenseer M, Johansen C, Mueller R S. Efficacy of dimetinden and hydroxyzine/chlorpheniramine in atopic dogs: a randomised, controlled, double-blinded trial. *Vet Rec* 2013;173: 423–426.
- Elias P E, Hatano Y, Williams M L. Basis for the barrier abnormality in atopic dermatitis: Outside-inside-outside pathogenic mechanisms. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1337-1343.
- Farwanah H, Raith K, Neubert RH ym. Ceramide profiles of the uninvolved skin in atopic dermatitis and psoriasis are comparable to those of healthy skin. *Arch Dermatol Res* 2005; 296: 514–21.
- Favrot C, Steffan J, Seewald W, Picco F. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Vet Dermatol* 2010; 21: 23- 31.
- Fazakerley J, Nuttall T, Sales D, ym. Staphylococcal colonization of mucosal and lesional skin sites in atopic and healthy dogs. *Vet Dermatol* 2009; 20: 179–184.
- Gadeyne C, Little P, King V L, Edwards N, Davis K, Stegemann M R. Efficacy of oclacitinib (Apoquel®) compared with prednisolone for the control of pruritus and clinical signs associated with allergic dermatitis in client-owned dogs in Australia. *Vet Dermatol*. 2014; 25: 512–518.
- Gerlach T, Ludwig K, Winkenwerder F, Wronka M J, Nolte I. Comparative investigation on the diagnostic accuracy of allergen identification in canine atopic dermatitis. *Tieraerztliche Praxis Ausgabe Kleintiere Heimtiere* 2005; 33: 321-+.
- Ginel P J, Riano C, Lucena R. Evaluation of a commercial ELISA test for the detection of allergen-specific IgE antibodies in atopic dogs. *Zentralblatt fur Veterinärmedizin. Reihe B. Journal of veterinary medicine. Series B* 1998; 45: 421-425.
- Glos K, Linek M, Loewenstein C, Mayer U, Mueller R S. The efficacy of commercially available veterinary diets recommended for dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2008; 19: 280-287.
- Griffin C E, DeBoer D J. The ACVD Task Force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical

- manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet Immunol and Immunopathol* 2001; 81: 255-269.
- Gupta J, Grube E, Ericksen M B ym. Intrinsically defective skin barrier function in children with atopic dermatitis correlates with disease severity. *J Allergy and Clin Immunol* 2008; 121: 725–30.
  - Halliwell R. Revised nomenclature for veterinary allergy. *Vet Immunol and Immunopathol* 2006; 114: 207-208
  - Halliwell R, Schwartzman R M. Atopic disease in the dog. *Vet Record* 1971; 89: 209-213.
  - Halliwell R, Gilbert S M, Lian T M. Induced and spontaneous IgE antibodies to *Dermatophagoides farinae* in dogs and cats: evidence of functional heterogeneity of Ig E. *Vet Dermatol* 1998; 9: 179-184.
  - Hendricks A, Schuberth H J, Schueler K, et al. Frequency of superantigen-producing *Staphylococcus intermedius* isolates from canine pyoderma and proliferation-inducing potential of superantigens in dogs. *Res Vet Sci* 2002; 73: 273–27.
  - Hensel P, Zabel S, Okunaka N. Differences in skin test reactivity of 59 allergens tested with two different test concentration in 269 atopic dogs. *Vet Dermatol* 2012;23: 60.
  - Hensel P, Santoro D, Favrot C, Hill P, Griffin C. Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Vet Res* 2015; 11: 196-209.
  - Herzinger T, Kleuser B, Schafer-Korting M ym. Sphingosine-1-phosphate signaling and the skin. *Am J Clin Dermatol* 2007; 8: 329–336.
  - Hester S L, Rees C A, Kennis R A, Zoran D L, Bigley K E, Wright A S, Kirby N A and Bauer J E. Evaluation of corneometry (skin hydration) and transepidermal water-loss measurements in two canine breeds. *J. Nutr.* 2004; 134: 2110–2113.
  - Hightower K, Marsella R, Flynn-Lurie A. Effects of age and allergen exposure on transepidermal water loss in a house dust mite-sensitized beagle model of atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2010; 21: 89-96.
  - Hill P B, Lau P, Rybnicek J. Development of an owner-assessed scale to measure the severity of pruritus in dogs. *Vet Der* 2007; 18: 301-308.
  - Hon K L, Wong K Y, Leung T F ym. 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. *Am J Clin Dermatol* 2008; 9: 45–50.
- Inman A O, Olivry T, Dunston S M, Monteiro-Riviere N A, Gatto H. Electron Microscopic Observations of Stratum Corneum Intercellular Lipids in Normal and Atopic Dogs. *Vet Pathol* 2001; 38: 720-723.
  - Irvine A D. Fleshing out filaggrin phenotypes. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 504–7.
  - Iwasaki T, Nagata M, Masuda K ym. The clinical trial of cyclosporin in the treatment of canine atopic dermatitis: a non-blinded randomized antihistamine-controlled trial (Abstract). Proceedings of the 23rd Annual Meeting of the Japanese Society of Clinical Veterinary Medicine. Osaka, Japan 2002, 90–94.
  - Jain S. *Dermatology Illustrated Study Guide and Comprehensive Board Review 2-6*. Springer Science+ Business Media, New York, USA 2012.
  - Kawasaki H, Kubo A, Sasaki T ym. Loss-of-function mutations within the filaggrin gene and atopic dermatitis. *Curr Probl Dermatol* 2011; 41: 35–46.
  - Kelleher M, Dunn-Galvin A, Hourihane J, Murray D, Campbell L E, McLean W H, Irvine A D. Skin barrier dysfunction measured by transepidermal water loss at 2 days and 2 months predates and predicts atopic dermatitis at 1 year. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135: 930-935.e1.
  - Kim D-W, Park J-Y, Na G-Y, Lee S-J, Lee W-J. Correlation of clinical features and skin barrier function in adolescent and adult patients with atopic dermatitis. *Int J Dermatol* 2006; 45: 698-701.
  - Kottner J, Lichterfeld A, Peytavi-Blume U. Transepidermal water loss in young and aged healthy humans: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dermatol Res* 2013; 305: 315-323.
  - Kovalik M, Taszkun I, Pomorski Z, Kozak M, Pomorska D, Szczepanik M, ym. Evaluation of a human generic formulation of ciclosporin in the treatment of canine atopic dermatitis with in vitro assessment of the functional capacity of phagocytic cells. *Vet Rec.* 2011;168: 537–542.
  - Kuo I, Yoshida T, De Benedetto A, Beck LA. The cutaneous innate immune response in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131: 266-7.
  - Lau-Gillard P J, Hill P B, Chesney C J, Budleigh C, Immonen A. Evaluation of a hand-held

evaporimeter (VapoMeter) for the measurement of transepidermal water loss in healthy dogs. *Vet Dermatol* 2010; 21: 136-145.

- Leung D Y. Infection in atopic dermatitis. *Curr Opin Pediatr* 2003; 15: 399-404.
- Leyden J E, Marples R R, Kligman A M: *Staphylococcus aureus* in the lesions of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1974; 90: 525-530.
- Loeffler A, Magalhaes-Soares R, Bond R, Lloyd D H. A retrospective analysis of case series using home-prepared and chicken hydrolysate diets in the diagnosis of adverse food reactions in 181 pruritic dogs. *E Soc Vet Dermatol* 2006; 17: 273-279.
- Lund E M, Armstrong P J, Kirk C A, Kolar L M, Klausner J S. Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 214: 1336-1341.
- Löflath A, Voigts-Rhetz, Jaeger K, Schmidt M, Kuechenhoff H, Mueller R S. The efficacy of a commercial shampoo and whirlpooling in the treatment of canine pruritus – a double-blinded, randomized, placebo-controlled study. *Vet Dermatol* 2007; 18: 427-431.
- Macheleidt O, Kaiser HW, Sandhoff K. Deficiency of epidermal protein-bound x-hydroxyceramides in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2002; 119: 166–73.
- Madison K C. Barrier Function of the Skin: “La Raison d’Etre” of the Epidermis. *J Invest Dermatol* 2003; 121: 231-241.
- Mandala S, Hajdu R, Bergstrom J ym. Alteration of lymphocyte trafficking by sphingosine-1-phosphate receptor agonists. *Science* 2002; 296: 346–349.
- Marsella R. Are transepidermal water loss and clinical signs correlated in canine atopic dermatitis? A compilation of studies. *Vet Dermatol* 2012; 23: 238-242.
- Marsella R. Fixing the skin barrier: past, present and future: man and dog compared. *Vet Dermatol* 2013; 24: 73-76.
- Marsella R, Nicklin C F, Saglio S, Lopez J. Investigation on the clinical efficacy and safety of 0.1% tacrolimus ointment (Protopic®) in canine atopic dermatitis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, cross-over study. *Vet Dermatol* 2004; 15: 294-303.
- Marsella R, Samuelson D, Doerr K. Transmission electron microscopy studies in an experimental model of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2009; 21: 81-88.
- Marsella R, Sousa C A, Gonzales A J. Current Understanding of the pathophysiologic mechanisms of canine atopic dermatitis. *J Amer Vet Med Assoc* 2011; 241: 239-248.

- Marsella R, Genovese D, Gilmer L, Ahrens K, Gatto H, Navarro C. Investigations on the Effects of a Topical Ceramides-Containing Emulsion (Allerderm Spot on) on Clinical Signs and Skin Barrier Function in Dogs with Atopic Dermatitis. *Intern J Appl Res Vet Med* 2013; 11: 110-116.
- Marsh K A, Ruedisueli F L, Coe S L, Watson T D G. Effects of zinc and linoleic acid supplementation on the skin and coat quality of dogs receiving a complete and balanced diet. *Vet Dermatol* 2000; 11: 277-284.
- Masukawa Y, Narita H, Shimizu E. Characterization of overall ceramide species in human stratum corneum. *J Lip Res* 2008; 49: 1466-1476.
- Masukawa Y, Narita H, Sato H. Comprehensive quantification of ceramide species in human stratum corneum. *J Lip Res* 2009; 50: 1708-1719.
- McDonald J H. *Handbook of biological statistics (3<sup>rd</sup> ed)*. Sparky House Publishing, Baltimore, Maryland: 254-260.
- Mendelsohn C, Rosenkrantz W, Griffin CE. Practical cytology for inflammatory skin diseases. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2006; 21: 117–127.
- Mueller R S, Burrows A, Tsohalis J. Comparison of intradermal testing and serum testing for allergen-specific IgE using monoclonal IgE antibodies in 84 atopic dogs. *Austr Vet J* 1999; 77: 290-294.
- Mukaka M M. Statistics corner: A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Med Journ* 2012; 24: 69-71.
- Nam E H, Park S H, Jung J Y, Han S H, Young H Y, Chae J S ym. Evaluation of the effect of a 0.0584 % hydrocortisone aceponate spray on clinical signs and skin barrier function in dogs with atopic dermatitis. *J Vet Sci.* 2012;13: 187–191.
- Negre A, Bensignor E, Guillot J. Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of interventions for *Malassezia* dermatitis in dogs. *Vet Dermatol* 2008; 20: 1-12.
- Nesbitt G H. Canine allergic inhalant dermatitis: a review of 230 cases. *J Am Vet Med Assoc* 1978; 172: 55-60.
- Nikolovski J, Stamatas G N, Kollias N ym. Barrier function and water-holding and transport properties of infant stratum corneum are different from adult and continue to develop through the first year of life. *J Invest Dermatol* 2008; 128: 1728–36.
- Nishifuji K, Yoon J S. The stratum corneum: the rampart of the mammalian body. *Vet*

Dermatol 2013; 24: 60-e16.

- Nodtvedt A, Egenvall A, Bergvall K, Hedhammar A. Incidence of and risk factors for atopic dermatitis in a Swedish population of insured dogs. *Vet Rec* 2006; 159: 241-246.
- Nuttall T, Bensignor E. A pilot study to develop an objective clinical score for canine otitis externa. *Vet Dermatol* 2014; 25: 530–e92.
- Nuttall T, Harvey R G, McKeever P J. A colour handbook of skin diseases of the dog and cat: Canine atopic dermatitis s. 20-31. 2. p. Manson Publishing Ltd, London UK 2009.
- Nuttall T, Mueller, Bensignor E, Verde M, Noli C, Schmidt V, Reme C. Efficacy of a 0.0584% hydrocortisone aceponate spray in the management of canine atopic dermatitis: a randomised, double blind, placebo-controlled trial. *Vet Dermatol* 2009; 20: 191-198
- O'Regan G M, Irvine A D. The role of filaggrin in the atopic diathesis. *Clin Exp Allergy* 2010; 40: 965–72.
- Okunaka N, Zabel S, Hensel P. Retrospective assessment of previous antibiotic therapy in dogs diagnosed with meticillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* pyoderma. *Vet Dermatol* 2013;24: 388.
- Olivry T. Is the skin barrier abnormal in dogs with atopic dermatitis? *Vet Immunol and Immunopathol* 2011; 144: 11-16.
- Olivry T, Bizikova P. A systematic review of the evidence of reduced allergenicity and clinical benefit of food hydrolysates in dogs with cutaneous adverse food reaction. *Vet Dermatol* 2010; 21: 32-41.
- Olivry T, Marsella R, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIII): are essential fatty acids effective? *Vet Immunol and Immunopathol* 2001; 81: 347-362.
- Olivry T, Deboer D J, Griffin C E, Halliwell R, Hill P B, Hillier A, Marsella R, Sousa C A. The ACVD Task Force on Canine Atopic Dermatitis: forewords and lexicon. *Vet Immunol and Immunopathol* 2001; 81: 143-146.
- Olivry T, Rivierre C, Jackson HA ym. Cyclosporine decreases skin lesions and pruritus in dogs with atopic dermatitis: a blinded randomized prednisolone controlled trial. *Vet Dermatol* 2002; 13: 77–87.
- Olivry T, Steffan J, Fisch R D ym. Randomized controlled trial of the efficacy of cyclosporine in the treatment of atopic dermatitis in dogs. *J Am Vet Med As* 2002; 221: 370–377.
- Olivry T, DeBoer D J, Prelaud P, Bensignor E. The International Task Force on Canine Atopic

- Dermatitis. Letter to the editor. Food for thought: pondering the relationship between canine atopic dermatitis and cutaneous adverse food reactions. *J Comp* 2007; 18: 390-391.
- Olivry T, DeBoer D J, Favrot C, Jackson H A, Mueller R S, Nuttall T, Prelaud P. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force Canine Atopic Dermatitis. *Vet Dermatol* 2010; 21: 233-248.
  - Olivry T, DeBoer D J, Favrot C, Jackson H A, Mueller R S, Nuttall T, Prelaud P. Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA). *BMC Vet Res* 2015; 11: 210-225.
  - Olivry T, Mueller R S, Prelaud P. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (1): duration of elimination diets. *BMC Vet Res* 2015; 11: 1-3.
  - Osawa R, Akiyama M, Shimizu H. Filaggrin gene defects and the risk of developing allergic disorders. *Allergol Int* 2011; 60: 1-9.
  - Paepe K D, Houben E, Adam R, Wiesemann F, Rogiers V. Validation of the VapoMeter, a closed unventilated chamber system to assess transepidermal water loss vs. the open chamber Tewameter. *Skin Res and Techn* 2005; 11: 61-69.
  - Palmer C N, Irvine A D, Terron-Kwiatkowski A. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nature Genetics* 2006; 38: 441-6.
  - Paradis M, Villeneuve A. Efficacy of ivermectin against *Cheyletiella yasguri* infestation in dogs. *Can Vet J* 1988; 29: 633-635.
  - Pellicoro C, Marsella R, Ahrens K. Pilot Study to Evaluate the Effect of Topical Dimethicone on Clinical Signs and Skin Barrier Function in Dogs with Naturally Occurring Atopic Dermatitis. *Vet Med International, Annual*, 2013.
  - Plant J D, Neradelik M B, Polissar N L, Fadok V A, Scott B A. Agreement between allergen-specific IgE assays and ensuing immunotherapy recommendations from four commercial laboratories in the US. *Vet Dermatol* 2014; 25: 15-e6.
  - Plevnik A, Kobal S, Domanjko-Petric A ym. The efficacy of antihistamine fexofenadine versus methylprednisolone in the treatment of atopic dermatitis in dogs. *Slovenian Vet Res - Slovenski Veterinarski Zbornik* 2009; 46: 5-11.
  - Popa I, Remoue N, Hoang L T, Pin D, Gatto H, Haftek M, Portoukalian J. Atopic dermatitis in dogs is associated with a high heterogeneity in the distribution of protein-bound lipids within

- the stratum corneum. *Arch Dermatol Res* 2011; 303: 433-440.
- Popa I, Pin D, Remoue N, Osta B, Callejon S, Videmont E, ym. Analysis of epidermal lipids in normal and atopic dogs, before and after administration of an oral omega-6/omega-3 fatty acid feed supplement. A pilot study. *Vet Res Commun*. 2011; 35: 501–509.
  - Pucheu-Haston C M, Bizikova P, Eisenschenk M N C. Review: The role of antibodies, autoantigens and food allergens in canine atopic dermatitis. *Vet Derm* 2015;26: 115.
  - Prelaud P, Guaguere E, Alhaidari Z, Faivre N, Heripret D, Gayerie A. Reevaluation of diagnostic criteria of canine atopic dermatitis; Reevaluation des criteres de diagnostic de la dermite atopique. *Revue de Medecine Veterinaire* 1998; 11: 1057.
  - Reiter L V, Torres S M F, Wertz P W. Characterization and quantification of ceramides in the nonlesional skin of canine patients with atopic dermatitis compared with controls. *Vet Dermatol* 2009; 20: 260-266.
  - Ricci R, Granato A, Vascellari M, Boscarato M, Palagiano C, Andrighetto I, ym. Identification of undeclared sources of animal origin in canine dry foods used in dietary elimination trials. *J Anim Physiol Anim Nutr*. 2013; 97: 32–38.
  - Roque J B, O’Leary C A, Kyaw-Tanner M ym. Real-time PCR quantification of the canine filaggrin orthologue in the skin of atopic and non-atopic dogs: a pilot study. *BMC Res Notes* 2011; 4: 554.
  - Rosenkrantz W, Foster A P, Noli C. *Veterinary allergy: Part 1 Canine Allergy Section 1 Canine Atopic Dermatitis* s. 3-100. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, West Sussex, UK 2014.
  - Roudebush P. Ingredients and foods associated with adverse reactions in dogs and cats. *Vet Dermatol* 2013;24: 293–294.
  - Saevik B K, Bergvall K, Holm B R, Saijonmaa-Koulumies L E, Hedhammar Å, Larsen S, Kristensen F. A randomized, controlled study to evaluate the steroid sparing effect of essential fatty acid supplementation in the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2004; 15: 137-145.
  - Santoro D, Marsella R, Ahrens K, Graves T K, Bunick D. Altered mRNA and protein expression of filaggrin in the skin of a canine animal model for atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2013; 24: 329-336.
  - Santoro D, Marsella R, Pucheu-Haston C M, Eisenschenk M N C, Nuttall T, Bizikova P. Review: Pathogenesis of canine atopic dermatitis: skin barrier and host-micro-organism interaction.



Vet Dermatol 2015; 26: 84-e25.

- Schlotter Y M, Rutten V P M G, Riemers F M, Knol E F, Willemsse T. Lesional skin in atopic dogs shows a mixed Type-1 and Type-2 immune responsiveness. Vet Immunol and Immunopathol 2011; 143: 20-26.
- Schnabl B, Bettenay S V, Dow K, Mueller R S. Results of allergen-specific immunotherapy in 117 dogs with atopic dermatitis. Vet Rec 2006; 158: 81-85.
- Scott D W. Observations on canine atopy. J Am Anim Hosp Assoc 1981; 17: 91–100.
- Sergeant, ESG, 2017. Epitools epidemiological calculators. Ausvet Pty Ltd. Saatavilla osoitteessa: <http://epitools.ausvet.com.au>.
- Shimada K, Yoshihara T, Yamamoto M, Konno K, Momoi J, Nishifuji K, Iwasaki T. Transepidermal Water Loss (TEWL) Reflects Skin Barrier Function of Dog. J Vet Med Sci 2008; 70: 841-843.
- Shimada K, Yoon J-S, Yoshihara T, Iwasaki T, Nishifuji K. Increased transepidermal water loss and decreased ceramide content in lesional and non-lesional skin of dogs with atopic dermatitis. Vet Dermatol 2009; 20: 541-546.
- Sischo W M, Ihrke P J, Franti C E. Regional distribution of 10 common skin diseases in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1989; 195: 752-756.
- Skov L, Olsen J V, Giorno R, et al. Application of Staphylococcal Enterotoxin B on normal and atopic skin induces up-regulation of T cells by a superantigen-mediated mechanism. J Allergy Clin Immunol 2000; 105: 820–826.
- Steffan J, Horn J, Gruet P, Strehlau G, Fondati A, Ferrer L, Noli C. Remission of the clinical signs of atopic dermatitis in dogs after cessation of treatment with cyclosporin A or methylprednisolone. Vet Rec 2004; 154: 681-684.
- Steiner M, Aikman-Green S, Prescott G J, Dick F D. Side-by-side comparison of an open-chamber (TM 300) and a closed-chamber (Vapometert) transepidermal water loss meter. Skin Res and Techn 2011; 17: 366-372.
- Tarpataki N, Bigler B, Vajdovich P, Vörös K. Comparison between an intradermal skin test and allergen-specific IgE-ELISA for canine atopic dermatitis. Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde 2008; 150: 117-122.
- Taszkun I. The evaluation of Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI) test in dogs with atopic dermatitis (AD) treated with cyclosporine or prednisone. Pol J Vet Sci.

2010; 13: 681–688.

- Theerawatanasirikul S, Sailasuta A, Thanawongnuwech R, Suriyaphol G. Alterations of keratins, involucrin and filaggrin gene expression in canine atopic dermatitis. *Res Vet Science* 2012; 93: 1287-1292.
- Watson A, Fray T, Clarke S, Yates D, Markwell P. Reliable Use of the ServoMed Evaporimeter EP-2™ to Assess Transepidermal Water Loss in the Canine. *J Nutr* 2002; 132: 1661-1664.
- Wilhem S, Kovalik M, Favrot C. Breed-associated phenotypes in canine atopic dermatitis. *Veterinary dermatology* 2010; 22: 143-149.
- Willemse A, Van den Brom WE, Rijnberk A. Effect of hyposensitization on atopic dermatitis in dogs. *J Am Vet Med Asc* 1984; 184: 1277–1280.
- Wolf R & Wolf D. Abnormal epidermal barrier in the pathogenesis of atopic dermatitis. *Clin Dermatol* 2012; 30: 329-334.
- Yasukawa K, Saito S, Kubo T. Low-dose recombinant canine interferon-gamma for treatment of canine atopic dermatitis: an open randomized comparative trial of two doses. *Vet Dermatol* 2010; 21: 42-49.
- Yoon J-S, Nishifuji K, Sasaki A, Ide K, Ishikawa J, Yoshihara T, Iwasaki T. Alteration of stratum corneum ceramide profiles in spontaneous canine model of atopic dermatitis. *Exper Dermatol* 2011; 20: 732-736.
- Yoshihara, T., Shimada, K., Momoi, Y., Konno, K. Iwasaki, T. A new method of measuring the transepidermal water loss (TEWL) of dog skin. *J. Vet. Med. Sci.* 2007; 69: 289–292.
- Zajac M, Szczepanik M P, Wilkolek P M, Adamek L R, Pomorski Z J H, Sitkowski W, Golynski M G. Assessment of the relationship between transepidermal water loss (TEWL) and severity of clinical signs (CADESI-03) in atopic dogs. *Vet Dermatol* 2014; 25: 503-e83.