



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**

Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsovetenskap (BVF)

Hyperadrenokorticism hos hund

- Sjukdomens patogenes med fokus på kutana lesioner

Amanda Bajraszewski

*Uppsala
2017*

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2017:3

Hyperadrenokorticism hos hund – Sjukdomens patogenes med fokus på kutana lesioner

Canine hyperadrenocorticism – Pathogenesis of the disease, focusing on cutaneous lesions

Amanda Bajraszewski

Handledare: Karin Vargmar, institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsvetenskap (BVF)

Examinator: Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsvetenskap (BVF)

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: grund nivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2017

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serie: 2017:3

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

Nyckelord: Hyperadrenokorticism, HAC, hund, alopeci, kutan atrofi, calcinosis cutis

Key words: Hyperadrenocorticism, HAC, canine, alopecia, cutaneous atrophy, calcinosis cutis

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsvetenskap (BVF)

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Introduktion	3
Material och metod	3
Litteraturöversikt	4
Binjurarnas fysiologi	4
Hyperadrenokorticism	5
Kända predisponerande faktorer	6
Symptom	6
Kutana lesioner kopplat till hyperadrenokorticism	7
Alopeci.....	7
<i>Hårcykeln</i>	7
<i>Glukokortikoiders effekt på hårfolliklarna</i>	8
<i>Histopatologi</i>	8
Kutan atrofi	9
<i>Hudens uppbyggnad</i>	9
<i>Glukokortikoiders effekt på huden</i>	9
Calcinosis cutis.....	10
<i>Indelning av calcinosis cutis</i>	10
<i>Patogenes</i>	11
<i>Histopatologi</i>	11
Diskussion	12
Litteraturförteckning	14

SAMMANFATTNING

Hyperadrenokorticism (HAC) – eller Cushing's syndrom – är en av de vanligast förekommande endokrina sjukdomarna på medelålders till äldre hundar. HAC innebär ett sjukligt tillstånd med kroniskt förhöjda halter av glukokortikoider, främst kortisol, i blodet. HAC delas grovt in i endogen och iatrogen HAC – där ACTH-producerande hypofysadenom (Pituitary-dependent hyperadrenocorticism, PDH) utgör den vanligaste orsaken till endogen HAC hos hund. De symptom som kan uppkomma vid sjukdomen är många, varav de mest karaktäristiska är polyuri, polydipsi, uppsvälld buk och alopeci. Alopeci är en av flertalet kutana lesioner som kan förekomma hos hundar med HAC – vidare kan även hyperpigmentering, calcinosis cutis, kutan atrofi, komedoner samt sekundära bakterie- eller svampinfektioner och demodikos ses. De kutana förändringarna är ofta de första, de mest dramatiska och ibland de enda synliga tecknen på sjukdomen, och utgör således en viktig markör. Syftet med denna litteraturstudie är att redogöra för patogenesen vid HAC hos hund, utreda vad som karaktäriserar de kutana lesionerna alopeci, kutan atrofi och calcinosis cutis samt undersöka hur väl utredda de bakomliggande verkningsmekanismerna till respektive lesion är.

Alopeci utgör den vanligaste kutana lesionen vid HAC och karaktäriseras ofta av bilateralt och symmetriskt hårfall på bålen. Avsaknad av hårfollikelns anagena induktion (hårstråets tillväxtfas), och stimulering av katagen (övergångsfas då follikeln förbereder vilofas), är en trolig förklaring till alopeci – dock är den exakta verkningsmekanismen till detta oklar. Histopatologiskt ses en signifikant ökning av folliklar i kenogen fas (en fas där hårstrået har fällts och nybildning av ett nytt hårstrå uteblir) samt en hårfollikelatrofi. Kutan atrofi är en annan förekommande förändring kopplad till huden hos hundar med HAC, och resulterar ofta i sekundära hudinfektioner som pyodermi eller demodikos. Studier har visat att det framför allt är glukokortikoiders effekter på kutan celltillväxt och proteinsyntes som bär det huvudsakliga ansvaret för hudatrofi – med påverkan på bland annat fibroblaster och dess syntes av kollagen, elastin samt glukosaminoglykaner. Calcinosis cutis är ett relativt ovanligt symptom hos hundar med HAC – men har visat sig vara karaktäristiskt för sjukdomen hos hund om den uppstår. En tänkbar bakomliggande orsak till mineraliseringen är ökade mitokondriella kalciumnivåer. Vävnadsskada eller ökade nivåer av paratyreoideahormon (PTH) har diskuterats som predisponerande faktorer.

Sammantaget är de exakta verkningsmekanismerna för alopeci, kutan atrofi och calcinosis cutis vid HAC inte helt kartlagda, och det är troligen flera kombinerade bakomliggande mekanismer som leder fram till de olika lesionerna – varav vissa är mer utredda än andra. Det råder i dagsläget en brist på studier utförda på hund kopplade till HAC, och flertalet studier är ofta baserade på topikalt applicerade glukokortikoiders bieffekter. För att klargöra de exakta effekterna och bakomliggande mekanismer vid alopeci, kutan atrofi och calcinosis cutis hos hund med HAC behövs det i framtiden mer omfattande studier inom området.

SUMMARY

Hyperadrenocorticism (HAC) – or Cushing’s syndrome – is one of the most common canine endocrinopathies in middle-aged to older dogs. HAC involves a chronic exposure to excessive concentrations of circulating glucocorticoids, mainly cortisol. HAC can be divided, roughly, into endogenous and iatrogenic HAC – where ACTH-secreting adenoma of the pituitary gland (i.e. Pituitary-dependent hyperadrenocorticism, PDH) is the most common cause of endogenous HAC in dogs. The clinical signs of the disease are numerous, of which the most characteristic are polydipsia, polyuria, abdominal enlargement and alopecia. Alopecia is one of many cutaneous lesions occurring in dogs with HAC – furthermore, hyperpigmentation, calcinosis cutis, cutaneous atrophy, comedones and secondary bacterial- or fungal skin infections and demodicosis can be present. The cutaneous lesions are often the first, the most dramatic or the only visible signs of the disease, and are thus important markers for disease. The purpose of this literature study is to give an account of the pathogenesis of canine HAC, investigate what characterizes the cutaneous lesions alopecia, cutaneous atrophy and calcinosis cutis, and to analyze the mechanism of action for each lesion.

Alopecia is the most common cutaneous lesion of HAC and is presented as bilateral symmetrical hair loss, which often affects the trunk. Absence of the anagen induction (phase of controlled growth) and stimulation of the catagen phase (regression of the lower follicle) of the hair follicle is a likely explanation for alopecia, however, the exact mechanism of action is unclear. Histopathological changes include a significant increase of hair follicles in kenogen (hair follicle that have lost their hair fibre and remain empty for a certain time before anagen is reinitiated) and follicular atrophy. Cutaneous atrophy is another cutaneous lesion of canine HAC, and often results in secondary skin infections as pyoderma or demodicosis. Studies have shown that the glucocorticoid effects on cutaneous cell growth and protein synthesis can explain the skin atrophy – since it affects fibroblasts and their synthesis of collagen, elastin and glycosaminoglycans. Calcinosis cutis is uncommon in dogs with HAC – but characteristic if it occurs. It has been postulated that high levels of mitochondrial calcium may lead to the mineralizations. Tissue damage or increased levels of parathyroid hormone (PTH) has also been discussed as predisposing factors.

Taken together, a broad spectrum of different mechanisms seems to contribute to the development of alopecia, cutaneous atrophy and calcinosis cutis in canine HAC – some more well described than others – and the exact pathogenesis is still unclear. There is, in the current situation, a lack of studies performed on dogs with HAC, and most studies are often based on the side effects of topically applied glucocorticoids. To clarify the exact effects and underlying mechanisms of alopecia, cutaneous atrophy and calcinosis cutis in dogs with HAC, more extensive studies are needed in the future.

INTRODUKTION

Hyperadrenokorticism (HAC) - eller Cushing's syndrom - är en av de vanligast förekommande endokrina sjukdomarna på medelålders till äldre hundar (Behrend & Kemppainen, 2001; Rosol & Gröne, 2016, s. 346). Sjukdomen medför en kronisk exponering av för höga nivåer cirkulerande glukokortikoider i blodet, framförallt kortisol. Det är i huvudsak tre bakomliggande etiologier som står för utvecklandet av HAC; nybildning i hypofysen, nybildning i binjurebarken och iatrogen genom behandling av glukokortikoider på grund av annan underliggande sjukdom. Den humana formen av sjukdomen beskrevs första gången år 1932, av Dr. Harvey Cushing (Behrend, 2015, s. 378).

De symptom som kan uppträda vid sjukdomen är många (Behrend *et al.*, 2013). De mest karaktäristiska kliniska symptomen för HAC är polyuri, polydipsi, uppsvälld buk och alopeci (Ling *et al.*, 1979). Bland symptomen förekommer flertalet kutana lesioner hos sjuka hundar, däribland alopeci (håravfall, ofta bilateralt och symmetriskt på bålen), hyperpigmentering, calcinosis cutis, kutan atrofi (förtunnad hud), komedoner samt sekundära bakterie- eller svampinfektioner och demodikos. De kutana förändringarna är ofta de första, de mest dramatiska och ibland de enda synliga tecknen på sjukdomen, och utgör således en viktig markör både för djurägare – i upptäckandet av sjukdomen – och för veterinären – i ställande av diagnos (White *et al.*, 1989).

Syftet med denna litteraturstudie är att redogöra för patogenesen vid HAC hos hund, och klargöra bakgrunden till några av de kutana lesioner som kan ses vid sjukdomen. Vad karaktäriserar hudlesionerna, med fokus på alopeci, kutan atrofi och calcinosis cutis, och hur väl utredda är de bakomliggande verkningsmekanismerna?

MATERIAL OCH METOD

Litteratursökningen har främst skett i databaserna Web of science, Primo, PubMed och Google Scholar, under februari månad 2017. Sökord som använts är; (hyperadrenocorticism or cushing* or HAC or PDH or hyperglucocorticoidism or glucocorticoid* or corticosteroid*) AND (dog* or canine*) AND (alopecia or hair loss) AND (hair cycle or hair growth) AND (cutan atrophy or atrophy or skin or dermis or cutan*) AND (calcinosis cutis or mineralization* or calcification*) AND (etiology or pathogenesis or effect* or mechanism of action*). Dessa har använts i olika kombinationer för att hitta lämpliga artiklar. I funna artiklars referenslistor hittades ytterligare adekvata artiklar. Även veterinärmedicisk facklitteratur har använts inom ämnena endokrinologi, fysiologi, histologi och biokemi.

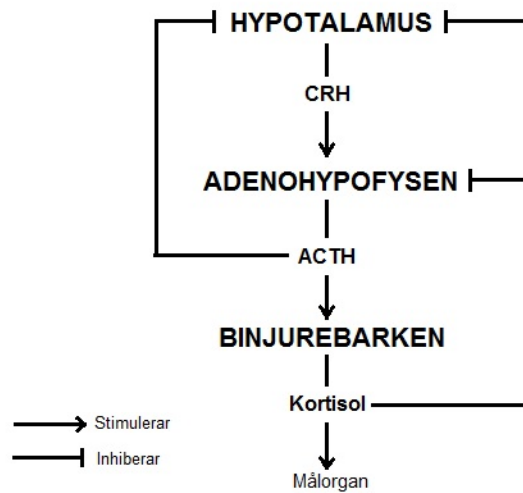
LITTERATURÖVERSIKT

Binjurarnas fysiologi

De två binjurarna är endokrina (hormonproducerande) organ belägna kranio medialt om respektive njure. Binjurarna består av en yttre bark (cortex) och en inre märg (medulla). Cortex utgör ca 90 % av binjurens totala massa och består av tre lager: zona glomerulosa (yttersta lagret), zona fasciculata (mellersta lagret) och zona reticularis (innersta lagret). I binjurebarken produceras steroidhormoner utifrån kolesterol, och varje zon ansvarar i första hand för bildandet av en typ av hormon (Sjaastad *et al.*, 2010, ss. 243-244).

- *Zona glomerulosa* producerar i huvudsak mineralkortikoider, som spelar en viktig roll för kroppens elektrolyt- och vätskebalans. Aldosteron utgör det främsta hormonet (Sjaastad *et al.*, 2010, ss. 244-246). Zona glomerulosa utgör ca 15 % av cortex (Rosol & Gröne, 2016, s. 336).
- *Zona fasciculata* producerar i huvudsak glukokortikoider (Sjaastad *et al.*, 2010, ss. 247-248). Glukokortikoider påverkar ämnesomsättningen genom katabola effekter på glukos-, protein- och fettmetabolismen. De har även anti-inflammatoriska effekter i kroppen (Rosol & Gröne, 2016, s. 346). Den viktigaste glukokortikoiden hos däggdjur är kortisol (Sjaastad *et al.*, 2010, ss. 247-248). Zona fasciculata utgör ca 70 % av cortex (Rosol & Gröne, 2016, s. 336).
- *Zona reticularis* producerar i huvudsak könshormoner. Könshormonerna utgörs främst av androgener, som liknar testosteron i sin biologiska aktivitet. De viktigaste är dehydroepiandrosteron och androstenedion. Androgenerna från binjurarna är inte lika fysiologiskt potenta som testosteron och måste omvandlas till testosteron i målorganen. Även små mängder av progesteron och östrogen syntetiseras (Sjaastad *et al.*, 2010, s. 248). Zona reticularis utgör ca 15 % av cortex (Rosol & Gröne, 2016, s. 336).

Sekretionen av kortisol, och till viss del även sekretionen av aldosteron och androgener, styrs av hypotalamus (Sjaastad *et al.*, 2010, s. 247; Behrend, 2015, s. 379). Hypotalamus utsöndrar kortikotropinfrisättande hormon (corticotropin releasing hormone, CRH) som stimulerar adenohipofysen att frisätta adrenokortikotropiskt hormon (adrenocorticotropic hormone, ACTH). ACTH stimulerar i sin tur binjurebarken att syntetisera och utsöndra kortisol. Sekretionen av kortisol regleras sedan via negativ feedback, dels av kortisol men även av ACTH. Kortisol genom inhibering av hypotalamus och adenohipofysens sekretion av CRH respektive ACTH, och ACTH genom inhibering av CRH-utsöndring från hypotalamus (se Figur 1). Utsöndringen av ACTH sker rytmiskt. På människa har en topp av ACTH-nivåer kunnat påvisas tidigt på morgonen, dock har ingen dygnsrytm kunnat säkerställas hos hund (Behrend, 2015, ss. 378-379).



Figur 1. Schematisk bild över kroppens reglering av kortisol. Bilden är konstruerad efter inspiration från en figur i kapitlet *Canine Hyperadrenokorticism* av Behrend (2015) i *Canine and Feline Endocrinology*, Feldman et al. (red).

Hyperadrenokorticism

Hyperadrenokorticism (HAC) är ett tillstånd med kroniskt förhöjda halter av glukokortikoider i blodet (som tidigare nämnt, även kallat Cushing's syndrom) (Behrend, 2015, s. 378). Sjukdomen kan ha flera olika bakomliggande orsaker, och delas grovt in i endogen HAC och iatrogen HAC (Scott, 1979). Den vanligaste orsaken till endogen HAC hos hund är ett *ACTH-producerande hypofysadenom* (pituitary-dependent hyperadrenocorticism, PDH) (Behrend, 2015, ss. 378, 381), som utgör ca 80-85 % av fallen (Feldman, 1983a, 1983b). Neoplasin kan antingen utgå från pars distalis, vilket är orsaken i ca 71-80 % av fallen, eller pars intermedia (Behrend, 2015, s. 381). Överproduktion av ACTH leder till en bilateral binjurebarkshypertrofi och -hyperplasi (Rosol & Gröne, 2016, s. 346). Den näst vanligaste orsaken till endogen HAC är en *autonom binjurebarksneoplasi* (adrenocorticol tumors, AT), som utsöndrar överdrivna mängder kortisol oberoende av hypofyskontroll. De kortisolutsöndrande neoplasierna kan utgöra antingen adenom eller carcinom, och ofta är neoplasin unilateral. Bilateral binjurebarksneoplasier förekommer, men är mindre vanligt. På grund av negativ feedback av de höga nivåerna kortisol i blodet fås en minskning i cirkulerande CRH och ACTH som resulterar i en atrofi av den kontralaterala binjurebarken (Behrend, 2015, ss. 378, 383, 384). *Iatrogen HAC* kan ses till följd av daglig behandling av glukokortikoider under en längre tid, vid behandling av andra sjukdomar (Rosol & Gröne, 2016, s. 346). Glukokortikoiderna kan då antingen ha givits systemiskt (oralt eller via injektion), vilket utgör den vanligaste orsaken till iatrogen HAC, eller applicerats topiskt på huden (Gross et al., 2005, s. 484).

Förutom ovan nämnda orsaker till HAC hos hund förekommer även två andra, mindre vanliga, orsaker; (1) Ektopisk ACTH-sekretion (icke-hypofysär ACTH-sekretion, på grund av en tumör som syntetiserar och utsöndrar ACTH) och (2) matrelaterad kortisolutsöndring. Hos människa kan även hypofyshyperplasi med sekundär binjurebarkshyperplasi, på grund av störning i hypothalamus som leder till överskott av CRH-sekretion, förekomma. En form som dock är mycket sällsynt och ej ännu rapporterats på hund och katt (Behrend, 2015, s. 378).

Kända predisponerande faktorer

I en studie av Ling *et al.* (1979) påvisades en statistiskt säkerställd predisponering för HAC hos raserna pudel, tax och boxer. I en nyligen utförd studie av O'Neill *et al.* (2016) visades en ökad risk hos raserna bichon frisé, tax och yorkshireterrier. I sin helhet föreligger ingen signifikant skillnad mellan förekomsten av HAC mellan renras- och blandrashundar (Bellumori *et al.*, 2013; O'Neill *et al.*, 2016). HAC är en sjukdom som främst drabbar medelålders till äldre hundar. Huvuddelen av hundarna är sex år eller äldre när de diagnostiseras med HAC (Ling *et al.*, 1979) och medelåldern varierar mellan olika studier. White *et al.* (1989) påvisade en medelålder på 8,6 år, medan studier utförda av Ling *et al.* (1979) och Bellumori *et al.* (2013) konstaterade en något högre medelålder; 10,1 år respektive 10,6 år. I en sammanställning av Behrend (2015) framförs att medelåldern för hundarna med PDH är 8,6-11,7 år, och att medelåldern för hundar med AT tenderar att vara något högre. Vidare framlägger Behrend (2015) att en könspreponering statistiskt inte kunnat bevisas, men att andelen honor med HAC tenderar att ligga något högre än hanar (63-76 % efter sammanställning från olika studier). De har också noterat en tendens att PDH förekommer oftare hos mindre hundraser, och AT hos större.

Symptom

Kliniska symptom som uppträder vid HAC varierar mellan patienter – både i antal och i hur kraftiga symptomen är (Behrend, 2015, s. 386). Symptomen skiljer sig dock inte så mycket mellan de olika formerna av HAC (Behrend & Kempainen, 2001), och uppstår främst som en följd av de onormalt höga kortisolnivåerna. I och med glukokortikoiders katabola effekt på glukos-, fett- och proteinmetabolismen samt dess anti-inflammatoriska effekt ses funktionella störningar och lesioner på många organ och organsystem (Rosol & Gröne, 2016, s. 346). I en litteraturstudie av Behrend *et al.* (2013) har en sammanställning gjorts över de symptom som hundar med HAC kan uppvisa. De vanligaste symptomen som anges är bland annat polyuri, polydipsi, polyfagi, endokrin alopeci och uppsvälld buk (se Tabell 1). Misstanke om HAC hos hund baseras främst på närvaro av ett eller flera utav de vanliga kliniska symptomen. Föreligger enbart ett kliniskt symptom är det oftast polyuri/polydipsi som ses, eller kutan förändring kopplad till endokrin patologi, som alopeci (Behrend *et al.*, 2013).

*Tabell 1. Sammanställning av symptom vid HAC hos hund, ordnade efter dess förekomst. Tabellen baseras på delar av tabeller från artikeln *Diagnosis of Spontaneous Canine Hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM Consensus Statement (Small Animal)* av Behrend *et al.* (2013) samt ur kapitlet *Canine Hyperadrenocorticism* av Behrend (2015) i *Canine and Feline Endocrinology*, Feldman *et al.* (red)*

Vanliga symptom	Mindre vanliga symptom	Mer ovanliga symptom
Polydipsi/polyuri	Slöhet	Tromboembolism
Polyfagi	Hyperpigmentering	Ruptur av ligament
Flåsningar	Komedoner	Ansiktsförflamning
Uppsvälld buk	Förtunnad hud	Pseudomyotoni
Endokrin alopeci	Dålig återväxt av hår	Testikelatrofi
Hepatomegali	Urinläckage	Persisterande anöstrus
Muskelsvaghet/muskelatrofi	Insulin-resistent diabetes melitus	Calcinosis cutis
Systemisk hypertension	Pyodermi	

Kutana lesioner kopplat till hyperadrenokorticism

De kutana förändringarna som kan ses vid HAC är många (Behrend *et al.*, 2013; White *et al.*, 1989) och varierar från fall till fall. Förändringarna kan associeras med hårfolliklar, hudens tjocklek, pigmentering och sekundära hudinfektioner. Kliniska symptom som omfattar hudlesioner har rapporterats i olika utsträckning i olika studier – mellan 65-90 % av hundar med HAC i en sammanställning av White *et al.* (1989). Lesionerna orsakar generellt ingen klåda hos drabbade individer (Rosychuk, 1998).

Den vanligaste kutana förändringen hos hundar med HAC är alopeci, som oftast uppstår bilateralt på bålen. Hyperpigmentering, kutan atrofi, komedoner och calcinosis cutis är andra kutana lesioner vars förekomst associeras med HAC (White *et al.*, 1989). De första synliga kutana förändringarna är torr hud, som kan fjälla, bli tunn och förlora spänst (hypotonisk), och torr päls. Vidare tenderar pälsen att bli ljusare i färgen och hårstrånas kvalitet ändras till att bli antingen tunnare eller grövre mot det normala. En ökad tendens att få blåmärken kan också ses (Rosychuk, 1998). HAC predisponerar även för sekundära infektioner i huden, som pyodermi, demodikos och dermatofytos (White *et al.*, 1989; Rosychuk, 1998).

Alopeci

Patogenesen bakom icke-inflammatorisk alopeci är oklar. Åkomman är ett vanligt förekommande problem hos hundar, och kopplas samman med flertalet olika endokrina sjukdomar så som hyperadrenokorticism, alopecia X, hypotyreos och hyperöstrogenism (Müntener *et al.*, 2012). För hundar med HAC uppstår alopecin ofta först i områden där mekaniskt slitage sker, men allt eftersom blir alopecin mer symmetrisk och drabbar främst bålen. Områden som huvud och extremiteter är ofta skonade (Rosychuk, 1998). Andelen hundar med HAC som uppvisar alopeci är stor – 74 % i en studie av Ling *et al.* (1979) och 75 % i en studie av White *et al.* (1989).

Hårcykeln

En normal hårscykel delas ofta, grovt, in i tre stadier: tillväxtfas då hårstrået växer (anagen), övergångsfas då follikeln förbereder vilofasen (katagen) och vilofas (telogen). En hårscykel kan fortgå olika länge beroende på vilken sorts hårtyp det rör sig om – den anagena fasen blir längre för de hår som naturligt når en längre längd än de med kortare längd. Efter den telogena fasen, när hårstrået har lossnat, går follikeln vidare i anagen fas (Paus & Cotsarelis, 1999). Hårscykeln styrs i nära samspel med såväl epitel som mesenkym, där både inre och yttre faktorer spelar in – bland annat hormoner, tillväxtfaktorer, kön, ålder, genetisk bakgrund och trauma (Müntener *et al.*, 2011). Vissa forskare anser att hårscykeln innehåller ytterligare två faser: exogen och kenogen. Milner *et al.* (2001) benämner exogen som en distinkt fas där hårstrået fälls (shedding phase). Kenogen benämns, av Rebora & Guarrera (2002), som en alternativ fas som hårfollikeln kan gå in i efter telogen, där hårfollikeln är helt tom tills anagen återinitieras (nybildning av ett nytt hårstrå uteblir). Müntener *et al.* (2011) utförde nyligen mer detaljerade histologiska studier på hundar som visade att hundens hårscykel är komplex och att anagen och katagen innehåller flera olika distinkta faser (anagen I-VI, catagen I-VIII).

Glukokortikoiders effekt på hårfolliklarna

Studier har visat att glukokortikoider har negativa effekter på hårfolliklar och hårcykeln genom att de inhiberar den anagena stimulansen och därigenom hämmar initiering av hårfollikels anagena fas (Stenn *et al.*, 1993; Stenn & Paus, 2001). I en studie av Stenn *et al.* (1993) demonstrerades att glukokortikoider som *in vivo* applicerades topikalt på möss blockerade uttrycket av hårstimulerande gener, vilket resulterade i att ett hårstrå inte kunde bildas. Paus *et al.* (1994) visade *in vivo* att dexametason (en glukokortikoid) som applicerats topikalt på ryggen på möss signifikant minskade anagena fasen och inducerade katagen i jämförelse med en obehandlad kontrollgrupp. Vidare sågs, i en studie av Hembree *et al.* (1996), att glukokortikoider *in vitro* inhiberade effekten av insulinliknande tillväxtfaktorer (insulin-like growth factor-1, IGF-1) - som har en stimulerande effekt på hårtillväxt och upprätthållande av anagena fasen. Detta genom att glukokortikoider stimulerade celler i hårfollikelbasen (dermal papilla) att producera stora nivåer av insulinliknande tillväxtfaktorbindande protein-3 (insulin-like growth factor binding proteins-3, IGFBP-3), som band upp fritt IGF-1 och därigenom minskade de tillgängliga stimulerande nivåerna för hårfollikeln (Hembree *et al.*, 1996). Enligt Stenn & Paus (2001) har två studier (Chedid *et al.*, 1994; Lindner *et al.*, 2000) visat att glukokortikoider också hämmar produktionen av keratinocytillväxtfaktor (keratinocyte growth factor, KGF) och hepatocytillväxtfaktor (hepatocyte growth factor, HGF), två signalsubstanser som har visats inducera anagena fasen. Den exakta signalvägen som glukokortikoider verkar på är dock inte klarlagd – det är förmodligen flera mekanismer som spelar in (Stenn & Paus, 2001) – och sammantaget anses hundar med HAC sakna den anagena induktionen (Müntener *et al.*, 2011).

Histopatologi

Hundar med HAC visar histologiskt en atrofi av hårfolliklarna, som resulterar i håravfall då hårstrået inte kan sitta fast som det ska (Behrend, 2015, s. 389). I en studie av Müntener *et al.* (2012) sågs en signifikant minskning av folliklar i anagen och katagen fas hos hundar med HAC i jämförelse med en frisk kontrollgrupp. Vidare sågs en signifikant ökning av antalet folliklar i kenogen fas och folliklar med atrofi och dystrofi. Överdriven trichilemmal keratinisering kunde även ses i hårfolliklarna. Huvuddelen av de atrofiska folliklarna befann sig i kenogen fas, vilket enligt Müntener *et al.* indikerar att atrofien av hårfollikeln sker efter telogen och att stamceller eller progenitorceller och/eller rätt stimuli för bibehållande av normal tillväxt saknas. I studien undersöktes även den histologiska bilden för icke-inflammatorisk alopeci med andra bakomliggande endokrina sjukdomar (alopecia X, recurrent flank alopecia, hyperöstrogenism, hypotyreoos och alopeci av okänd bakomliggande orsak), och det noterades att ovanstående förändringar kunde appliceras på alla hundar med alopeci oavsett bakomliggande orsak (hundar med HAC visade dock mer än dubbelt så mycket trichilemmal keratinisering i hårfolliklarna i jämförelse med de andra hundarna med alopeci). Müntener *et al.* (2012) betonar att möjliga initierade faktorer för de olika hårscyklernas, samt effekterna av kortisol, ACTH och CRH på hårfollikeln, behöver studeras ytterligare för att klargöra den exakta bakomliggande patogenesen för alopeci vid HAC.

Kutan atrofi

Den förtunnade huden som kan ses hos hundar med HAC beror på kutan atrofi, som ofta blir mer framträdande i områden kring gamla ärr (till exempel operationsärr från ovariehysterektomi) (Rosychuk, 1998) och runt navelregionen. Vidare kan huden förlora sin elasticitet och uppvisa sämre sårhäkning (Gross *et al.*, 2005, s. 485), med skör och tunn ärrvävnad som följd (Behrend, 2015, s. 390). Epidermal atrofi förekommer hos 30 % av hundar med HAC, enligt en studie av White *et al.* (1989). Ca 13,5 % av hundarna i studien uppvisade även en påtagligt synlig förtunnad hud.

Hudens uppbyggnad

Huden består av tre lager; epidermis (överhud), dermis (läderhud) och subcutis (underhud). Epidermis utgör det tunnaste skiktet och består till huvuddel av keratinocyter, som syntetiserar keratin som utgör ett viktigt skydd för huden. Dermis utgör hudens bredaste skikt och består till största delen av elastisk bindväv men även hårfolliklar, svettkörtlar och lymf- och blodkärl (Sjaastad *et al.*, 2010, ss. 641, 643). Fibroblaster är den vanligaste celltypen i bindväv och utgör en ledande roll i upprätthållandet av bindvävens extracellulära beståndsdelar, genom att producera kollagen och elastin (som är med i bildandet av fibrer), glukosaminoglukaner och andra glukoproteiner som är viktiga i uppbyggandet av bindväven. Fibroblasternas celltillväxt och differentiering regleras av tillväxtfaktorer (Mescher & Junqueira, 2013, s. 99). Subcutis utgörs främst av fettvävnad och separerar huden från underliggande vävnad (Sjaastad *et al.*, 2010, s. 643).

Glukokortikoiders effekt på huden

Studier har visat att det framför allt är glukokortikoiders effekter på kutan celltillväxt och proteinsyntes som bär det huvudsakliga ansvaret för hudatrofi (Schäcke *et al.*, 2002). Glukokortikoider har visat sig hämma fibroblasters tillväxt och proliferation (Berliner *et al.*, 1967; Särnstrand *et al.*, 1982). Studier har även påvisat en inhibering av deras produktion av kollagen (Castor & Muirden, 1964), elastin (Russel *et al.*, 1995) och glukosaminoglukaner (Castor, 1962). Även keratinocytens aktivitet har påvisats inhiberas av glukokortikoider (Pérez *et al.*, 2001). Vidare har även en förändring i distributionen och strukturen av proteoglukaner i bindväv setts (Särnstrand *et al.*, 1982).

Flera studier har utförts i syfte att kartlägga de bakomliggande mekanismerna till glukokortikoiders sammantagna bidrag till utvecklandet av kutan atrofi. Glukokortikoider har påvisade effekter på flertalet olika genuttryck i både normal och skadad hud, både genom transaktivering och transrepression - mekanismerna är komplexa (Schäcke *et al.*, 2002). I en studie av Beer *et al.* (1997) har påverkan på trombocytrelaterad tillväxtfaktor (platelet-derived growth factor, PDGF) och PDGF-receptorer (platelet-derived growth factor-receptor, PDGFR) setts. PDGF är en extracellulär signalsubstans som binder in till PDGFR och fungerar både som en tillväxtfaktor och en mitogen på flertalet celler, däribland fibroblaster (Alberts *et al.*, 2010, ss. 373, 645). I *in vitro*-studier utförda av Beer *et al.* (1997) sågs att glukokortikoider dämpade uttrycket av PDGF-A hos fibroblaster och keratinocyter och PDGFR-B hos fibroblaster. *In vivo*-studier på möss påvisade liknande resultat (Beer *et al.*, 1997). Vidare utförde Frank *et al.* (1996) *in vivo*-studier på möss för att bland annat studera

glukokortikoiders effekt på TGF-beta (transforming growth factor β , TGF- β). TGF- β stimulerar bland annat matrixsyntesen, däribland prokollagen (Clark & Coker, 1998) och kollagen typ I-syntesen (Schäcke *et al.*, 2002). Studierna visade att uttrycket av TGF- β 1 och TGF- β 2 i huden minskade hos glukokortikoidbehandlade möss (Frank *et al.*, 1996). Flera studier har även tittat på glukokortikoiders påverkan på kollagen typ I, som utgör den huvudsakliga typen av de kollagena fibrer som finns i huden. Regleringen av kollagen typ I sker genom specifika gener, och efter applicering av glukokortikoider exogent har en minskning av kollagenets syntes kunnat bevisas, genom reglering på både mRNA- och proteinnivå (Schäcke *et al.*, 2002). I en annan studie utförd *in vivo* på människor visades att glukokortikoider, som applicerats exogent på huden, även påverkade syntesen av flertalet lipider i epidermis negativt och sammantaget ledde till en minskning i tjocklek av epidermis och dermis. Minskningen nådde en signifikansnivå efter enbart 3 dagars behandling. Även ökad transepidermal vattenförlust (transepidermal water loss, TEWL) noterades, som innebär att kroppen förlorar vätska på grund av diffusion över epidermis (Kolbe *et al.*, 2001).

Calcinosis cutis

Calcinosis cutis är ett tillstånd då olösliga, oorganiska mineralsalter lagras in i dermis, subcutis eller i epidermis (Doerr *et al.*, 2013). Lesionen kan förekomma vid olika sjukdomstillstånd; bland annat vid hyperadrenokorticism (endogen och iatrogen) (Frazier *et al.*, 1998; Doerr *et al.*, 2013), nedsatt njurfunktion (Doerr *et al.*, 2013), vid behandling av hypoparatyreoidism och sekundärt till kutan svampinfektion (Behrend, 2015, s. 391). Andelen hundar med HAC som uppvisar calcinosis cutis varierar i olika studier; 1,7 % (White *et al.*, 1989), 18 % (Ling *et al.*, 1979) och 40 % (Scott *et al.*, 2001, s. 804), men lesionen brukar ofta klassas som ett sällsynt symptom vid sjukdomen (Behrend *et al.*, 2013) – dock karaktäristiskt om det uppstår (Behrend, 2015, s. 391). Variationen kan bero på hur länge sjukdomen pågått hos hundarna i de olika studiegrupperna (Rosychuk, 1997). I ett tidigt stadie ses ljusa, fasta och nodulära, palperbara och väl avgränsade mindre lesioner i huden (Scott *et al.*, 2001, s. 804), monofokalt eller multifokalt (Doerr *et al.*, 2013). Med tiden blir den överliggande huden röd med ulcerationer (Scott *et al.*, 2001, s. 804). Ulcerationerna i huden beror på att det mineraliserade materialet pressas ut genom epidermis (Gross *et al.*, 2005, s. 374). På hundar med HAC är lesionerna vanligast förekommande på rygg, huvud, i ljumske och extremiteter (Doerr *et al.*, 2013). Calcinosis cutis förekommer oftare vid iatrogen HAC än vid endogen HAC – och stora raser är statistiskt signifikant predisponerade för lesionen (Doerr *et al.*, 2013).

Indelning av calcinosis cutis

Calcinosis cutis delas vanligtvis in i fyra olika huvudtyper, utifrån den ursprungliga orsaken till lesionen; dystrofisk förkalkning, metastatisk förkalkning, idiopatiskt förkalkning eller iatrogen förkalkning (Walsh & Fairley, 1995). Hundar med iatrogen eller endogen HAC uppvisar dystrofisk förkalkning (Doerr *et al.*, 2013), som även utgör den vanligaste typen av kutan förkalkning. Vid dystrofisk förkalkning förefaller ofta serumnivåerna av kalcium och fosfat normala, och mineraliseringen sker ofta till följd av vävnadsskada eller andra avvikelser i vävnaden (Walsh & Fairley, 1995).

Patogenes

Mineralutfällningen vid calcinosis cutis involverar vanligast de kollagena och elastiska (elastin) fibrerna i dermis (Fartasch *et al.*, 1990), vilket tros beror på sekundära förändringar i deras proteinstruktur som utgör attraktiva inbindningsställen för mineralisering (Scott *et al.*, 2001, s. 789). Även andra avvikelser i vävnaden, som till exempel förändring i subkutant fett, har visats leda till kalciumutfällning (Walsh & Fairley, 1995). Patogenesen för calcinosis cutis är inte utredd (Doerr *et al.*, 2013). En tänkbar bakomliggande orsak tros vara onormalt höga mitokondriella kalciumnivåer som resulterar i kristallutfällning och vidare nekros av cellen. De ökade kalciumnivåerna kan bero på ett ökat kalciuminflux på grund av vävnadsskada (Walsh & Fairley, 1995). Ramsey *et al.* (2005) framlägger att en av orsakerna till calcinosis cutis hos hund med HAC kan vara ökade koncentrationer av paratyreoideahormon (PTH). Studien visar att hundar med HAC hade signifikant ($P < 0,001$) högre koncentrationer av PTH än vad den friska kontrollgruppen hade. 92 % av hundarna med HAC hade PTH-nivåer över det lagda referensvärdet (10-60 pg/ml), vidare hade 34 % PTH-nivåer som låg tre gånger högre än det övre referensvärdet. Den bakomliggande orsaken till de förhöjda nivåerna PTH är okänd, och Ramsey *et al.* (2005) kallar fenomenet ”sekundär adrenal hyperparatyreos” (adrenal secondary hyperparathyroidism). Författarna framlägger fyra möjliga hypotetiska orsaker till de förhöjda nivåerna PTH; en negativ kalciumbalans, ökade fosfatnivåer, direkt stimulering via kortisol och/eller förändrad D-vitaminmetabolism (Ramsey *et al.*, 2005). Utvecklingen av calcinosis cutis hos däggdjur till följd av HAC har enbart kunnat ses hos hund och chinchilla (Tisjlar *et al.*, 2002; Doerr *et al.*, 2013)

Det har diskuterats huruvida det mineraliserade materialet som uppstår vid calcinosis cutis kan ossifieras. Frazier *et al.* (1998) kunde konstatera att kronisk inflammation i huden till följd av långt gången calcinosis cutis kunde leda till kutan ossifikation, efter studier på två hundar med iatrogen HAC efter glukokortikoidbehandling på grund av kroniskt dermatit. Författarna visade även att kutan ossifikation kunde uppstå helt utan relation till calcinosis cutis hos hundarna.

Histopatologi

Statistiskt har eventuella korrelationer mellan formen HAC (iatrogen eller endogen) och histologiska fynd inte kunnat påvisas. Den histologiska bilden vid calcinosis cutis karaktäriseras av diffusa eller multinodulära, multifokala eller monofokala, mineraliseringar utbredda i antingen en eller flera delar av hudens ingående skikt (Doerr *et al.*, 2013). Förändringarna som förekommer i dermis brukar kännetecknas av mineralisering utav de kollagena fibrerna, och ofta kan epidermis uppvisa akantos (hyperplasi av stratum spinosum i epidermis) och i vissa fall ulcerationer (Scott *et al.*, 2001, s. 375). Runt mineraliseringarna kan en mild till måttlig fibros ofta urskiljas, även pågående inflammation – som troligen kan resultera i epidermal hyperplasi (Doerr *et al.*, 2013). I en histologisk studie utförd av Doerr *et al.* (2013) kunde även kutan ossifikation påvisas hos 9 av de 36 hundarna med HAC (iatrogen och endogen) som uppvisade calcinosis cutis.

DISKUSSION

HAC hos hund är en komplex sjukdom med en bred symptombild som kan variera från fall till fall. De kutana lesionerna som kan ses är många, och utgör ofta viktiga markörer för misstanke om sjukdomen (Behrend *et al.*, 2013; White *et al.*, 1989). Då HAC beskrevs redan 1932 är många utav de studier som är gjorda i området gamla, och tillgången på nyare studier utförda på hundar med HAC är begränsad. De patologiska förändringarna vid sjukdomen är likväl beskrivna och definierade. Syftet med denna litteraturstudie var att kartlägga de kutana lesionerna alopeci, kutan atrofi och calcinosis cutis – tre klassiska lesioner som kan ses vid sjukdomen (Ling *et al.*, 1979; White *et al.*, 1989; Behrend, 2015, s. 391) – och redogöra för vad som karaktäriserar dem samt vidare undersöka hur väl utredda de bakomliggande verkningsmekanismerna för respektive lesion är.

Alopeci utgör den vanligast förekommande hudförändringen kopplad till HAC enligt flera studier (Ling *et al.*, 1979; White *et al.*, 1989), och förekommer även vid flertalet andra endokrina sjukdomar (Müntener *et al.*, 2012). Trots detta är den bakomliggande verkningsmekanismen inte helt utredd. Flera *in vivo*-studier på möss har visat att topiskt applicerade glukokortikoider leder till alopeci någon vecka efter applicering (Stenn *et al.*, 1993; Paus *et al.*, 1994). Teorin bakom detta är bland annat att glukokortikoider hämmar initieringen av anagena fasen genom att blockera uttrycket av hårstimulerande gener (Stenn *et al.*, 1993) samt att de har en förmåga att inducera katagen (Paus *et al.*, 1994). Forskare har bland annat förklarat ovanstående genom att visa på glukokortikoiders påverkan på vissa viktiga signalsubstanser för hårtillväxt – som IGF-1, HGF och KGF (Hembree *et al.*, 1996; Stenn & Paus, 2001). Dock saknas det liknande studier på hund. I en studie av Müntener *et al.* (2012) visades att huvuddelen av de atrofiska hårfolliklarna som kunde ses hos hundar med HAC befann sig i kenogen fas, som enligt författarna indikerar att atrofien av hårfollikeln sker efter telogen och att stamceller eller progenitorceller och/eller rätt stimuli för bibehållande av normal tillväxt saknas. Framtida studier krävs för att få svar på bakomliggande orsaker till detta. I dagsläget finns det, mig veterligen, inga studier utförda som mer ingående studerat mekanismer till alopeci kopplat till HAC. De studier som finns i nuläget är baserade på biverkningar av glukokortikoider som läkemedel, som dessutom applicerats kutant. Att människor med HAC inte uppvisar alopeci kan vara en tänkbar orsak till att det inte finns så många studier gjorda inom området. Fler studier med syfte att kartlägga de stimuli som styr de olika hårscykelfaserna hade varit av intresse, för att sedan kunna gå in djupare på exakt vilka vägar som glukokortikoider vid HAC verkar på i utvecklandet av alopeci. Något som ytterligare kan försvåra klargörandet av dess verkningsmekanismer är det faktum att det idag inte råder en allmänt vedertagen hårscykelmodell på hund, då vissa forskare enbart benämner hårscykelns faser som anagen, katagen och telogen utan att räkna in kenogen som en egen fas.

Kutan atrofi har studerats i större utsträckning, och ett antal bakomliggande orsaker har kunnat läggas fram. Glukokortikoiders hämmande effekt av hudstimulerande signalsubstanser har visat sig vara viktiga (Beer *et al.*, 1997; Schäcke *et al.*, 2002; Frank *et al.*, 1996) och dess sammanlagda effekter på fibroblaster (Berliner *et al.*, 1967; Särnstrand *et al.*, 1982). Sammantaget är det flera bakomliggande effekter som leder fram till den kutana atrofien. Mycket om forskningen kring hurvida glukokortikoider påverkar kutan atrofi har utförts på *in*

vivo på möss och människor, samt *in vitro* på specifika stammar av fibroblaster - ingen utav studierna har omfattat hundar specifikt, och de är främst framtagna för att studera de bakomliggande effekterna för glukokortikoider som topikalt administrerat läkemedel. Även här saknas det således mer applicerbara studier om glukokortikoiders effekter på hundar med HAC. Flertalet studier är även äldre, och det hade varit av intresse med nyare studier inom området.

Calcinosis cutis i samband med HAC förekommer enbart på hund och chinchilla (Tisjar *et al.*, 2002; Doerr *et al.*, 2013), och antalet studier kring tänkbara verkningsmekanismer är få. Calcinosis cutis har utgjort det område där minst antal studier, i syfte att kartlägga bakomliggande mekanismer till utvecklandet, har förekommit. Ramsey *et al.* (2005) har framlagt en intressant teori om att höga PDH-nivåer kan utgöra en ledande roll vid bildandet av mineraliseringarna. Författarna visade att hundar med HAC hade signifikant ökade nivåer PDH i jämförelse med frisk kontrollgrupp. Här hade fler studier inom området varit önskvärt för att kunna klargöra patogenesen bakom dels de ökade PDH-nivåerna men även dess kutana effekter. Huruvida mineraliseringarna som uppstår vid calcinosis cutis kan ossifieras hade också behövt studeras vidare, då studien av Frazier *et al.* (1998) är den enda förekommande som belyst detta fenomen – en studie som enbart omfattade två hundar.

Sammantaget är det troligen flera kombinerade bakomliggande mekanismer som leder fram till de olika lesionerna genomgångna i denna litteraturstudie – några till viss del kartlagda och andra okända. Det råder i dagsläget en brist på studier utförda på hund med HAC. Flertalet studier rör enbart glukokortikoiders bieffekter som läkemedel, vilka dessutom har applicerats topikalt i de utförda *in vivo*-studierna på människor och möss genomgångna i denna litteraturstudie. Då sjukdomen, i en huvuddel av fallen, omfattar endogent förhöjda halter av glukokortikoider hade det dock varit både intressant och relevant med mer djupgående studier. För att kartlägga de exakta effekterna bakom CRH, ACTH och kortisol vid HAC på hund, samt deras inverkan på alopeci, cutan atrofi och calcinosis cutis, fordras således mer forskning i framtiden.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A.D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. (2010). *Essential cell biology*. 3th edition. New York: Garland Science.
- Beer, H-D., Longaker, M.T. & Werner, S. (1997). Reduced expression of PDGF and PDGF receptors during impaired wound healing. *The Journal of Investigative Dermatology*, vol. 109 (2), ss. 132-138.
- Behrend, E.N. (2015). Canine hyperadrenocorticism. In: Feldman, E.C., Nelson, R.W., Reusch, C. & Scott-Moncrieff (red), *Canine and Feline Endocrinology*. 4th edition. Missouri: Saunders. ss. 377-451.
- Behrend, E.N. & Kempainen, R.J. (2001). Diagnosis of canine hyperadrenocorticism. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, vol. 31 (5), ss. 985-1003.
- Behrend, E.N., Kooistra, H.S., Nelson, R., Reusch, C.E., & Scott-Moncrieff, J.C. (2013). Diagnosis of spontaneous canine hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM Consensus Statement (Small Animal). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, vol. 27, ss. 1292-1304.
- Bellumori, T.P., Famula, T.R., Bannasch, D.L., Belanger, J.M. & Oberbauer, A.M. (2013). Prevalence of inherited disorders among mixed-breeds and purebred dogs: 27,254 cases (1995-2010). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, vol. 242 (11), ss. 1549-1555.
- Berliner, D.L., Gallegos, A.J. & Schneebeli, G.L. (1967). Early morphological changes produced by anti-inflammatory steroids on tissue culture fibroblasts. *The Journal of Investigative Dermatology*, vol. 48 (1), ss. 44-49.
- Castor, C.W. (1962). Adrenocorticoid suppression of mucopolysaccharide formation in human connective tissue cell cultures. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, vol. 60 (5), ss. 788-798.
- Castor, C.W. & Muirden K.D. (1964). Collagen formation in monolayer cultures of human fibroblasts – the effects of Hydrocortisone. *Laboratory Investigation*, vol. 13, ss. 560-574.
- Chedid, M., Rubin, J.S., Csaky, K.G. & Aaronson, S.A. (1994). Regulation of keratinocyte growth factor gene expression by interleukin-1. *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 269, ss. 10753-10757.
- Clark, D.A. & Coker, R. (1998). Transforming growth factor-beta (TGF- β). *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, vol. 30, ss. 293-298.
- Doerr, K.A., Outerbridge, C.A., White, S.D., Kass, P.D., Shiraki, R., Lam, A.T. & Affolter V.K. (2013). Calcinosis cutis in dogs: histopathological and clinical analysis of 46 cases. *Veterinary Dermatology*, vol. 24, ss. 355-e79.
- Fartasch, M., Haneke, E. & Hornstein, O.P. (1990). Mineralization of collagen and elastic fibers in superficial dystrophic cutaneous calcification: an ultrastructural study. *Dermatologica*, vol. 181 (3), s. 187-192.
- Feldman, E.C. (1983a). Comparison of ACTH response and dexamethasone suppression as screening tests in canine hyperadrenocorticism, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, vol. 182 (5), ss. 506-510.
- Feldman, E.C. (1983b). Distinguishing dogs with functioning adrenocortical tumors from dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, vol. 183 (2), ss. 195-200.

- Frank, S., Madlener, M. & Werner, S. (1996). Transforming growth factors β 1, β 2 and β 3 and their receptors are differentially regulated during normal and impaired wound healing. *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 271 (17), ss. 10188-10193.
- Frazier, K.S., Hullinger, G.A., Liggett, A.D. & Hines, M.E. (1989). Multiple cutaneous metaplastic ossification associated with iatrogenic hyperglucocorticoidism. *The Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol. 10, ss. 303-307.
- Gross, T.L., Ihrke, P.J., Walder, E.J. & Affolter, V.K. (2005). *Skin diseases of the dog and cat*. 2nd edition. Oxford: Blackwell Science Ltd.
- Hembree, J.R., Harmon, C.S., Nevins, T.D. & Eckert, R.L. (1996). Regulation of human dermal papilla cell production of insulin-like growth factor binding protein-3 by retinoid acid, Glucocorticoids, and insulin-like growth factor-1. *Journal of Cellular Physiology*, vol. 167, ss. 556-561.
- Kolbe, L., Kligman, A.M., Schreiner, V. & Stoudemayer, T. (2001). Corticosteroid-induced atrophy and barrier impairment measured by non-invasive methods in human skin. *Skin Research and Technology*, vol. 7, ss. 73-77.
- Lindner, G., Menrad, A., Gharadi, E., Merlino, G., Welkes, P., Handjiski, B., Roloff, B. & Paus, R. (2000). Involvement of hepatocyte growth factor/scatter factor and MCF receptor signalling in hair follicle morphogenesis and cycling. *The FASEB Journal*, vol. 14, ss. 319-332.
- Ling, G.V., Stabenfeldt, G.H., Comer, K.M., Gribble, D.H. & Schechter, R.D. (1979). Canine hyperadrenocorticism: pretreatment clinical and laboratory evaluation of 117 cases. *The Journal of American Veterinary Medical Association*, vol. 174 (11), ss. 1211-1215.
- Mescher, A.L. & Junqueira, L.C.U. (2013). *Junqueira's basic histology: text and atlas*. 13th ed. New York: McGraw-Hill Education.
- Milner, Y., Sudnik, J., Filippi, M., Kizoulis, M., Kashgarian, M. & Stenn, K. (2001). Exogen, shedding phase of the hair growth cycle: characterization of a mouse model. *The Journal of Investigative Dermatology*, vol. 119 (3), ss. 639-644.
- Müntener, T., Doherr, M.G., Guscetti, F., Suter, M.M. & Welle, M.M. (2011). The canine hair cycle – a guide for the assessment of morphological and immunohistochemical criteria. *Veterinary Dermatology*, vol. 22, ss. 383-395.
- Müntener, T., Schuepbach-Regula, G., Frank, L., Rüfenacht, S. & Welle, M.M. (2012). Canine noninflammatory alopecia: a comprehensive evaluation of common and sidistinguishing histological characteristics. *Veterinary Dermatology*, vol. 23, ss. 206-e44.
- O'Neill, D.G., Scudder, C., Faire, J.M., Church, D.B., McGreevy, P.D., Thomson, P.C. & Brodbelt. (2016). Epidemiology of hyperadrenocorticism among 210,824 dogs attending primary-care veterinary practices in the UK from 2009 to 2014. *Journal of Small Animal Practice*, vol. 57, ss. 365-373.
- Paus, R. & Cotsarelis, G. (1999). The biology of hair follicles. *The New England Journal of Medicine*, vol. 341 (7), ss. 491-497.
- Paus, R., Handjiski, B., Czarnetzki, B.M. & Eichmüller, S. (1994). A murine model for inducing and manipulation hair follicle regression (catagen): effects of Dexamethasone and Cyclosporin A. *The Journal of Investigative Dermatology*, vol. 103 (2), ss. 143-147.
- Pérez, P., Page, A., Brano, A., Del Rio, M., Giménez-Conti, I., Budunova, I., Slaga, T. J., & Jorcano, J. L. (2001). Altered skin development and impaired proliferative and inflammatory responses in

- transgenic mice overexpressing the glucocorticoid receptor. *The FASEB Journal*, vol. 15, ss. 2030–2032.
- Ramsey, I.K., Tebb, A., Harris, E., Evans, H. & Herrtage, M.E. (2005). Hyperparathyroidism in dogs with hyperadrenocorticism. *Journal of Small Animal Practice*, vol. 46, ss. 531-536.
- Rebora, A. & Guarrera, M. (2002). Kenogen – a new phase of the hair cycle? *Dermatology*, vol. 205, ss. 108-110.
- Rosol, T.J. & Gröne, A. (2016). Endocrine glands. I: Maxie, G (red), *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 3. 6th edition*. Missouri: Elsevier, ss. 269 -357.
- Rosychuk, R.A.W. (1998). Cutaneous manifestations of endocrine disease in dogs. *Compendium: Continuing Education For Veterinarians*, vol. 20 (3), ss. 287-302.
- Russel, S.B., Trupin, J.S., Kennedy, R.Z., Russel, J.D. & Davidson, M. (1995). Glucocorticoid regulation of elastin synthesis in human fibroblasts: down-regulation in fibroblasts from normal dermis but not from keloids. *The Journal of Investigative Dermatology*, vol. 104 (2), ss. 241-245.
- Schäcke, H., Döcke, W-D. & Asadullah, K. (2002). Mechanisms involved in the side effects of Glucocorticoids. *Pharmacology & Therapeutics*, vol. 96, ss. 23-43.
- Scott, D.W. (1979). Hyperadrenocorticism (hyperadrenocorticoidism, hyperadrenocorticalism, cushing's disease, cushing's syndrome). *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, vol. 9 (1), ss. 3-28.
- Scott, D.W., Miller, W.H. & Griffin, C.E. (2001). *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology*. 6th edition. Pennsylvania: Saunders.
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O., & Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. 2nd edition. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Stenn, K.S. & Paus, R. (2001). Controls of hair follicle cycling. *Physiological Reviews*, vol. 81 (1), ss. 449-494.
- Stenn, K.S., Paus, R., Dutton, T. & Sarba, B. (1993). Glucocorticoid effect on hair growth initiation: a reconsideration. *Skin Pharmacology*, vol. 6 (2), ss. 125-134.
- Särnstrand, B., Brattsand, R. & Malmström, A. (1982). Effect of Glucocorticoids on glycosaminoglycan metabolism in cultured human skin fibroblasts. *The Journal of Investigative Dermatology*, vol. 79 (6), ss. 412-417.
- Tisljar, M., Janic, D., Grabarevic, Z., Simpraga, B., Marinculic, A., Pinter, L., Janicki, Z. & Nemanic, A. (2002). Stress-induced cushing's syndrome in fur-chewing chincillas. *Acta Veterinaria Hungarica*, vol. 50 (2), ss. 133-142.
- Walsh, J.S. & Fairley, J.A. (1995). Calcifying disorders of the skin. *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 33 (5), ss. 693-706.
- White, S.D., Ceragioli, K.L., Bullock, L.P., & Mason, G.D. (1989). Cutaneous markers of canine hyperadrenocorticism. *Compendium: Continuing Education For Veterinarians*, vol. 11 (4), ss. 446-464.