

# **Tollarsjuka hos Nova Scotia Duck Tolling Retriever- en sjukdomsbeskrivning**

**Jennie Axelsson**

**Handledare: Helene Hansson-Hamlin  
Inst. för kliniska vetenskaper, Avd. för kirurgi och medicin, smådjur**

## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Summary	1
Sammanfattning	2
Inledning	3
Syfte	4
Immunmedierad polyartrit, litteraturoversikt	5
Non-erosiv polyartrit	5
Systemisk lupus erythematosus(SLE)	5
SLE-relaterade sjukdomar	7
Canine polyarthritis/polymyositis	7
Polyarthritis/meningitis syndrome	7
Polyarteritis nodosa	8
Myosit	8
Canine polymyositis	8
Idiopatisk polyartrit	8
Erosiv polyartrit	9
Reumatoid artrit (RA)	9
Material och metoder	10
Resultat	14
Ålder och kön	14
Användningsområde/arbetsbelastning	15
Vaccinationsstatus	15
Symtombild	15
Anamnes	15
Klinisk undersökning	16
Blodprovsanalyser	18
Urinprov	21
Röntgen	21
Synovia	21
Obduktion	21
Behandling/Behandlingsresultat	22
Diskussion	23
Tack	30
Litteraturförteckning	31

## **SUMMARY**

In the dog breed Nova Scotia Duck Tolling Retriever (NSDTR) several dogs suffer from joint pain and possibly pain from the muscles. This diffuse disease is called Immune-mediated Non-Erosive Arthritis in Nova Scotia Duck Tolling Retriever.

The disease is most likely of autoimmune nature where the etiology still is unknown. The musculoskeletal symptoms of stiffness and shifting lameness are intermittently seen. Some dogs also have dermatological changes and some dogs suffer from pain when opening their mouth.

The study included 20 diseased and 20 healthy NSDTR. The purpose was to describe immune-mediated arthritis in NSDTR based on symptoms, results of analysis and effect of treatment.

Among the diseased dogs 65% had serum positive for antinuclear antibodies by indirect immunofluorescence (IIF) ANA-test. All the healthy dogs were ANA-negative. The fluorescence-pattern of the ANA-test in the NSDTRs were variable and no connection between symptoms, results of ANA-analysis and effect of treatment were found. The high number of ANA-positive dogs suffering from the disease and the high incidence of musculoskeletal symptoms may confirm that immune mediated arthritis in NSDTR possibly could be an SLE (Systemic Lupus Erythematosus) -related disease.

Hematology, biochemistry and urine analysis were generally normal in both the diseased and the healthy dogs.

Radiological examination, analysis of synovia and post-mortem examination indicates that immune-mediated non-erosive arthritis in NSDTR is an immune-mediated non-erosive arthritis.

The dogs have been treated with NSAID and/or prednisolone. Generally the effect of NSAID was insufficient in relieving the dogs symptoms. Cortisone gave a much better initial effect though it was difficult to evaluate the effects of cortisone in the long term.

In the future it would be interesting to examine joints and synovia from a greater number of dogs suffering from the disease. Also analysis of cytokines and genetic investigations are exiting tools in order to get further information about immune-mediated non-erosive arthritis in NSDTR.

## **SAMMANFATTNING**

Inom rasen Nova Scotia Duck Tolling Retriever drabbas vissa hundar av ett diffust sjukdomstillstånd med smärta från leder och eventuellt muskulatur, vilket ofta kallas för tollarsjuka.

Tollarsjuka har en misstänkt autoimmun karaktär där etiologin fortfarande är okänd. Symtombilden som utgörs av vandrande helta och stelhet uppvisas intermittent. Några hundar har även hudförändringar och problem med att öppna munnen.

Studien innefattar 20 stycken friska hundar av rasen Nova Scotia Duck Tolling Retriever s.k. tollare och 20 stycken sjuka tollare drabbade av misstänkt tollarsjuka. Syftet var att beskriva tollarsjuka utifrån sjukdomsutveckling, provresultat och effekt av insatt behandling.

Det immunologiska s.k. ANA-testet gav positivt utslag hos ca. 65 % av tollarna drabbade av tollarsjuka medan alla friska hundarna var negativa. Detta tillsammans med en symtombild framförallt begränsad till rörelseorganen skulle kunna tala för att tollarsjuka är en s.k. SLE-relaterad sjukdom. Fluorescensmönster som studerats vid ANA-testen hos tollare varierar dock och kan ej kopplas till symtombild, provsvar eller behandlingssvar.

Hematologi, klinisk kemiska blodparametrar samt urinanalyser är generellt normala hos såväl sjuka som friska tollare.

Röntgenundersökning av smärtande leder samt sektionfynd och synovia från en hund indikerar att de tollarsjuka hundarna drabbas av en immunmedierad non-erosiv artrit.

Hundarna har behandlats med NSAID och/eller kortison. Generellt verkar responsen på NSAID vara dålig medan kortisonbehandling ger en bättre effekt initialt.

Analys av IL-6 i serum visar ej skillnad mellan de friska och sjuka hundarna. Fler studier krävs för att ytterligare utveckla diagnostiken vid s.k. tollarsjuka.

I framtiden vore det intressant att studera leder och synovia från ett större antal tollarsjuka hundar samt undersöka förekomst av ytterligare cytokiner i blodet hos hundarna. Genetiska studier av tollarrasen vore ytterligare ett intressant verktyg att tillgå för att bidra till ökad kunskap kring sjukdomen.

## INLEDNING

Inom rasen Nova Scotia Duck Tolling Retriever, s.k. tollare, har sedan flera år allt fler hundar drabbats av ett diffust sjukdomstillstånd med smärta från leder och eventuellt muskulatur som uttrycker sig som stelhet och vandrande hälta. Vissa mycket unga tollare kan även uppvisa tecken på steroid-responsiv meningit med symtom som feber, letargi, eventuellt polyartrit samt kraftig smärta och stelhet från nacken (Redman, 2002). Det är oklart om de två varianterna av symtomkomplex (reumatisk ledvärk respektive meningit) är två olika sjukdomstillstånd eller två varianter av samma sjukdom. I denna studie har ett antal hundar som misstänks vara drabbade av varianten med reumatisk värk och som alltså lider av led och muskelsmärta studerats närmare. Symtombilden liknar systemisk autoimmun reumatisk sjukdom. För att underlätta i texten framöver har vi valt att kalla den reumatiska formen av sjukdomen hos tollare för tollarsjuka.

Autoimmunitet uppstår då immunförsvaret inte känner igen kroppens egna celler utan angriper dessa som om de vore främmande antigen. I liten skala angrips dock naturligt egna celler men då för att exempelvis eliminera skadade och förbrukade celler. Under mognaden i thymus och benmärg sker en strikt kontroll där autoreaktiva celler selekteras och förstörs. Skulle någon cell undkomma selektering hindras denna perifert genom att supprimeras, ej aktiveras eller tvingas gå i apoptos. Själv-antigen skyddas också genom att det göms för immunförsvaret. Brister i kontrollen ofta på flera nivåer, tillåter aktivering av autoreaktiva T och B-lymfocyter vilket kan ge upphov till sjukdom (Day, 1999).

Immunmedierad sjukdom kan uppkomma då olika predisponerande faktorer som arv, ålder, kön och miljö skapar obalans i immunförsvaret. Även andra inflammatoriska tillstånd och behandling med vissa läkemedel skulle kunna vara bidragande. Vissa raser och familjelinjer är mer drabbade av immunmedierade sjukdomar än andra vilket talar för genetisk koppling (Day, 1999). Immunmedierad sjukdom hos människa uppvisar tydlig genetisk predisposition (Båve, 2003). Även enstaka studier hos hund visar på detta (Teichner, 1990).

Man har påvisat en genetisk koppling till autoimmunitet. Defekter i gener som utövar selektionen kan b.l.a. medföra att apoptos uteblir. Ett annat exempel är brist på Ig A vilket ökar mottagligheten för infektion som i sin tur kan orsaka vävnadsskada och därmed exponera själv-antigen. Genom en inflammatorisk process kan autoreaktiva lymfocyter aktiveras och därmed bidra till uppkomsten

av autoimmunitet. Infektionsagens kan dessutom härma själv-antigen och på så sätt bidra till uppkomsten av autoimmunitet (Day, 1999). Autoimmuna sjukdomar uppdelas i organspecifika och systemiska, där Systemisk Lupus Erythematosus (SLE) troligen är den mest kända systemiska sjukdomen. Kunskapen kring systemisk autoimmun sjukdom hos hund är bristande varför diagnoserna ofta begränsas till SLE. Autoimmun systemisk sjukdom hos hund karaktäriseras av muskuloskelettala symtom som stelhet efter vila och smärta vid rörelse. Ofta ses intermittent hälta och artrit som vanligen drabbar flera leder akut eller kroniskt där symtomen kommer och går med varierande intervall (Hansson-Hamlin, 2006). Vid SLE kan även andra symtom förekomma (Day, 1999).

Att diagnosticera systemisk autoimmun sjukdom är idag mycket svårt då den komplexa immunologiska bakgrunden ännu inte är klarlagd. Behovet av metoder för att ställa diagnos är stort men än så länge begränsas den specifika diagnostiken hos hund ofta till s.k. ANA-test där man detekterar antikroppar riktade mot strukturer i cellkärnan. Inom humanmedicinen har man b.l.a. utvecklat metoder för att mäta cytokiner i blodet och hoppas på så sätt finna rubbningar i kommunikationen mellan immunförsvarets celler. Fortfarande är mycket lite av sådana studier utförda på hund.

Sjukdomskomplexet som verkar drabba tollarna finns ej beskrivet i vetenskaplig litteratur och har på senare tid uppmärksammats allt mer av djurägare och veterinärer. År 2003 startades "Tollarprojektet" som är ett forskningsprojekt med avseende att titta närmare på sjukdomskomplexet som man kallar för tollarsjuka.

## **SYFTE**

Syftet med studien var att beskriva s.k. tollarsjuka hos hundrasen Nova Scotia Duck Tolling Retriever. Detta innebar en studie av både sjukdomsutveckling, provresultat och effekt av insatt behandling. Friska tollare fungerade som kontroll vid jämförelse med de sjuka för att ge en säkrare bild för vad som är normalt inom rasen.

Ägarna till hundarna i studien har intervjuats via telefon eller e-post för att komplettera informationen kring sjukdomsutveckling samt följa upp hur insatt behandling fungerat.

För att utöka studierna av tänkbara bakomliggande faktorer till "tollarsjuka" samt för att försöka utveckla de diagnostiska möjligheterna, har i undersökningen även ingått analys av IL-6.

## LITTERATURÖVERSIKT

Immunmedierad polyartrit hos hund definieras som kronisk synovial inflammation som svarar på immunosuppressiv behandling och där man ej finner någon infektiös orsak. Flera sjukdomar med överlappande symtom går under denna benämning och skiljs åt genom kliniska, radiologiska, patologiska och serologiska parametrar (Day, 1999).

### **Non-erosiv polyartrit**

Vid följande sjukdomar finner man vid röntgenundersökning inga erosiva förändringar i leden (Day, 1999). SLE och de SLE-relaterade sjukdomarna är ANA-positiva (Hansson-Hamlin et al. 2006) medan annars flertalet av sjukdomarna är ANA- negativa. Kliniskt kan det vara svårt att skilja de olika non-erosiva polyartrierna åt (Day, 1999).

### ***Systemisk lupus erythematosus, SLE***

SLE är en autoimmun multisystemisk sjukdom som kännetecknas av antinukleära antikroppar. Det har spekulerats i att autoantikropparna direkt skadar cellerna genom en typ II överkänslighetsreaktion, då autoantikroppar binder direkt till cellen som därmed förstörs av immunförsvaret. Detta kan exempelvis orsaka anemi, trombocytopeni eller leukopeni som ibland ses vid SLE. Ibland attackeras basalmembranet i epidermis av antikroppar mot typ VII kollagen som resulterar i blåsor och skador i huden. Ytterligare skada orsakas av en typ III överkänslighetsreaktion där stora mängder bildade immunkomplex ej hinner renas ur cirkulationen utan istället precipiterar i olika vävnader som vaskulärt endotel, glomeruli, synovia och ledkapslar samt epidermis basallager där de skapar inflammation (Kearns, 2003).

Etiologin bakom SLE är mycket komplex och till stora delar okänd där både miljön, genetiska- och hormonella faktorer samt felaktigheter i immunförsvaret kan inverka. Sjukdomen kan drabba alla raser, dock är mellanstora och stora raser överrepresenterade som shetland sheepdog, old english sheepdog, collie, afgahnhund, beagle, schäfer, irländsk setter och pudel. Vanligen drabbas medelålders hundar. Man har ej funnit någon könspredilektion hos hund till skillnad från människa där kvinnor är överrepresenterade. Vid SLE hos människa har man dessutom funnit att individer med autoimmun sjukdom kan tendera att utveckla andra autoimmuna sjukdomar (Kearns, 2003).

Man har konstaterat att genetiska faktorer är bidragande till etiologin och patogenesen hos SLE. Hos människa rapporteras sjukdomen ha

70% incidens hos enäggstvillingar och en förekomst av autoantikroppar hos 33% av nära släktingar till individ med SLE. (Drazner, 1980).

Flera felaktigheter i immunförsvaret hos humana SLE patienter har beskrivits som exempelvis ökad T-cells aktivitet, autoantikroppsproduktion av B-celler och immunkomplexbildning.

Tidigare trodde man på en förekomst av ett Th (T-hjälpar)-2-svar vid SLE med produktion av IL (interleukin)-4,5,6,9,10 och 13. Dock är Th-1-svar vanligast vid de flesta humana autoimmuna sjukdomar. Ett TH-1-svar innebär att dendritiska celler producerar cytokiner som IL-12 och IFN(interferon)-alfa. Th-1 celler ger produktion av IL-2,3, IFN-gamma och IFN-beta. I frånvaro av dessa cytokiner utvecklas ett Th-2 –svar. Vid SLE pratar man numera mer om ett blandat Th1 och Th2-svar än Th2 som man tidigare trott (Båve, 2003).

Den kliniska manifestationen av SLE är väldigt varierande. Symtomen kommer ofta smygande där de flesta hundar uppvisar vandrande hälta. Diffusa tecken på letargi, depression eller inappetens förekommer (Kearns, 2003). I en studie uppvisade 100% av hundarna feber, 90,6% non-erosiv polyartrit, 65,3% njursjukdom, 60% hudlesioner, 49,3% polyadenomegali, 13,3% hemolytisk anemi, 20% leukopeni, 8% polymyosit etc. (Chabanne et. al., 1999). Tidiga tecken på glomerulonefrit kan vara proteinuri, dock krävs biopsi för definitiv diagnos. De dermatologiska förändringarna vid hundens SLE är seborré, erythematösa ulcerationer, hyperkeratösa trampdynor, subcutana noduli och vitiligösa förändringar (Drazner, 1980). Lesionerna kan förekomma varsomhelst på kroppen men tenderar att förekomma främst kring nosen, öronen och inguinalområdet där pälsen är tunnare och fotosensitivering kan bidra till utvecklingen av lesioner. Även lesioner i slemhinnor som i munnen har påträffats. Man har funnit att 50-60 % av hundar med diagnosen SLE har mukocutana lesioner (Olivry et al., 1999).

Då olika kombinationer av symptom förekommer och kombinationen varierar med tiden har man utvecklat klassificeringssystem för att underlätta diagnosticeringen (Kearns, 2003). För SLE hos hund finns flera olika klassificeringssystem anpassade efter kriterier för SLE hos människa, men åsikterna om hur dessa bör användas går isär (Hansson-Hamlin et al. 2006).

Diagnosticeringen av SLE är omfattande då sjukdomen är så komplex. Härvid efterfrågas ett flertal analyser som hematologi för att identifiera anemi, trombocytopeni och eventuellt leukopeni samt biokemiska analyser på serum. Coombs-test kan tillämpas för detektion av autoantikroppar mot erythrocyter i de fall anemi föreligger. Urinanalys kan utföras för kontroll av tecken på eventuell glomerulonefrit eller polymyosit. En hudbiopsi för analys avseende autoantikroppar i epidermis kan vara av intresse (Day, 1999; Kearns,



2003). Ett positivt ANA-test vid upprepade provtagningar talar starkt för systemisk autoimmun sjukdom som SLE eller SLE-relaterad sjukdom. Vid SLE har de antinukleära antikropparna ofta visat sig vara riktade mot cellkärnornas kromosomer och ger ett homogent fluorescens mönster (Hansson-Hamlin et al. 2006).

Vid röntgenundersökning kan man se periartikulärt ökad täthet som indikerar svullnad och ödematös ledkapsel. Ytliga erosioner i lederna kan förekomma men ej deformerande eller destruktiva ledlesjoner (Drazner, 1980). Analys av synovia visar vid SLE tecken på neutrofil-dominerad inflammation (Day, 1999).

### ***SLE-relaterade sjukdomar***

Dessa sjukdomar karaktäriseras huvudsakligen av symtom från leder och/eller muskulatur, mycket likt den reumatiska ledaffektionen som ses vid SLE. Vid dessa sjukdomar är det dock ovanligt med symtom från andra organ. Som nämnts ovan är även SLE-relaterade sjukdomar ANA-positiva, men de antinukleära antikropparna är vanligen riktade mot icke-kromosomala antigen i cellkärnan och ger ett kornigt fluorescensmönster på ANA-testen.

### ***Canine polyarthritis/polymyositis syndrome***

Detta är en inflammatorisk bindvävssjukdom som angriper muskler och leder med kliniska tecken som feber, stelhet, ledsvullnad, ledsmärta, generell lymfadenopati, muskelatrofi, muskelsmärta och muskelkontrakturer. I biopsier från muskler och synovia finner man kronisk aktiv inflammation.

Denna form av non-erosiv polyartrit liknar SLE radiologiskt och immunopatologiskt men skiljer sig genom att vara ANA-negativ.

Resultat av blodanalys kan uppvisa leukocytos och hypergammaglobulinemi (Day, 1999; Bennet, 1987b).

### ***Polyarthritis/meningitis syndrome***

Sjukdomen har påträffats hos b.la. weimaraner, berner sennen, boxer, newfoundlandshund m fl. Man finner symtom på stelhet och smärta från nacken och i vissa fall CNS-symtom. Ibland kan det även förekomma en non-erosiv artrit. Diagnosen ställs genom analys av synovia, ledbiopsi och CSF-prov med tecken på inflammation. Hundarna är ANA-negativa (Day, 1999).

### ***Polyarteritis nodosa***

Polyarteritis nodosa är en multisystemisk sjukdom där polyartrit är vanligt förekommande. Sjukdomen karaktäriseras av nekrotiserande inflammation i små till medelstora artärer vilket ger nodulära aggregat av inflammatoriska celler runt drabbade kärl.

Diagnos ställs genom att man finner polyarterit på biopsi tillsammans med avsaknad av antinukleära antikroppar. Meningit och myosit ses ofta i kombination med artrit. Drabbade hundar uppvisar symtom som feber, depression, stelhet och kraftig smärta från nacken. Problemen uppvisar vanligen cyklisk natur men undantag för persisterande symtom förekommer (Day, 1999).

### ***Myosit***

Inflammatorisk muskelsjukdom är ovanligt hos hund. Den vanligaste formen av myosit som drabbar hund involverar huvudets temporal-, masseter- och pterygoidmuskulatur med följden att hunden har svårt att öppna munnen. Man skiljer på den mer akuta och återkommande eosinofila myositen med eosinofili i blodet och den kroniska progressiva atrofiska formen av myosit (Day, 1999).

### ***Canine polymyositis***

Sjukdomen involverar huvudets-, bålens- och benens muskulatur och drabbar huvudsakligen stora hundraser. Symtomen liknar de vid polyarthrit/polymyositis. Vid muskelbiopsi kan degenerativa förändringar av muskelfibrerna och lymfocytär-plasmacytär infiltration ses. Antinukleära antikroppar och antikroppar mot sarcolemma har påträffats (Day, 1999).

### ***Idiopatisk polyartrit***

Idiopatisk polyartrit uppges vara den vanligaste formen av immunmedierad artrit hos hund och katt och orsakas av överkänslighetsreaktion typ III. Sjukdomen delas upp i fyra kategorier där typ 1 endast ger ledsjukdom. Vid typ 2 finner man ledsjukdom en s.k. reaktiv artrit orsakad av infektiös sjukdom i annat organsystem. Exempel på sådana sjukdomar är tonsillit, sjukdom i respirationsapparaten eller urogenitalia, borrelios, ehrlichios (*Anaplasma*) m.fl. Typ 3 utgörs av ledsjukdom och gastrointestinal sjukdom där ökad permeabilitet för potentiella antigen skulle kunna stimulera bildningen av immunkomplex medan typ 4 utgörs av ledsjukdom och neoplasi där neoplasin ger upphov till ökad immunkomplexbildning. Hundarna uppvisar kliniska tecken som feber, anorexi/inappetens, letargi och symtom från rörelseapparaten som stelhet och håla efter vila eller rörelse, ledsmärta, svullnad, värme eller krepitation. Hundar med idiopatisk polyartrit visar alltså

ofta tecken på systemisk sjukdom. Vid röntgenundersökning ses synovial effusion och inga skelettala förändringar. Blodanalys kan ge både leukocytos, leukopeni och eventuellt förhöjda nivåer av serumglobulin och hundarna är ANA-negativa (Bennett, 1987c).

## **Erosiv polyartrit**

### ***Reumatoid artrit (RA)***

Reumatoid artrit är en erosiv polyartrit med tydliga radiologiska förändringar. Sjukdomen ger symtom på gradvis utveckling av hälta och generell stelhet som är värst efter vila. Vid klinisk undersökning finner man bilateral symmetrisk polyartrit med smärta, svullnad, krepitation och nedsatt rörlighet i drabbade leder. Hundar med RA är vanligen ANA-negativa (Day, 1999).

## **MATERIAL OCH METODER**

### **Patienter**

I studien ingår 20st sjuka tollare med reumatiska symtom och 20st friska tollare. Hundarna är privatägda och huvudsakligen från Sverige (n=38) men även från Norge (n=2).

Hundarna är undersökta och provtagna mellan februari 2002 och juni 2006.

Inklusionskriterier för hundarna med reumatiska symtom som ingår i studien listas nedan. Minst ett alternativ skall vara uppfyllt.

Alt. 1: Ont i flera leder

Alt. 2: Ont i en led samt nacke och/eller rygg

Alt. 3: Ont i en led alt. nacke och/eller rygg samt allmän stelhet

Alt. 4: Ont i käkled med dess muskulatur samt allmän stelhet

Dessutom skall hundarna ha uppvisat symtomen i minst 14 dagar för att inkluderas i studien.

### *Sjuka hundar*

Bland de sjuka hundarna har elva undersökts och provtagits på smådjurskliniken vid SLU i Uppsala av veterinär Helene Hansson-Hamlin. Resterande nio hundar har undersökts och provtagits hos sin lokala veterinär varav två hundar i Norge. Samtliga av dessa veterinärer har haft nära kontakt med Helene Hansson-Hamlin i samband med undersökning, provtagning och eventuell behandling av hundarna. Tollarna har provtagits i samband med primära akuta symtom alternativt vid recidiv av akuta symtom. I ett fall har provtagning skett då hunden varit symptomfri under behandling med kortison.

### *Friska hundar*

De slumpvis utvalda friska kontrollhundarna har undersökts och provtagits på olika veterinärkliniker eller i samband med tollarklubbens träffar av veterinär Helen Hamlin. Ingen av hundarna har diagnosticerats med annan sjukdom.

I detta material kan det ej uteslutas att hundarna är släkt med tollarsjuk hund.

## **Blodprovsanalyser**

### ***Hematologi***

Hematologiska parametrar som undersökts har analyserats avseende hemoglobin (Hb), hematokrit (EVF), totalantal vita blodkroppar (LPK) och trombocyter (TPK) vilket har skett med en automatisk cellräknare Cell-Dyn 3500 (Abott Laboratories, North Chicago, IL, US). Manuella metoder har använts för vissa trombocyträkningar och differentialräkningar. Dessa analyser är utförda vid klinisk kemiska laboratoriet vid SLU, Uppsala.

### ***Serum- och plasma analyser***

Gallsyror, kreatinin, protein, asparat aminotransferas (ASAT) i serum och fibrinogen i plasma har analyserats med Konelab 30 (Konelab Corporation, Espoo, Finland) enligt standardmetoder vid laboratoriet för klinisk kemi, SLU, Uppsala. Elektrofores har gjorts på agarosgel (Sebia Hydrasys LC) och proteinfraktion har delats in i albumin, alfa-1 och 2, beta-1 och 2 samt gamma-globulin med hjälp av laserdensitometer (Sebia Hyrys2, Sebia, Issy-les-Molineaux, France). Analyserna är utförda av klinisk kemiska laboratoriet vid SLU, Uppsala.

### ***Borrelia/Ehrlichia (Anaplasma)***

Bland de sjuka hundarna har serumprov från sju hundar analyserats avseende antikroppar mot *Borrelia burgdoferi* och *Anaplasma phagocytophila* vid SVA (Statens Veterinärmedicinska Anstalt), Uppsala. Analyserna har utförts med hjälp av indirekt immunofluorescens teknik baserat på inhemskt *B. afzelii*-isolat och *E. equi* som antigen för respektive test. En titer på 1/40 räknades som positiv för anaplasma (ehrlichia) medan en titer på 1/80 bedömdes som positiv för borrelia.

### ***IIF-ANA test***

ANA-testet påvisar cirkulerande autoantikroppar i serum. Sedan många år är standardtekniken indirekt immunofluorescens (IIF). Substratet som använts för analyserna är HEp-2-celler (celler från humana odlade epitelcellstumörer) (Immuno Concepts, Sacramento, CA, USA) och har utförts vid klinisk kemiska laboratoriet vid SLU. Ett positivt utslag ger tydlig fluorescens i cellkärnor. Serumprov som överstiger titern 1:100 bedöms som ANA-positivt (Hansson & Karlsson-Parra, 1999). Alla ANA-positiva hundar har provtagits 2 gånger med 2-3 månaders mellanrum. Vid analysen har även kromosomalt (homogen fluorescens) respektive icke-kromosomalt (kornig fluorescens) utslag bedömts.

### ***Urinalanalys***

Urin har analyserats från åtta friska hundar och tio stycken sjuka hundar vid klinisk kemiska laboratoriet vid SLU, Uppsala.

För analys av pH, hemoglobin, glukos och acetonkroppar har Urinstix (Combur-Test, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) använts. Urindensitet mättes med refraktometer och protein analyserades genom precipitation av sulfosalisylsyra. Urinsedimentet bedömdes manuellt i mikroskop.

### ***Röntgen***

Tre av de sjuka hundarna har röntgats vid Inst. för BVF, Avd. för bilddiagnostik och klinisk kemi, SLU. Sex hundar har röntgats hos sin lokala veterinär och resterande elva hundar har ej röntgats.

### ***Synovia***

En hund har undersökts avseende synovia i samband med obduktion. Protein i synovia har analyserats med Konelab 30 (Konelab Corporation, Espoo, Finland). Celler har räknats manuellt. Alla analyser har utförts enligt standardmetoder vid laboratoriet för klinisk kemi, SLU, Uppsala.

### ***Obduktion av de sjuka hundarna.***

En hund har obducerats vid Inst. för BVF, Avd. för patologi, farmakologi och toxikologi, SLU, Uppsala.

### ***IL-6 i serum***

För analysen användes QuantikineR, Canine IL-6 Immunoassay (R&D Systems, Inc. Minneapolis, MN 55413, USA). Quantikine Canine IL-6 Immunoassay är en "solid-phase" ELISA för kvantitativ bestämning av Interleukin 6 koncentrationer hos hund. Serum från 11 st friska hundar och 19 st hundar analyserades. Alla prov testades två gånger. Analysen är utförd vid Institutionen för medicinska vetenskaper vid Akademiska Sjukhuset, Uppsala universitet.

## Telefonintervju

Alla ägare till hundar ingående i studien har blivit kontaktade via telefon eller e-post och ombetts svara på ett antal frågor rörande sin hund. Frågorna som tollarägarna fått svara på ser ut som följande.

- Vaccinationsstatus

Har hunden grundvaccinerats regelbundet mot valpsjuka, parvovirus och hepatit?

Har hunden vaccinerats mot rabies någon gång i livet?

- Arbetsbelastning

Hur har hunden använts (sällskap, lydnad/bruks, jakt)/ har den utsatts för hård eller svag arbetsbelastning?

- Borrelia / Anaplasma (ehrlichia) förekomst

Har hunden provtagits för Borrelia/Ehrlichia? Vad blev resultatet av provtagingen?

- Initiering av "tollarsjuka" (avser ej friska hundar)

Hur betedde sig hunden/vilka symtom uppvisade hunden då den drabbades av tollarsjuka första gången? Kom symtomen plötsligt eller smygande?

- Behandling av "tollarsjuka" (avser ej friska hundar)

Vilken/vilka behandlingar mot "tollarsjuka" har ni rekommenderats av veterinär? Hur har behandlingen fungerat?

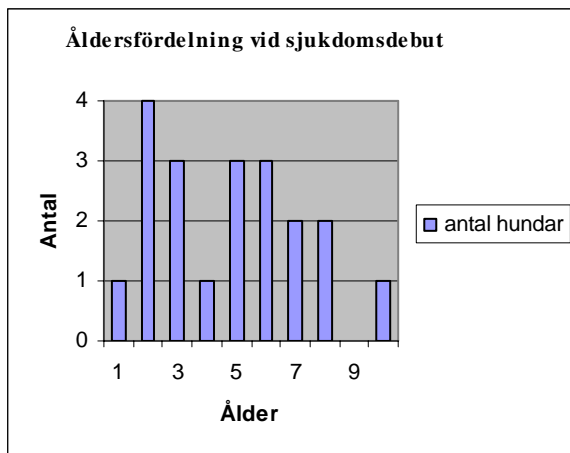
- Hur mår hunden idag?

## RESULTAT

### Ålder och kön

Sjukdomen debuterar i åldrarna 0,5 till 9,5 år där medianåldern är 4,5 år. Endast en hund drabbades vid en ålder under 1 år. Se figur.1  
Könsfördelningen utgörs av 9 st tikar och 11 st hanar.

Bland de slumpvis utvalda friska hundarna är 11 st tikar och 9 st hanar. Åldrarna hos de friska hundarna varierar mellan 0,5 och 11 år där medianåldern är 5,5 år.



Figur 1. Ålder vid sjukdomsdebut hos sjuka tollare.  
Ålderskategorin 1= första levnadsåret (d v s < 1år)  
kategori 2= andra levnadsåret osv.



## **Användningsområde/ arbetsbelastning**

### ***Sjuka hundar***

Av de sjuka hundarna användes innan sjukdomen bröt ut 11 stycken till lugnare arbete, fyra gick i hårdare arbete medan uppgift saknas från fem hundar.

### ***Friska hundar***

Hos de friska hundarna går 12 stycken i regelbundet arbete med högre belastning medan resterande hundar bedöms utsättas för mindre regelbundet arbete med lägre belastning av kroppen.

## **Vaccinationsstatus**

Hos de sjuka hundarna har vaccination mot valpsjuka, parvo och hepatit skett av 18 av de sjuka hundarna. Fyra hundar (1,2,10,20) har dessutom vaccinerats mot rabies. Vaccinationsstatus är okänt hos två av de sjuka hundarna.

På samma vis som de sjuka hundarna har alla friska hundar vaccinerats. Tre friska hundar har vaccinerats mot rabies.

## **Symtombild**

Beskrivningen av symtombilden har skett utifrån den anamnestiska informationen från djurägaren i de sjuka hundarnas journal och via telefonintervju samt journalanteckningar i samband med klinisk undersökning av veterinär.

## **Anamnes**

Alla hundarna lider av hälta, där vandrande hälta beskrivs hos 18 stycken hundar medan två hundar uppvisar hälta från ett ben. De flesta hundarna uppvisar dessutom symtom på stelhet (n=18). Anamnestisk information angående stelhet saknas hos två hundar. Delar av de anamnestiska resultaten redovisas i tabell 1.

Hos elva hundar utvecklas de första symtomen gradvis med stelhet och hälta. Symtomen kommer med plötslig försämring på bara några minuter till timmar hos resterande nio hundar. Problem från bakkdelen som innefattar allt från svaghet i bakkdelen/svårt att resa sig till bakkdelsförlamning har setts hos 13 hundar vid initieringen av sjukdomen.

Hos en hund (4) initieras sjukdomen med plötslig blockhäla som minskar med tiden. Sex hundar beskrivs skrika av smärta vid vissa rörelser. En hund (20) beskrivs drabbas av plötslig nacksmärta med en generellt ökad smärtekänslighet förutom symtomen från rörelseapparaten.

Problem med att öppna käken påträffas hos tre hundar. Se tabell 1.

Hos alla hundarna rapporteras symtomen gå i skov med alltifrån korta intervall till flera månader.

### **Klinisk undersökning**

Allmäntillståndet är nedsatt hos fem hundar (1,7,9,16,20) och utan anmärkning hos tolv hundar. Från tre hundar (12,13,17) saknas uppgifter om klinisk undersökning. Feber har beskrivits endast hos en hund (4). Tre hundar har ett varierande antal förstörade lymfknutor (1,9,14). Vid klinisk undersökning finner man att 14 hundar uppvisar smärta vid provokation och palpation av extremiteternas leder. En hund (2) har behandlats med kortison och visar ej smärta vid undersökning av lederna. Två hundar (14,20) uppvisar smärta vid undersökning av nacken. Utav totalt fyra hundar som uppvisar smärta vid palpation av rygg (4,7,9,18) uppvisar två hundar (7,18) ej smärta vid provokation och palpation av extremiteternas leder. Endast vid undersökningen av två hundar (3,16) har man funnit tecken på muskelsmärta. Hos fem hundar har undersökning av muskulatur ej noteras.

Hos sex hundar förekommer hudförändringar. Dessa uppges vara begränsade till nosrygg och öronlappar och beskrivs som torra krustor. En hund har dessutom ett sår i munslemhinnan (6) och en hund har troligen vitiligo (3). Se tabell 1.

Tabell 1. Symtom och behandlingsöversikt samt ANA-profil hos tollarsjuka hundar

Hund	Hälta	Stel	Hud-probl	Käk-smärta	ANA	ANA-typ	Kort.	NSAID
1	Flera ben	ja			pos.	K	bra	ej
2	Flera ben	ja		ja	neg.		bra	ej
3	Flera ben	ja	ja		pos.	H	bra	-
4	Ett ben	-			pos.	K	bra	-
5	Flera ben	ja	ja		neg.		bra	ej
6	Flera ben	ja	ja		pos.	H	-	bra
7	Flera ben	ja			pos.	H	-	ej
8	Ett ben	ja			neg.		-	bra
9	Flera ben	ja			pos.	K	bra	ej
10	Flera ben	ja			pos.	K	bra	-
11	Flera ben	ja	ja	ja	pos.	K	bra	-
12	Flera ben	ja			pos.	H	-	X
13	Flera ben	ja			pos.	H	bra	-
14	Flera ben	ja	ja		pos.	H	bra	X
15	Flera ben	ja	ja		pos.	K	bra	X
16	Flera ben	ja			neg.		bra	-
17	Flera ben	ja		ja	pos.	K	bra	X
18	Flera ben	ja			neg.		-	bra
19	Flera ben	nej			neg.		ej	X
20	Flera ben	ja			neg.		bra	ej

*Stel=stelhet ANA-typ=ANA-mönster H=homogent, K=kornigt, Kort.=kortison, Hudprobl.=hudproblem, bra=svarat på behandling initialt, X=lindrig förbättring på behandling, ej=ej svarat alls på behandling -=uppgift saknas*

## Blodprovsanalyser

### *Hematologi*

Hb-värdet som analyserats hos 17 av de 20 sjuka hundarna var hos alla normalt. Hos alla friska hundar har Hb-värdet analyserats. En hund hade en lindrig sänkning av de röda blodkropparna medan övriga hundar hade normala värden. Blodprovssvar från hundarna finns beskrivna i tabell 2 och 3.

Vita blodbilden var i stort sett normal hos både de sjuka och friska hundarna med några små avvikelser som bedömdes sakna betydelse.

Sänkta trombocytvärden har påvisats hos en sjuk och fyra friska hundar. Hos övriga hundar var värdena normala. Se tabell 2 och 3.

*Tab 2, Fördelning av hematologivärden hos de sjuka hundarna. Procentandelen är beräknad som kvoten av antalet hundar med förändrade värden och antalet undersökta hundar i respektive grupp*

---

	Antal under referens- värden	Antal inom normal- intervallet	Antal över referensvärden	Antal ej undersökta
B-TPK	1 (6%)	15 (94%)	0	4
B-Hb	0	17 (100%)	0	3
B-LPK	3 (18%)	14 (82%)	0	3
B-Neutrofiler	1 (6%)	15 (94%)	0	4
B-Eosinofiler	0	16 (100%)	0	4
B-Basofiler	0	16 (100%)	0	4
B-Lymfocyter	6 (37%)	10 (63%)	0	4
B-Monocyter	0	20 (100%)	0	4

---

Tab 3, Fördelning av hematologivärden hos de friska hundarna.. Procentandelen är beräknad som kvoten av antalet hundar med förändrade värden och antalet undersökta hundar i respektive grupp

	Antal under referens- värden	Antal inom normal- intervallet	Antal över referensvärden	Antal ej undersökta
B-TPK	4 (20%)	16 (80%)	0	0
B-Hb	1 (5%)	19 (95%)	0	0
B-LPK	0	20 (100%)	0	0
B-Neutrofiler	0	0	0	0
B-Eosinofiler	0	0	0	0
B-Basofiler	0	17 (85%)	3 (15%)	0
B-Lymfocyter	4 (20%)	16 (80%)	0	0
B-Monocyter	0	0	0	0

### **Serum- och plasma analyser**

Kreatinivärdena var normala hos alla sjuka hundar. En sjuk hund (1) hade lindrigt förhöjda nivåer av gallsyror medan resterande 19 hundar uppvisade normala nivåer. Alla friska hundar hade normala värden avseende kreatinin och gallsyror.

ASAT var lindrigt förhöjt hos tre av de sjuka hundarna (1, 14, 19). Hos de friska hundarna var värdena normala.

Fibrinogen var normalt hos alla de friska och sjuka hundarna.

Albuminvärdet var hos många av de sjuka och friska hundarna lindrigt sänkt. Se tabell 4. En av de sjuka hundarna (19) hade ett kraftigt sänkt albuminvärde.

Elfores av serumprotein-fraktionerna gav resultatet att de sjuka och friska hundarna avseende alfa-1-fraktionen och beta-1-fraktionen låg normalt. I alfa-2-fraktionen hade fyra sjuka hundar (4,10,17,18) förhöjda värden medan resterande sjuka hundar och alla friska hundar hade normala värden. I beta-2-fraktionen låg både friska och sjuka hundar mycket lindrigt förhöjt då ett medelvärde beräknats på respektive grupp. Medelvärdet för gammafraktionen hos de sjuka hundarna var lindrigt förhöjt till skillnad mot medelvärdet för de friska hundar som var normalt. Se tabell 4. Två sjuka hundar (4,15) hade kraftigt förhöjda gammaglobulinnivåer (17-19g/L).

Tab. 4, Albumin och delar av elfores-fraktionerna framställda som medelvärde och standardavvikelse

	Normalvärde	Medelvärde Sjuka/Friska	Standardavvikelse Sjuka/Friska
Albumin	31-43g/L	28,6/ 30,2	5,77/ 4,03
Beta-2- fraktion	6-9g/L	9,10/ 9,15	2,15/ 1,66
Gamma- fraktion	3-7g/L	7,95/ 6,80	4,40/ 2,42

### ***Borrelia/Anaplasma (ehrlichia)***

Prov från sju av de sjuka hundar har analyserats vid SVA, Uppsala avseende antikroppar mot *Borrelia burgdorferi* och *Anaplasma phagocytophilum*. Av dessa hundar var två stycken (20,8) positiva för *Borrelia burgdorferi* (1:80; 1:160) medan tre andra hundar (3,5,16) var positiva för *Anaplasma phagocytophila* (1:160; >1:40; 1:640). Tre av hundarna (5,8,20) uppvisade positiva antikroppstitrar vid provtagningstillfället medan övriga hundar hade varit positiva för de fästingburna sjukdomarna vid ett tidigare tillfälle.

Information från djurägare visade att ytterligare åtta hundar provtagits för både *B. burgdorferi* och *A. phagocytophila* och var negativa.

### **IIF-ANA**

Alla sjuka och friska hundar har testats avseende förekomst av antinukleära antikroppar. Alla hundar utom två har provtagits då de uppvisat symtom på tollarsjuka. En hund (18) var symtomfri och en hund (2) var symtomfri på behandling med kortison (0,5mg/kg/d) vid provtagningen. ANA-positiva hundar har provtagits ytterligare en gång efter 2-3 månader med samma positiva resultat. Positiva prover har även bedömts avseende fluorescensmönster. Av de sjuka hundarna var 13 stycken ANA-positiva varav 7 stycken med kornigt mönster och 6 stycken med homogent mönster. Resterande sju hundar var ANA-negativa. Se tabell 1. En av de ANA-positiva hundarna (6) var ANA-negativ 6 månader senare och uppvisade vid denna provtagning fortfarande symtom på tollarsjuka. En ANA-negativ hund (2) som behandlades med kortison och var symptomfri vid provtagningen var ANA-positiv 3 år tidigare då sjukdomen bröt ut. En ANA-positiv hund (14) var året innan ANA-negativ och uppvisade då samtidigt symtom på tollarsjuka.

Alla friska hundar bedömdes vara ANA-negativa.

## **IL-6 i serum**

Två stycken (20,16) av de sjuka hundarna hade IL-6-nivåer på 133,47 resp. 134,93 pg/ml medan en hund (4) hade en högre nivå (541,19 pg/ml). Bland de friska hundarna hade tre stycken förändrade nivåer (171,96;198,35 resp. 288,0 pg/ml). För de övriga hundarna var koncentrationerna ej detekterbara.

## **Urinprov**

Tio stycken av de sjuka och åtta av de friska hundarna har lämnat urinprov. Hos två stycken friska och två stycken sjuka hundar sågs mycket lindriga förändringar som kristaller eller vita blodkroppar i urinen, vilka bedömdes vara utan betydelse. Ingen av hundarna gav utslag avseende renal proteinuri.

## **Röntgen**

Totalt har sju av de sjuka hundarna i studien röntgats. Hos fyra hundar (8,9,16,18) har olika leder röntgats såsom höfter, armbågar, carpi och knän. Hos en hund (18) påträffades ospecifik mineralisering i armbågsleden utan tecken på osteoartrit medan lederna hos resterande hundar var utan anmärkning. Ryggen har röntgats hos fyra hundar (7,12,14,18) med resultatet utan anmärkning. Den generella avsaknaden av radiologiska fynd skulle kunna tala för att de sjuka hundarna lider av en non-erosiv artrit.

## **Synovia**

En hund (9) har undersökts avseende synovia och uppvisade tecken på subakut eller kronisk ledinflammation. Antalet leukocyter var ökat med dominans av neutrofiler.

## **Obduktion**

En hund; samma hund ifrån vilken man tagit synovia (9) har obducerats. De sektionfynd som påvisades var kronisk plasmacytär-lymfocytär artrit i hö och vä femoropatellar-, femorotibial-, tibiotarsal-, antebrachiocarpal-, carpal- och cubitalleder, steroid hepatos och demyelinisering av spinalnervsaxon. Någon förklaring till förändringarna i axoner eller etiologin bakom polyartriten har ej kunnat fastställas vid obduktionen.

## BEHANDLING/BEHANDLINGRESULTAT

Hur hundarna i studien behandlats och vilken klinisk förbättring som uppnåtts av behandlingen framgår genom journaltext och telefonintervju.

Många hundar (n=14) har provbehandlats med NSAID (Rimadyl eller Metacam). Fem hundar blev lite bättre på behandlingen och tre hundar svarade bra på behandlingen. Sex hundar svarade inte på NSAID. Se tabell 1. Många djurägare upplevde att i de fall NSAID gav effekt varade denna endast en kort period.

Bland hundarna i studien har femton behandlats med kortison (Prednisolon). Initialbehandling varierade med en dos på ca 1-4mg/kg/dygn som trappats ner successivt. Alla utom en hund svarade omedelbart på behandlingen.

Sex hundar (1,2,5,10,14,15) är idag symtomfria när de står på kortisonbehandling, medan fyra hundar (4,13,16,20) som behandlades initialt med kortison idag är symtomfria utan medicinering. Fyra hundar (3,9,11,17) har drabbats av återfall trots kortisonbehandling och har fortsatta symtom på tollarsjuka. Den sista/fjortonde hunden (19) som behandlades med kortison svarade inte alls på höga doser kortison. Tidigare minskade symtomen på behandling med NSAID. När detta inte fungerade längre provades kortison vilket inte heller fungerade. Se tabell 1.

Av de fem hundar där kortison ej sattes in avlivades två stycken (6,12).

En hund (9) behandlades med immunsupprimerande läkemedel (Azathioprin) då kortisonbehandlingen ej fungerade. Hunden blev bättre i en vecka men sedan sämre igen och avlivades.

Två av hundarna med positiv borrelia titer samt en hund med positiv anaplasma-titer (provtagna i anslutning till debut av tollarsjuka) behandlades med tetracyklinderivat (Ronaxan). Huruvida hundarna svarade på denna behandling är okänt.



## **DISKUSSION**

Resultaten av studien visar att tollarsjuka är en mycket komplex sjukdom.

### ***Ålder och kön***

Hos 70% av hundarna debuterade sjukdomen i åldern 1-5 år. Denna studie tyder inte på någon könspredilektion vid tollarsjuka. Detta har man inte heller funnit vid SLE hos hund (Day, 1999).

### ***Vaccinationsstatus***

För att utöka den anamnestiska informationen intervjuades ägarna till hundarna i studien. Tollarägarna har varit mycket hjälpsamma med att delge viktig information.

Att vaccinationsstatus skulle öka risken att utveckla autoimmun sjukdom har rapporterats i litteraturen (Day, 1999). I denna studie har ett sådant samband ej kunnat påvisas då såväl sjuka som friska hundar vaccinerats mot valpsjuka, parvo och hepatit. Många av de friska hundarna har uppnått så hög ålder att tollarsjuka borde ha debuterat hos dessa individer, vilket gör att denna typ av vaccination ej verkar inverka på uppkomsten av sjukdomen. Samma resonemang gäller sannolikt även för vaccination mot rabies även om antalet rabiesvaccinerade hundar i studien är betydligt färre.

### ***Arbetsbelastning***

Hög arbetsbelastning verkar inte påverka risken för att utveckla sjukdomen då 12 av de friska hundarna används i hårdare arbete medan fyra av de sjuka hundarna använts till hårdare arbete.

### ***Symtombild***

Urvalskriterierna medger att hundarna lider av smärta från leder och/eller nacke/rygg samt stelhet, vilket innebär att både led- och muskelpåverkan kan vara orsak till symtombilden. Det är intressant att symtomen som hundarna uppvisar är så begränsade till rörelseapparaten eftersom urvalskriterierna medger för fler symtom än ”inklusionssymtomen” rörande rörelseapparaten att inkluderas. Kravet på en sjukdomsduration på minst 14 dagar avser i möjligaste mån utesluta traumatisk skada.

Symtombilden hos en hund med tollarsjuka domineras av allmän stelhet med vandrande hälta som går i skov. Allmäntillståndet är för det mesta utan anmärkning men bedömningen försvåras av hundens

individuella smärtekänslighet. Feber har endast påträffats hos en hund och bedöms därför som ovanligt vid tollarsjuka.

Hur sjukdomen initieras varierar då hälften av hundarna drabbas plötsligt medan den andra hälften av hundarna uppvisar en gradvis utveckling av sjukdomen. Gemensamt för majoriteten av hundarna i båda grupperna är beskrivningen av smärta och svaghet i bakdelen/ländrygg och därmed svårigheter att resa och lägga sig.

Tollarna har troligen en non-erosiv polyartrit då inga skelettala förändringar påträffats vid radiologisk undersökning. Analysen av synovia samt obduktionssvar ger diagnosen kronisk plasmacytär-lymfocytär polyartrit som ytterligare stärker misstanken. Dock kan inga säkra slutsatser dras då endast en hund har undersökts avseende synovia och genomgått obduktion. Att smärta kommer från lederna är troligt då 14 av 20 hundar reagerar vid palpation och provokation av lederna. Däremot nämns bara fynd av muskelsmärta vid undersökning av två hundar. Svårigheten att skilja led- och muskelsmärta vid klinisk undersökning gör bedömningen av smärtans ursprung svår.

Att bedöma varifrån orsaken till problemen från bakdelen härrör är omöjligt då endast tre hundar har reagerat med smärta vid palpation av bakre delen av ryggen trots att ett flertal djurägare beskrivit smärta från bakdel och rygg. Huruvida lederna i ryggen är påverkade hos tollarna är svårt att avgöra. Inga radiologiska förändringar kunde dock påvisas hos de fyra hundar som undersökts i detta avseende. Ryggglidande av muskulär etiologi kan ej utelämnas då inga muskelbiopsier analyserats i studien. Eftersom så få hundar reagerar vid palpation av ryggen kan detta tala för att smärta från bakre extremiteterna delvis manifesterar sig som ryggont.

Tre hundar har svårigheter att öppna munnen. Inte heller här kan det avgöras om det är käklederna eller muskulaturen som är orsaken till problemet. Alla tre hundarna är ANA-positiva vilket skulle tala emot misstanke på canine polyarthritis/myositis där hundarna uppges vara ANA-negativa. Canine polymyositis kan ej uteslutas då muskelbiopsi saknas (Day 1999).

Smärta från leder i kombination med hudförändringar har påträffats hos sex av hundarna. Detta för tanken till SLE. Hudförändringarna i form av krustor anses dock inte vara typiska för hudrelaterad autoimmun sjukdom där man vanligen ser vesikler eller pustler (Day, 1999). Man kan trots detta inte utesluta att sådana förändringar förekommit på tidigare stadium, för att vid veterinärundersökningen uppvisa krustbildning. Fem av de sex hundarna är ANA-positiva. En av hundägarna har beskrivit att hudproblemen förvärras vid sänkt kortisondos. Ett allergiskt problem skulle förmodligen svara på

samma sätt, men manifestationen av hudproblemet är inte typisk för atopi eller foderallergi (Ettinger & Feldman, 2005). Hudlidandets respons på kortison och dess lokalisering till nosrygg och öronlappar medför att tanken på SLE-relaterad sjukdom ej kan uteslutas. Det är inte omöjligt att vissa av hundarna har autoantikroppar mot adhesionsmolekyler i epidermis. Inte bara antinukleära antikroppar utan även antikroppar riktade mot andra cellstrukturer har beskrivits förekomma vid b.l.a. SLE (Day, 1999). Då de sjuka tollarna uppvisar problem från framförallt leder och i vissa fall hud är en tanke att protein gemensamt för hud och leder är angreppspunkt för autoantikroppar.

### **Blodanalyser**

De hematologiska analyserna från de friska hundarna är utan anmärkning och ligger inom normalintervallet. Även de sjuka hundarna uppvisar normala hematologiska värden. Inga tecken på förändringar av blodkropparna som man kan se vid immunmedierade hematologiska sjukdomar har sålunda upptäckts hos tollarna.

ASAT är lindrigt förhöjt hos tre av de sjuka hundarna vilket skulle kunna tyda på akut cellskada i framförallt lever, myokard- och skelettmuskulatur (2004, kompendium i klinisk kemi). En av de tre hundarna har dessutom förhöjda gallsyrenivåer vilket talar för en leverskada som kan förklara de höga ASAT-nivåerna. Huruvida övriga två hundar har höga ASAT-nivåer på grund av läckage av enzym från skelettmuskulatur är okänt men skulle kunna tyda på myosit. Majoriteten av hundarna har normala ASAT-värden vilket tyder på att de tollarsjuka hundarna ej lider av myosit alternativt att myositen är av kronisk karaktär och därav ej synlig vid blodanalys.

Serum- och plasmaanalyserna ger inga direkta skillnader mellan sjuka och friska hundar. Intressant att påpeka är resultaten av serumproteinfraktionerna där medelvärdet av hundarnas albuminvärden hos både de friska och sjuka hundarna är lågt. Detta talar för att de sjuka hundarnas låga albuminvärden är "normala" för rasen eller beror på felaktigheter i den specifika analysens referensområde. Att de friska hundarna skulle vara på väg att utveckla sjukdomen men fortfarande är symtomfria är inte troligt då flera av de friska hundarna redan uppnått hög ålder. Tänkbara orsaker till hypoalbuminemi är leverskada, glomerulonefrit och tarmsjukdom.

Den kliniska bilden och provsvar såsom exempelvis normala ALAT-värden och avsaknad av protein i urinen talar emot detta. Albuminbrist på grund av kompensatorisk sänkning vid ökad bildning av akutfasproteiner och immunglobuliner kan vara mer troligt då beta-2/gamma-fraktionerna ligger högt hos flertalet friska och sjuka hundar.

Två av de sjuka hundarna avviker från de övriga genom en förhöjd beta-2 fraktion och en kraftigt förhöjd gammafraktion. Den ena hunden har dessutom måttlig neutropeni. Information från klinisk undersökning saknas från denna hund och kan därav inte ge vägledning genom eventuell förekomst av feber etc. Den andra hunden hade feber vid provtagningen vilket kan förklara den immunologiska responsen.

Eftersom också de friska hundarna ligger högt i beta-2/gammafraktionerna sjunker misstanken på att autoantikroppar skulle utgöra en del av dessa fraktioner. Tollars-rasen har kanske en generell högre nivå av immunoglobuliner i cirkulationen. Eventuella felaktiga referensvärden för testen kan ej uteslutas.

De normala fibrinogen-värdena tyder på att inflammationen i lederna är begränsad och inte påverkar fibrinogenhalten i blodet.

Blodbilden avseende de ovan nämnda rutinproverna hos de tollarsjuka hundarna skiljer sig sålunda inte från kontrollgruppen och bedöms härav inte kunna användas för att diagnosticera tollarsjuka. Den generellt oförändrade urin- och blodbilden talar för att tollarsjuka snarare är en SLE-relaterad sjukdom än SLE (Hansson-Hamlin et al. 2006). Symtombildens begränsning till rörelseapparaten stärker detta antagande.

### ***ANA-test och behandling***

Förhöjda ANA-titrar har rapporterats följa många inflammatoriska processer och behandling med vissa läkemedel samt förekomma hos tillsynes friska individer (Hansson, 1999). Valet av substrat vid utförande av ANA-testen har dock visat sig ha avgörande betydelse för såväl känslighet som specificitet för analysen. Med s.k. Hep-2-celler som substrat har korrelationen mellan positiv ANA och misstänkt autoimmun sjukdom tydliggjorts. Detta substrat medför också möjlighet att särskilja olika fluorscensmönster avseende kromosomal reaktivitet kontra icke-kromosomal reaktivitet. Användandet av Hep-2-celler innebär mycket sällan problem med falskt positivt utslag (Hansson, 1996). Ett resultat av ANA-testen får dock ej tolkas separat utan stöd av kliniska kriterier vid diagnosticering av autoimmuna sjukdomar (Hansson & Karlsson-Parra, 1999). Omprov bör tas efter 2-3 månader för att utesluta att en positiv ANA-titer är av tillfällig natur (Hansson-Hamlin et al. 2006). Detta har utförts vid ANA-testningen av ingående hundar i studien. Pågående kortisonbehandling anses ej ha någon inverkan på ANA-resultatet (Hansson Hamlin, 2006, pers.medd).

ANA-testen som utförts på alla hundarna i studien stärker antagandet att tollarsjuka är en autoimmun sjukdom. Alla friska hundar är ANA-

negativa och 65 % sjuka hundar är ANA-positiva. Två ANA-negativa hundar med symtom på tollarsjuka har varit ANA-positiva vid tidigare provtagningstillfälle. Detta fenomen är svårt att förklara och det är mycket ovanligt att ANA-svaret förändras på detta sätt över tiden med nuvarande teknik. Varför tollare med kliniskt mycket likartad bild i vissa fall är ANA-positiva och i andra fall är ANA-negativa är också svårt att bedöma. Det kan naturligtvis röra sig om två olika typer av sjukdomskomplex med likartad klinisk bild. Mer troligt är dock att det föreligger en ”grundstörning” i immunförsvaret hos sjuka tollare som kan ge upphov till olika typer av autoantikroppar. De antinukleära antikropparna är de vi kan mäta medan förekomst av andra autoantikroppar mycket väl kan föreligga utan att vi har detektionsmöjligheter för dem.

Vid ANA-positivitet hos människa ses en stark koppling mellan fluorescensmönster och vilka komponenter i cellkärnan som antikropparna är riktade mot (Hansson & Karlsson, 1994). Detta kan man även se hos hund. Genom att gruppera dessa mönster kan man få information om autoantikropparnas mål s.k. specificitet, vilket ger ökad kunskap om autoimmuna sjukdomar som angriper cellkärnan (Hansson-Hamlin et al. 2006). Fluorescensmönstren som hundarna i studien uppvisar varierar mellan homogent (40%) och kornigt (60%) och kan ej kopplas till specifik symtombild, blodsvar eller svar på behandling. Teorin om en gemensam ”grundstörning” med uppkomst av olika typer av autoantikroppar skulle också kunna förklara förekomsten olika varianter av antinukleära antikroppar.

Att inga vaskulära skador upptäckts vid obduktion skulle kunna tyda på en lindrig Typ III överkänslighetsreaktion, en Typ II överkänslighetsreaktion mot celler i leden eller en kombination av mekanismerna. Det är möjligt att hundarna har störningar i fler immunologiska mekanismer vilket förvärrar skadan ytterligare och komplicerar etiologin.

Tre av de ANA-negativa hundarna avviker tydligt från de övriga sjuka hundarna och diagnosen ”tollarsjuka” kan i dessa fall vara tveksam, trots att de uppfyllt inklusionskriterierna. Den ena hunden är halt endast på ett ben och har dessutom på röntgen en förändring i armbågsleden. Hunden har svarat bra på behandling med NSAID. Den andra hunden uppvisar ej smärta vid provokation och palpation av lederna, däremot vid palpation av ryggen. Hunden har svarat bra på behandling med NSAID. Den tredje hunden har kraftig hypoalbuminemi och förhöjt ASAT. Hunden svarade varken på NSAID eller kortison och självdog 8 år gammal inom 4 månader från symtomdebut.

Effekten av NSAID hos de ANA-positiva hundarna är generellt dålig medan effekten av kortison initialt är mycket bättre. Bland de ANA-

positiva hundarna är det bara hos en hund där kortisonbehandling inte uppnått avsatt effekt. Det förekommer dock hundar som svarat bra på kortisonbehandling till en början men senare svarat sämre och tillslut inte blivit bättre ens av höga doser kortison. Sjukdomen verkar aggravera olika snabbt hos olika individer och hos vissa individer kan kortisonet efter en tid inte längre hålla inflammationen i schack.

Kortisonets generellt positiva verkan hos de sjuka tollarna till skillnad mot NSAID är ytterligare något som talar för autoimmun bakgrund.

### ***Borrelia/Anaplasma-infektion***

Det är omdiskuterat huruvida det finns en kronisk form av de fästingburna sjukdomarna borrelios och anaplasmos (ehrlichios) och om sjukdomarna kan initiera en autoimmun reaktion (Day, 1999).

Endast två hundar i studien har antikroppar mot *B. burgdorferi* och tre stycken har antikroppar mot *A. phagocytophila*. Detta talar för att tollarnas symtom generellt inte skulle vara orsakade av någon fästingburen sjukdom. Det är inte troligt att tollarsjuka skulle initieras på detta vis är troligt.

Huruvida några av hundarna som uppvisar förhöjda antikroppstitrar vid provtagning och undersökningstillfället egentligen lider av en fästingburen sjukdom istället för tollarsjuka är svårt att bedöma då både parprov och utökade tester för de fästingburna sjukdomarna saknas (Egenvall et al. 1989; Skotarczak et al. 2005).

Förekomsten av antikroppar mot de fästingburna sjukdomarna betyder att individen påträffat smittan men inte nödvändigtvis att borrelios eller en anaplasmainfektion orsakar symtomen (Egenvall et al. 1989).

### ***IL-6-analys***

Cytokin IL-6 är en signalsubstans i immunförsvaret som kan misstänkas öka i blodet hos de drabbade hundarna då man sett att människor med SLE har förhöjda nivåer av IL-6 (Davas, 1999). Interleukin-6 skulle kunna vara en av flera viktiga faktorer vid SLE, då cytokinet produceras spontant av lymfocyter vid B-cells aktivering och inducerar hyperaktivitet hos B-celler. IL-6 anses vara huvudansvarig för induktionen av syntesen av akutfasprotein i levern. Flera enzymer är dock delaktiga i regleringen (Davas, 1999).

Analys av IL-6 har använts vid studier av SLE hos människa för att undersöka om serumkoncentrationen av IL-6 kan ge information om sjukdomens aktivitet hos individen (Davas, 1999). Genom tollarsjukans likheter med SLE var intresset stort att studera nivåerna av IL-6 hos sjuka och friska tollare. Det var dock endast en av de sjuka hundarna som gav ett tydligt positivt utslag för IL-6. Tolknningen av analysvaren är komplicerad då både ett antal friska

och sjuka hundar har uppvisat ”hög” halter av IL-6. Att bedöma nivån av IL-6 koncentrationerna hos hundarna är svårt då referensvärden hos hund får hämtas från andra studier. Normalvärden för en frisk kontrollgrupp av hundar i en studie ( McDuffie et al., 2006) där analysmetoden Quantikine använts ligger lägre än en nivå på 0,15 pg/ml. I denna studie har några av de friska hundarna värden som varierar mellan 171,96 till 288,0 pg/ml. Någon förklaring till varför värdena här avviker ifrån Mc Duffies studie så kraftigt är okänt.

Intressant att notera är att det som skiljer den sjuka hunden med ett tydligt positivt värde på 541,19 pg/ml från alla de övriga hundarna är att denna hund har feber vid provtagningen.

För att studera tollarsjukan närmare vore det intressant att undersöka synovia från hundarna. Då det kan vara svårt att insamla synovia från hundar utan ökad ledffyllnad, vore det önskvärt att avlivade och självdöda hundar med tollarsjuka obduceras. Att söka efter eventuella autoantikroppar samt andra immunologiska substanser i leder och synovia bör kunna ge viktig information. Ytterligare studier av cytokinförekomst i serum hos hundarna skulle kanske kunna möjliggöra diagnostisk tillämpning i framtiden. Vidare utredning av släktskap mellan hundarna och genetiska studier kommer att påbörjas framöver. Förhoppningsvis kan dessa studier bringa mer klarhet i tollarsjukans mysterier.

## **TACK**

Till min handledare Helene Hansson-Hamlin, VMD, Inst. för kirurgi och medicin, smådjur, Universitets-djursjukhuset, SLU, Uppsala, för intressanta diskussioner, stort engagemang, god vägledning och konstruktiv kritik.

Till Inger Lilliehöök, VMD, Inst. för BVF, Avd. för bilddiagnostik och klinisk kemi, Universitets-djursjukhuset, SLU, Uppsala.

Till Maija-Leena Eloranta, PhD Associate professor och Anne Trönberg, BMA vid Institutionen för medicinska vetenskaper, Autoimmunitet, Uppsala Akademiska Sjukhus.

Till familj, släkt och vänner för allt stöd under min studietid.



## LITTERATURFÖRTECKNING

- Bennett, D. Immune-based non-erosive inflammatory joint disease of the dog. 1. Canine SLE. *J. Small Anim. Pract.* 1987a;28:871-889.
- Bennett, D. & Kelly, D.F. Immune-based non-erosive inflammatory joint disease of the dog. 2. Polyarthritis/polymyositis syndrome. *J. Small Anim. Pract.* 1987b;28: 891-908.
- Bennett, D. Immune-based non-erosive inflammatory joint disease of the dog. 3. Canine SLE. *J. Small Anim. Pract.* 1987c; 28:909-928.
- Båve, U. Mechanisms of Interferon- alfa induction in SLE, Uppsala universitet. 2003.
- Chabanne, L et al. Canine Systemic Erythematosus-Part 1: Clinical and Biological Aspects. *Comp Cont Ed.* 1999; 21:135-41.
- Davas, E.M. et al. Serum IL-6, TNF-alfa, p55, p75srTNF-alfa, srIL-2alfa Levels and Disease Acitivity in SLE. *Clin. Rheumatol.* 1999; 18:17-22.
- Day, M.J. *Clinical Immunology of the Dog and Cat.* 1999:47-58, 59-68, 126-145, 243-249. London: Manson Publishing Ltd.
- Drazner, F.H. SLE in the dog. *Continuing Education Article 7*, Vol. 11. 1980;3:243.
- Roudebush, P. Adverse Reactions to Foods Allergies versus Intolerance I:Ettinger, S.J. & Feldman E.C. *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* 6th edition, Vol 1, 2005:566-570. St.Louis:Elsevier-Saunders.
- Hansson, H. et al. Detection of Antinuclear Antibodies by Indirect Immunoflourescence in Dog Sera: Comparison of Rat Liver Tissue and Human Epithelial-2 Cells as Antigenic Substrate. *Journal of Veterinary Internal Medicine.* Vol 10. 1996;4:199-203.
- Hansson, H. Methodological Aspects on Anti-Nuclear Antibody Determination in Canine Autoimmunity and in vitro Studies of Antigen-Specific Cellular Responses. *Acta universitatis agriculturae sueciae.* 1999;veterinaria 59.
- Hansson, H. & Karlsson-Parra, A. Canine antinuclear antibodies: Comparison of immunoflourescence staining patterns and precipititn reactivity. *Acta Vet. Scand.* 1999;40:205-212.
- Hansson-Hamlin, H. et al. Subgroups of canine antinuclear antibodies in relation to laboratory and clinical findings in immune-mediated disease. *Veterinary Clinical Pathology.* Vol 35. 2006;4: 397-404.
- Hansson Hamlin, H. Institutionen för kirurgi och medicin, smådjur, SLU, Uppsala. Personligt meddelande. 2006.
- Holst, H. & Edpvist L-E. Enzymdiagnostik, Kompendium I klinisk kemi. 2004;D2-3.

Kearns, M. Systemic lupus erythematosus in a dog: diagnosis and treatment, Cornell University college of Vet. Medicine (material skrivet för Cornell University college of Vet. Medicine). 2003.

McDuffie, J.E. et al. Acute Coronary Artery Injury in Dogs Following Administration of C1-1034, an Endothelin A Receptor Antagonist, *Cardiovascular Toxicology*. 2006:25-38.

Olivry, T., et al. Bullous systemic lupus erythematosus (type I) in a dog. *Veterinary Record*. 1999;145, 165-169.

Redman, J. *Vet. Record*. Vol 151. 2002;23: 711.

Skotarczak, B. et al. Prevalence of DNA and antibodies to *B. burgdorferi sensu lato* in dogs suspected of borreliosis. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2005;12:199-205.

Teichner, M. Systemic lupus erythematosus in dogs: Association to the major histocompatibility complex class I antigen DLA-A7. *Vet. Imm. Immunopath.* 1990;55:255-262.