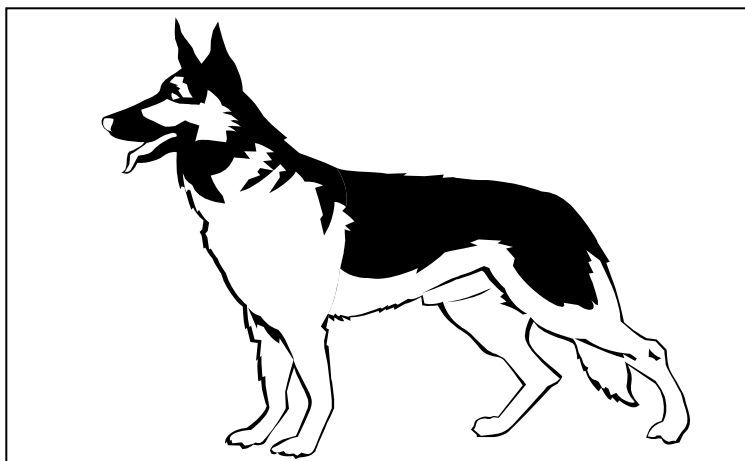




# Hund som komparativ modell för autoimmuna sjukdomar



Av  
Cathrine Haaga

Handledare: Göran Andersson  
Institutionen för husdjursgenetik  
Examinator: Sofia Mikko

---

Husdjursvetenskap - Examensarbete 10p/15hp  
Litteraturstudie  
SLU, Uppsala 2007

## Sammanfattning

I detta litteraturarbete togs hund som komparativ modell upp gentemot människa. Generna i histokompatibilitets-komplexet (major histocompatible complex (MHC)) mellan hund, människa, katt och mus jämfördes. Syftet var att utvärdera hund som modell och studera likheter kontra olikheter.

Hund som modell bidrar kraftigt till att förstå mekanismer bakom autoimmuna sjukdomar och uppvisande av tydliga histologiska likheter i vävnad mellan människa och hund gällande hudsjukdomen mucous membrane pemphigoid (MMP)/cicatricial pemphigoid (CP). Vidare visade det sig genetiskt motiverat att välja hund som komparativ modell då det bevisligen fanns en korrelation mellan MHC-komplexet och sköldkörtelrubbing s.k. hypothyroidism hos hundrasen doberman. En liknande sjukdom som kallas Hashimotos sjukdom, drabbar människa. Fysiologiska exempel på likartade diagnoskriterier är låga nivåer av sköldkörtelhormon (T3 och T4) samt höga nivåer av thyroid- stimulerande hormon (TSH) vid hypothyroidism både hos människa och hos hund. Mellan andra arter och hund kunde kliniska och morfologiska likhet skönjas vid hypothyroidism, men sjukdomen är varken spontan eller självbevarande hos exempelvis gnagare. Övriga autoimmuna sjukdomar som figurerar i arbetet är reumatologisk artrit, leishmaniasis och myasthenia gravis.

En jämförelse mellan människa, hund, katt och mus gjordes med avseende på generna i MHC-komplexet. Hos hund presenterades en ny upptäckt pseudogen med locuset 181g17,12. Hundens nyupptäckta pseudogen visade sig var besläktad med två tidigare kända humana cDNA.

Gemensamt för både hund och människa är att autoimmuna sjukdomar utbryter i medelåldern. Varför kastrerade hanhundar löper lägre risk att insjukna i hypothyroidism än steriliserade tikar är en fråga som borde belysas mer.

Att hund har en mycket stor roll att spela i detektivarbetet att finna svaret på uppkomsten av autoimmuna sjukdomar är ingen tvekan om.

## Abstract

In this essay dog as a compatible model were put against human. The major histocompatibility complex (MHC) genes were compared between dogs, human, cat and mouse. To evaluate dog as a model and study similarities and differences was the aim with this review.

Dog as a model contributes to understand mechanisms behind autoimmune diseases and showed clearly histological similarities between human and dogs concerning the skin disease mucous membrane pemphigoid (MMP)/cicatricial pemphigoid (CP). Further genetic evidence motivated the choice of using dog as a comprehensive model when the MHC-complex correlated with hypothyroiditis in Doberman dog as it does in human. Physiological similarities with low levels of thyroid hormones (T3 and T4) together with high level of thyroid releasing hormone (TSH) were found in the same way as in human. Clinical and morphological similarities could be seen in dogs with hypothyroiditis and other species but the disease was neither spontaneous nor self-maintained in rodents. Further diseases as rheumatoid arthritis, leishmaniasis and myasthenia gravis were mentioned.

Comprehension of MHC-genes was made between human, dog, cat and mouse. In genes of dog a new pseudogene was discovered with loci 181g17.12. The new pseudoegene showed to be related with two earlier known human cDNA.

Common for both man and dog of an autoimmune disease is that it appears in the middle age. Why castrated male dogs had a lower risk to get hypothyroiditis than spayed female dogs is a question that remains to be answered.

Dogs have a big part to play in investigating the outcome of autoimmune disease and the model contributes a lot.

## **Introduktion**

Autoimmuna sjukdomar uppstår då kroppens immunförsvar fallerar och börjar angripa frisk vävnad i kroppen istället för att skydda den. Autoimmuna sjukdomar yttrar sig i den yngre medelåldern både hos djur och människor och då är skadan allt som oftast redan skedd. Vad som orsakar en autoimmun sjukdom är i dag okänt och sjukdomsförloppet hejdas till en viss grad med hjälp av bromsmediciner för humant bruk, men inga botemedel står till buds över huvudtaget. En autoimmun sjukdom är både spontan (uppstår självmant) och självbevarande (inga yttre upprätthållanden) hos människa och hos hund.

I samband med utveckling av autoimmuna sjukdomar har studier visat att histokompatibilitets-komplexet (MHC) har en viktig roll vid presentation av antigen i immunsystemet hos människa. MHC uttrycks hos alla däggdjur och har en avgörande roll för att bygga upp ett effektivt immunsystem hos individen.

Vilka slutsatser kan dras genom att studera hund som jämförande modell för autoimmuna sjukdomar? I detta litteraturarbete presenteras hund som komparativ modell för autoimmuna sjukdomar gentemot människa. Först ges en bakgrund för hur immunförsvaret fungerar med tillhörande antigen-presenterande MHC och dess genetiska struktur. Vidare belyses studier genomförda på autoimmuna sjukdomar med koppling till MHC som leishmaniasis, reumatologisk artrit, hypothyroidism och mucous membrane pemphigoid (MMP)/cicatrical pemphigoid (CP), vikten har lagts på hypothyroidism.

Syftet med arbetet är att utvärdera likheter kontra olikheter med avseende på hund som modell för autoimmuna sjukdomar gentemot människa samt jämförelse av MHC-komplexet mellan hund, människa, katt och mus.

## **Litteratur**

### **Immunförsvaret**

Det grundläggande och passiva immunförsvaret byggs först upp via moderkaka i fosterstadiet hos primater, gnagare och i viss grad hos hund och katt och efter födseln via råmjölken som hos övriga däggdjur (Sjaastad et al., 2003). Efter de första levnadsmånaderna börjar ungen själv bygga upp sitt immunförsvar, det specifika immunförsvaret, vilket pågår livet ut med avtagande intensitet. Uppbyggandet av immunförsvaret sker genom att peptider presenteras av somatiska och dendritiska celler, makrofager samt B-celler för T-celler (Alberts et al., 2002). Peptiderna består av sönderdelat protein med bakteriell, virologisk eller kroppsegen bakgrund. Immunförsvaret måste kunna känna skillnad på kroppseget och främmande protein

för att inte skada frisk vävnad i kroppen. När T-cellerna inte längre kan göra skillnad mellan dessa protein (antigen) kan en autoimmunsjukdom uppstå (Sjaastad et al., 2003). Immunförsvarets T-celler mognar i thymus (Berg et al., 2002; Sjaastad et al., 2003) i två selekterande steg där de presenteras för antigen (epitope) (Happ, 1995; Berg et al., 2002) och får därmed sina individuella specialiteter att reagera på olika epitope. De T-celler som reagerar på kroppseget epitope sorteras bort. Totalt passerar endast 2 % av alla potentiella T-celler genom de båda mognadsstadierna med sina individuella epitope-specialiter (Berg et al., 2002). Enligt Happ (1995) skulle inte T-cellerna kunna få sina kroppsegna specialiteter, då kroppsegna antigen inte återfinns i thymus som exempelvis thyroglobulin i thyroid-folliklarna och myelin basic protein som inte kan passera blod-hjärn barriären. Här finns nya resultat som visar att thymus medulla uttrycker ett stort antal kroppsegna antigen och därigenom erhålls immunologisk tolerans (personligt meddelande Andersson, 2007). Detta sker genom aktivitet av en transkriptionsfaktor som kallas AIRE.

En autoimmunrespons uppstår då selektionen i thymus inte upprätthålls så att celler som reagerar på kroppsantigen slinker igenom mognadsprocessen, hävdar Berg et al. (2002). Orsaken till att systemet fallerar är oklart, men infektioner orsakade av bakterier eller virus kan vara bidragande orsak. Infektioner av sådan art skulle kunna leda till att generationer av T-celler och antikroppar utan sin specialitet reagerar med många olika epitoper från den infekterade organismen (Berg et al., 2002), s.k. Molecular mimicry (personligt meddelande Andersson, 2007). Om då något av dessa antigen påminner om kroppseget antigen kan en autoimmun sjukdom uppstå.

### **T-celler**

#### *TCR och CD*

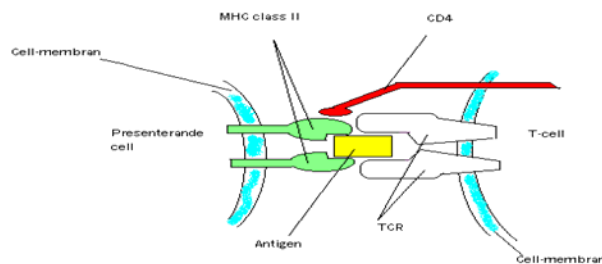
De T-celler som klarar de två mognadsstadierna i thymus benämns cytotoxiska T-celler (Tc-celler) och hjälpar T-celler (Th-celler) (Berg et al., 2002; Sjaastad et al., 2003). På cellernas yta finns T-cells receptorer (TCR), dessa är mottagande delar hos T-cellen vid antigenpresentation. På varje enskild Th-cell uttrycks 10 000 till 20 000 TCR (Happ, 1995) med individuella epitope- specialiteter (Myers, 1997). För att ett antigen ska kunna kännas igen av TCR måste det vara bundet till en MHC-molekyl på ytan av en presenterande cell (figur 1) (Happ, 1995; Alberts et al., 2002; Berg et al., 2002; Sjaastad et al., 2003).

För att informationen om antigenet ska kunna avläsas måste kontaktytan mellan presenterande och mottagande cell hållas samman, vilket sker då ett co-receptor protein (CD) från T-cellen binder till bindningsytans utsida mellan presenterande och mottagande celler (figur 1) (Brodersen et al., 1998). Varje enskilt TCR har sitt specifika CD (Alberts et al., 2002).

### **Presenterande celler med MHC-molekyl klass I+II**

Misslyckade hudtransplantationer på 1950-talet mellan möss blev upptrappningen till upptäckten av MHC (Alberts et al., 2002). Presentationsproteinet för antigen, MHC-molekylen, sitter förankrat i cellytan hos högre stående ryggradsdjur och utgör tillsammans med antigen en unik bild för TCR att känna igen (Alberts et al., 2002; Debenham et al., 2005). Det finns två olika MHC-molekyler, klass I och klass II (Happ, 1995; Alberts et al., 2002; Berg et al., 2002; Sjaastad et al., 2003). MHC klass I uttrycks av alla somatiska celler med undantag av nervceller. De återfinns på infekterade/angripna somatiska celler och visar upp MHC-bundet peptidantigen för Tc-celler. MHC klass II uttrycks av antigen-presenterande celler som t. ex. dendritiska celler, makrofager och B-celler vilka uppvisar peptidantigen för Th-celler (Alberts et al., 2002; Sjaastad et al., 2003). Hos hund refereras MHC som DLA och

den molekylära karakteriseringen har precis börjat och hos människa kännetecknas MHC som HLA och hela dess frekvens är sekvenserat (Kennedy et al., 2006).



Figur 1. En dendritisk cell presenterar ett antigen med hjälp av MHC klass II för Th-cellens TCR-molekyl med förankrande co-receptor CD4.

Proteinerna till MHC-molekylerna klass I och klass II uttrycks kodominant av ett kluster av gener på kromosom 6 hos människa (Alberts et al., 2002). Varje individ har 12 gener som kodar för MHC-protein och sannolikheten att två obesläktade individer har likadana MHC-proteiner är mycket liten, enligt Sjaastad (2003) är chansen 1:200 000. Regionen för MHC-generna sekvenserades tidigt hos hund, människa och mus (Debenham et al., 2005). Hos hund har MHC-regionen 711 521 baspar (bp) med åtta funktionella gener och fem pseudogener (gener som inte kan uttrycka ett funktionellt protein p.g.a. att de innehåller inaktiverade mutationer som splice mutationer eller läsramsmutationer). Det mänskliga MHC-komplexet innehåller fler än 200 loci och kodar för över 40 antigener och musens MHC-region innehåller 120 gener. Pågående sekvensering görs på fler husdjur exempelvis gris, ko och häst.

Hundens MHC-gener har tidigare inte utforskats fullt ut enligt Debenham et al. (2005). I deras studie sekvenserades 711 521 bp och den genomiska organisationen identifierades i den utökade delen av klass II generna mellan loci BTNL2 och DAXX. I studien presenterades 23 ny- identifierade mikrosatelliter i regionen. Författarna fann att hela regionen kunde delas upp i fyra subregioner där variationen inom dem skiljde sig åt vid jämförelse mellan människa, hund, katt och mus (figur 2). Subregion ett visade på störst skillnad mellan arterna beroende främst på att denna region innehöll flest pseudogener. Hos katt återfanns inte generna DQA och DQB, vilka uppträdde i dubbel uppsättning hos hund och människa. I den andra subregionen var ordning av gener och transkriptionsordning mycket konserverad mellan arterna. Här fanns en uttryckbar pseudogen hos hund GL004-PS1 som är besläktad med det humana proteinet GL004. Generna som kodar för det humana proteinet GL004 har i dag ingen känd funktion. En ny upptäck hos hund skedde i subregion tre, en pseudogen med locuset 181g17,12. Hundens nyupptäckta pseudogen visade sig var besläktad med två tidigare kända humana cDNA, FLJ25953 och FLJ32942 (Debenham et al., 2005), så kallade DNA-kopior av mRNA (Alberts et al., 2002; Griffiths et al., 2005). Slutligen i subregion fyra uppvisade hund inga pseudogener jämfört med de övriga arterna, där människa hade tre samt katt och mus en vardera (Debenham et al., 2005). MCH-regionen för klass II är mycket

välkonserverat hos olika däggdjursarter och möjliggör underlag för evolutionära studier och kompatibla modeller.

<u>MÄNNISKA</u>	<u>HUND</u>	<u>KATT</u>	<u>MUS</u>
<u>HLA</u>	<u>DLA</u>	<u>FLA</u>	<u>H2</u>
<b>Subregion 1</b>			
BTNL2	BTNL2	BTNL2	Btl2
DRA	ATP5L-PS1	DRA3	H2-Ea
DRB9	DRA1	X	H2-Eb2
DRB5	DRB1	DRA2	H2-Eb1
DRB6	RPL7A-PS2	DRB3	H2-Aa
DRB1	DQA1	DRB2	H2-Ab1
DQA1	DQB1	RPL7A-PS2	H2-Ob
DQB1	DQB2	DRA1	
COX3-L	DRB2	DRB1	
DQB3	RPS27-PS1	GAPDH-PS1	
DQA2	DOB	DRB4	
DQB2		DOB	
DOB			
<b>Subregion 2</b>			
TAP2PSMB8	TAP2	TAP2	Tap2
TAP1	PSMB8	PSMB8	Psmb8
PSMB9	TAP1	TAP1	Tap1
PPP1R2P1	PSMB9	PSMB9	Psmb9
HLA-Z	RPS15A-PS1	ATP6V0D2-PS1	H2-DMb1
DMB	ATP6V0D2-PS1	DMB	H2-DMb2
DMA	DMB	DMA	H2-Dma
BRD2	DMA	DRB2	Brd2
DOA	DRB2	DOA	H2-Oa
	GL004-PS1		
	DOA		
<b>Subregion 3</b>			
DPA1	RPL26-PS1	X	H2-Pa
RPL32P1	RPL11-PS1	DPA	H2-Pb
DPB1	DPB2	DPB	
DPA2	181G17.9	COL11A2	
COL11A2P	DPA		
DPB2	DPB1		
DPA3	181G17.12		
COL11A2	COL11A2		
<b>Subregion 4</b>			
RXRB	RXRB	RXRB	Col11a2
SLC39A7	SLC39A7	SLC39A7	Rxb
HSD17B8	HSD17B8	HSD17B8	Slc39a7
RING1	RING1	RING1	H2-Ke6
ZNF204	VPS52	TATSF1	Ring1
HTATSF1P	RPS18	VPS52	H2-K1
VPS52	B3GALT4	RPS18	H2-K2
RPS18	C12H6arf11	B3GALT4	Vps52
B3GALT4	KE2	BING4	Rps18
D6S2723E	RAB2L	KE2	B3galt4
C6of11	TAPBP	RAB2L	Bing4
HKE2	ZNF297	TAPBP	H2-Ke2
RAB2L	DAXX	ZNF297	Rgl2
TAPBP		DAXX	Tapbp
ZNF297			Zfp297
DAXX			Daxx

Figur 2. Organisation över gener i MHC klass II-regionen för människa, hund, katt och mus. Regionen sträcker sig mellan loci BTNL2 och DAXX. Pseudogener är markerade i grönt. Human-besläktad pseudogen hos hund är markerad med blå färg. Nyupptäckt pseudogen 181g17,12 för hund markerad i gult (Källa: omarbetat material från Debenham et al. (2005)).

### **Autoimmuna sjukdomar och MHC-molekyl klass II**

Hos blandrashundar har MHC klass II- regionen visat sig ha inflytande på sjukdomar som till exempel leishmaniasis där koppling med alleler av MHC-DRB1-locuset är involverade

(Debenham et al., 2005). Locuset har även signifikant relation med sjukdomen reumatologisk artrit där hund och människa har mycket snarlika epitoper. För framtida kunskap kommer de 23 nyligen identifierade mikrosatelliterna i klass II-regionen kunna fungera som markörer och ge möjlighet för en komparativ kartläggande av autoimmuna sjukdomar mellan arter. Ytterligare förståelse av den komplexa genetiska regionen för MHC kommer att underlättas med hjälp av dessa markörer.

Liksom hos människa har hypothyroidism hos hund visat sig ha en stark koppling till MHC gener (Kennedy et al., 2006). Forskargruppen ville undersöka om det fanns någon korrelation mellan polymorfism i MHC och sjukdomen autoimmun hypothyroidism hos hund. Artikeln som Kennedy et al. publicerade år 2006 redogjorde för tre studerade gener i MHC klass II-regionen, DRB1, DQA1 och DQB1 hos hundrasen doberman. Vid dessa tre loci presenterades 67, 21 respektive 54 alleler. Detta var första gången som polymorfismen hos dessa loci kartlades för doberman och polymorfismen hos andra hundraser återstår att bestämma. Hos gruppen av totalt 156 hundar (27 sjuka och 129 friska) särskildes homozygoter från heterozygoter för att identifiera haplotyper. Homozygoterna uppvisade fyra olika haplotyper som även återfanns hos heterozygoterna vilka även uppvisade ytterligare två haplotyper (tabell 1). Haplotypen, DRB1\*00601/DQA1\*00401/DQB1\*01303, var mycket vanligt förekommande och återfanns hos 135 av 156 hundar (86,5 %).

Tabell 1 Identifierade MHC alleler och haplotyper

DRB1*	DQA1*	DQB1*	Antal homozygoter	Antal heterozygoter
00201	00901	00101	8	13
00601	00401	01303	67	68
01501	00901	00101	0	6
00601	005011	00701	1	12
01201	00101	00201	6	47
00601	005011	01303	0	2

(Källa: Kennedy et al., 2006)

De sex haplotypernas frekvenser fördelade sig procentuellt inom grupperna sjuka och friska enligt tabell 2. Tidigare nämnd haplotyp återfanns till 92,59 % hos gruppen sjuka hundar och till 85,27 % hos gruppen friska hundar. Noterbart var enligt studien att haplotypen DRB1\*01201/DQA1\*00101/DQB1\*00201 var nästan dubbelt så vanlig (55,56%) hos sjuka hundar i jämförelse med friska hundar. Enligt Kennedy et al. (2006) är denna haplotyp mycket ovanlig hos en generell population och styrker att den är klart associerad med sjukdomen hypothyroidism hos hundrasen doberman. Sannolikt bör andra hundraser med sjukdomen uppvisa andra typer av haplotyper än denna. Haplotyperna är individuella för varje hundras. Möjligheten att andra gener i MHC-regionen kan stå i förbindelse med utveckling av hypothyroidism är trolig och att MHC är en markör för dessa hypothyroid-gener.

Tabell 2 Antal drabbade och kontrollerade hundar med MHC haplotyper

DRB1*	DQA1*	DQB1*	Sjuka (n=27) (%)		Friska (n=129) (%)	
00201	00901	00101	3	(11,11)	1	(13,95)
00601	00401	01303	25	(92,59)	110	(85,27)
01501	00901	00101	1	(3,70)	12	(9,30)

00601	005011	00701	0		2	(1,55)
01201	00101	00201	15	(55,56)	38	(29,46)
00601	005011	01303	0		6	(4,65)

\*Odds ratio = 2,43, gräns = 1,19-7,61, P < 0,02 (Källa: Kennedy et al., 2006)

## **Autoimmuna sjukdomar**

### **Allmänt**

Då kroppens immunförsvar, T- och B-celler, reagerar mot främmande antigen producerar de antikroppar som binder starkt till främmande molekyler och celler (Alberts et al., 2002). Verkan av antikropparna blir inaktivering eller elimination av de främmande strukturerna. När T-cellerna reagerar på organismens eget antigen produceras autoantikroppar och autoimmuna sjukdomar uppstår. Exempel på autoimmuna sjukdomar som drabbar både hund och människa är hypothyroidism, reumatologisk artrit, mucous membrane pemphigod (MMP)/cicatricial pemphigoid (CP), diabetes typ I, multiple sclerosis (MS) och myasthenia gravis (MG).

Kennedy et al. (2006) anser att genom att studera autoantigen och polymorfismen hos MHC klass II hos hund kan underliggande mekanismer och association kopplade till autoimmuna sjukdomar förstås. Hund producerar många autoantigen som har sin motsvarighet hos människa och hennes autoimmuna sjukdomar.

### **Hypothyroidism/ Hashimotos sjukdom**

Hypothyroidism hos människa benämns Hashimotos sjukdom och är en autoimmun sjukdom med organspecifika T-celler (Chistiakov, 2005) som attackerar och förstör sköldkörtels folliklar (primär hypothyroidism) (Sjaastad et al., 2003). Följden blir låga halter av sköldkörtelhormon trijodtyroxin (T3), thyroxin (T4) och höga halter av thyroid-stimulerande hormon (TSH) från hypofysens framlob i blodet. Förmodligen återfinns det även antikroppar mot tyroperoxidase och tyroglobulin i blodet. I världen finns det 200 miljoner människor som har sjukdomen. Sköldkörteln har till uppgift att frisätta hormoner som reglerar metabolismen i kroppens vävnader och upprätthålla kroppstemperatur, ökar proteinsyntesen och hastigheten vid celledelning i benvävnad och annan kroppsvävnad, är en förutsättning för utveckling av centrala nervsystemet, upprätthåller överföringshastigheten i nervsystemet och är avgörande för en fungerande spermieproduktion och reproduktionscykel.

Primär hypothyroid sjukdom är endokrinrelaterad hos hundar och är ofta orsakad av lymfocytisk thyroidism. Hos hund är symtom på sjukdom mjällighet, hårlöshet, övervikt, långsam hjärtrymt, slöhet, mental tröghet, viktökning, onaturlig trötthet och låg aktivitetsnivå (Panciera, 1994). För att fastställa autoimmun thyroidism finns test för thyroidism autoantikroppsnivåer (TgAA) och för ärftlig hypothyroidism finns radiologiska test enligt Chastain & Panciera (1995) via Kennedy (2006). Behandling sker med levo-thyroxin, ett syntetiskt sköldkörtelhormon, en gång dagligen livet ut med gott resultat (Panciera, 1994; Chastain & Panciera (1995) via Kennedy (2006)). Alla symtom försvinner med tiden, från en vecka till ett par månader framhåller Chastain, Panciera (1995) via Kennedy (2006).

Orsaken till sjukdomen beror på en autoimmun inflammation i sköldkörteln s.k. erhållen störning eller medfödd störning i hypofysen (Sjaastad et al., 2003). Hos hundar är den erhållna störningen den vanligaste och 95 % av alla fall lider av primär hypothyroidism. Den medfödda störningen är mycket ovanlig och arvbarheten är i dagsläget okänd, flertalet valpar avlider innan avvänjning. För att utesluta avel på hundar med ett eventuellt anlag, registreras



drabbade hundar baserat på T4, TSH och TgAA. Uppfödare kan då välja hundar med mindre benägenhet att utveckla hypothyroidism (Chastain & Panciera (1995) via Kennedy (2006)).

I en studie som Panciera (1994) genomförde mellan 1987 och 1992 på hundar med misstänkt hypothyroidism kunde 66 hundar av totalt 30 336 diagnostiseras för sjukdomen. Ur materialet utkristalliserades en könsskillnad där tikar i högre grad löpte större risk för att utveckla sjukdomen än hanhundar och att steriliserade tikar var mer utsatta att få hypothyroidism än sexuellt intakta tikar. Studien visade att skillnad i ras kunde noteras då raserna doberman och golden retriever hade signifikant högre risk att utveckla sjukdomen än de övriga diagnostiserande raserna. Den genomsnittliga åldern var 7,2 år (intervall 0,5-15 år) för de 66 hundarna.

I en studie utförd av Lee et al. (2004) kunde specifika igenkänningsmönster för autoantikroppar vid hypothyroidism hos hund redovisas. Serum innehållande autoantikroppar från hundar med hypothyroidism och serum från friska hundar fick reagera med små peptider med ursprung från hund-thyroglobulin. Hypothyroidism- serumet band till små peptider med storleksordningen 31, 42.5 och 43 kilodalton (kDa) inom intervallet <3,5–66,2>kDa. Serum från friska hundar band inte till någon av dessa peptider. Forskarlaget misstänker att autoantikropparna har ett besläktat ursprung med thyroglobulin-peptiderna vilka kan komma att tjäntgöra som markörer för diagnostisering för autoimmun-thyroidism hos hund.

### ***Reumatologisk artrit (RA)***

Reumatologisk artrit yttrar sig genom angrepp på brosk i kroppen (Myers et al., 1997). I deras review-artikel dras slutsatsen att genom användning av små snarlika peptider istället för kroppens egna antigen kan TCR inhiberas. Tanken att peptidernas aminosyra substitution skulle kunna ha inverkan på affiniteten vid bindning till MHC-molekylen och TCR och därmed förhindra förloppet hos sjukdomen är något som gruppen framhåller, denna tes stöds även av Bresson et al. (2005). Förutsägelse om en peptids bindning till MHC-molekyl och därmed identifiering av T- cellens antigen (epitope) kunde Nouguchi et al. (2001) bevisa genom att använda sig av tekniken Fuzzy Neutral Network (FNN).

### ***Mucous membrane pemphigoid (MMP)/cicatricial pemphigoid (CP)***

Denna autoimmuna sjukdom, CP, är mycket ovanlig hos människa och orsaken till dess uppkomst är idag okänd (Olivry et al., 2001). Motsvarande spontana sjukdom, MMP, finns hos hundar. Sjukdomen yttrar sig genom små blåsor mellan över- och läderhud, vilka brister och resulterar i sprucken och uppfräkt hud runt mun, näsa/nos, ögon, könsorgan och anal. Olivry et al., (2001) genomförde en studie omfattade 17 hundar av 11 olika ras, kön (även kastrerade) och ålder. Sjukdomen utvecklades först i vuxen ålder hos hundarna med en medelålder på 4 år (intervall 1,5-10 år). Noterbart var att ingen av de kastrerade hanhundarna utvecklade skador runt könsorganen samt att en genetisk bakgrund kunde misstänkas då 30 % av de drabbade hundarna tillhörde samma ras (schäfer). Resultat av studien visade att sjukdomen hos hund uppvisade klara likheter med människa med avseende på kliniska och immunologiska tecken samt histologiska sjukliga förändringar exempelvis gick inte vävnadsprover från drabbade hundar och människa att särskilja.

## **Modell**

### ***Hund- människa***

Kennedy et al. (2006) framhåller veterinära fördelar av vetenskapliga studier för att undersöka den reglerande rollen av immunrespons av MHC hos hund. Merparten av all forskning, menar

författarna, har skett genom experimentering relaterat till MHC genernas polymorfism hos en öppen population människor samt en mindre mängd andra primater. Studier gjorda på andra arter har huvudsakligen fokuserats på gnagare och då i laboratoriemiljö. Vidare påpekar gruppen att lite vetenskap finns tillgänglig av omfattningen och fördelningen av MHC alleler och haplotyper i en öppen eller vild population samt hur dessa relaterar till immunitet och sjukdomsresistens. Därför är hund som art idealisk för ledsagning vid dessa typer av studier, för att hund existerar både som vild och domesticerad. Den senare kan studeras både inom restriktiv rasavel (inavel) och öppna populationer (korsningsavel). Hos människa har relation mellan MHC klass II polymorfism och autoantikroppar iakttagits vid autoimmuna sjukdomar. Då även hundar drabbas av motsvarande sjukdomar är det värdefullt att undersöka om motsvarande förutsättningar finns hos hund. Hundar producerar en mängd autoantikroppar, flera av dem har sin motsvarighet hos människans autoimmuna sjukdomar och ger därför ett ypperligt tillfälle att studera de underliggande mekanismerna till denna koppling.

Den domesticerade hunden är en informativ art för att studera genetiken hos MHC tack vare skillnader mellan det stora antalet fenotyper från rasaveln där varje ras representerar en sluten population (Debenham et al., 2005). Detta motsvarar variationen hos människa där isolerade populationer finns. Flera genetiskt betingade sjukdomar finns hos hund och inkluderar sjukdomar som är direkt jämförbara med sådana hos människa.

Olivry et al. (2001) menar att användningen av hund som modelldjur är motiverad med avseende på utförd studie av hudsjukdomen MMP hos hund och CP hos människa då stora likheterna baserar sig på immunologiska, kliniska och histologiska iakttagelser. Enligt författarna kan MMP visa sig mycket användbar vid studier för att förstå mekanismer bakom sjukdomens uppkomst och utarbetande av terapier för humant bruk.

### **Hund- andra arter**

I Sheltons (1999) studie där experimentella och spontana djurmodeller sammanställdes, framhölls vikten av att använda hund som komparativ modell vid förståelse samt utveckling av terapier för sjukdomen *myastenia gravis* (MG) för humant bruk. I motsats till flertalet andra autoimmuna sjukdomar är det sjukdomsutlösande autoantigenet känt vid MG, specifika diagnostiserade tester finns tillgängliga samt utarbetade terapier. Artikeln visade på likheter och skillnader mellan mus, råtta, marsvin, kanin, katt, hund och människa. Experimentella modeller för sjukdomen har beskrivits hos mus, råtta, marsvin och kaniner där försök att återskapa kliniska och morfologiska korrelationer till humant MG genomförts. Modellerna har haft sina begränsningar då den immuna responsen varken varit spontan eller självbevarande hos djuren. Erhåller spontan MG hos katt är mycket ovanlig, under en tioårsperiod diagnostiserades endast 79 katter med sjukdomen påpekar Shelton (1999) i sin artikel. Den spontant erhållna MG är förmodligen den vanligaste neuromuskulära sjukdomen funnen hos hund och i likhet med människa har motsvarande autoimmun respons och autoantikroppar registrerats. Genom att tillsätta likadan grupp av monoklonala antikroppar till blod från både humana och hund patienter, kunde samma specificitetsmönster iakttagas hos de båda arterna. Författaren påpekar att B-lymfocyternas respons är mycket snarlik antikroppsspecificitet, men att responsen hos T-cellerna inte har undersökts hos mänskliga MG-patienter. Författarens slutsats är att MG måste både ha en initierande och upprätthållande immunorespons för att existera och då dessa två kriterier är de samma hos hund och människa kan hund vara av värde för framtida studier.

Hos Brodersen et al, (1998) genomfördes studier på immunologisk korsreaktivitet hos monoklonala antikroppar. Dessa antikroppar har sina individuella specificiteter vid bindning

till celler i kroppens immunförsvar. Genom att ta blod från människa, häst, ko, får, get, svin, mink, hund, katt, kanin, råtta, marsvin, höna, padda, sköldpadda och laxöring och tillsätta 213 kända monoklonala antikroppar (mAbs) till var och ett av djurslagen kunde korsreaktiva egenskaper studeras. Totalt reagerade 77 av de 213 mAbs i korsreaktioner. Av dessa 77 mAbs band 61 stycken till kända bindningar på cellytan med CD-klassifikation. Inom gruppen om 61 mAbs band 24 stycken till antigen-receptor tillhörande en immunoglobulin-familj där MHC klass II- antikroppar ingår. MHC klass II svarade för fem av dessa 24 korsreaktioner. Utöver detta upptäcktes sex nya CD. Dessa menar Brodersen et al. (1998) kan öka antalet användbara CD vid studier av immunsystemet hos de domesticerade djuren.

## Diskussion

I detta litteraturarbete presenteras hund som komparativ modell för autoimmuna sjukdomar gentemot människa. Vidare belyses studier genomförda på autoimmuna sjukdomar och MHC-komplexet mellan människa, hund, katt och mus jämfördes. Syftet är att utvärdera hund som modell och studera likheter kontra olikheter.

Många artikelförfattare ser hund som en komparativ modell vara bra för att kunna förstå mekanismer bakom autoimmuna sjukdomar. Tydliga histologiska tecken stöder även valet av modellen då vävnad från människa och hund inte kunde särskiljas. Tesen följer även genetiskt att välja hund som komparativ modell då det bevisligen finns en korrelation mellan MHC-komplexet och hypothyroiditis hos hundrasen doberman, så som det gör hos människan. Ytterligare en pusselbit som bidrar är fysiologiska uttryck som till exempel låga nivåer av sköldkörtelhormon och höga halter av thyroid- stimulerande hormon vid hypothyroidism både hos människa och hos hund.

Ytterligare en gemensam nämnare mellan hund och människa är att båda arterna är i medelåldern då de autoimmuna sjukdomarna bryter ut. Vad spelar thymus för roll vid insjuknande i autoimmuna sjukdomar? Kan en minskad selektion av T-celler gör immunförsvaret underminerat och vad har TCR för roll vid en autoimmunrespons? Varför kastrerade hanhundar löper lägre risk för att insjukna i hypothyroidism än steriliserade tikar är en fråga som borde belysas mer.

Vart kan det gå fel i kommunikationen mellan MHC-TCR? Många aktörer är närvarande i detta skådespel och vad som händer bakom kulisserna, det vill säga inne i respektive cell, framkom inte i litteraturen. Endast markörer kunde kartläggas för att i framtiden lättare identifiera och utröna gener korrelerade med autoimmuna sjukdomar. En förhoppning är att TCR-molekylen kartläggs då det kan finnas upp till 20 000 receptorer per cell med sina egna specificiteter.

Med avseende på generna i MHC-komplexet verkar skillnad mellan arterna vara ganska tydlig. Musen saknar helt vissa gener samtidigt som den inte kan utveckla en spontan självbevarande autoimmun sjukdom, kan de avsaknade generna spela en avgörande roll? Framtida studier kommer att bli intressanta då fler morfologisk skillnader hos MHC upptäcks mellan olika hundraser. Kommer det att finnas individer som har starkt korrelerade gener till autoimmuna sjukdomar men som inte insjuknar, vad är då den utlösande faktorn? Hos de hypothyroidism- drabbade doberman- hundarna var det svårt att klargöra om det i gruppen, med 15 drabbade hundar (55,6%), ingick både homozygoter och heterozygoter, detta skulle intressant att veta för att ringa in en eventuell arvbarhet för autoimmun hypothyroidism.

## Slutsats

I detektivarbetet för att finna svaret på bakomliggande orsaker, utlösande faktorer och diagnostisering av autoimmuna sjukdomar har hunden en mycket stor roll att spela. Och vetenskapen är bara i sin linda inom detta område.

## Litteraturförteckning

- Alberts, B. Johnson, A. Lewis, J. Raff, M. Roberts, K. & Walter, P. 2002. *Molecular Biology of the Cell*, 4<sup>th</sup> edition. New York, Garland Science.
- Berg, J.M. Tymoczko, J.L. & Stryer, L. 2002. *Biochemistry*, 5<sup>th</sup> edition. New York, Freeman and company.
- Bresson, D. Rebuffat, S.A. & Péraldi-Roux, S. 2005. Localisation of the immunodominant region on human thyroid peroxidase in autoimmune thyroid disease: an update. *Journal of Autoimmune Disease* 2:2, 1-8.
- Brodersen, R. Bijlsma, F. Gori, K. Jensen, K.T. Chen, W. Domiguez, J. Haverson, K. Moore, P.F. Saalmüller, A. Sachs, D. Slierendrecht, W.J. Stokes, C. Vainio, O. Zuckermann, F. & Aasted, B. 1998. Analysis of the immunological cross reactivities of 213 well characterized monoclonal antibodies with specificities against various leucocyte surface antigens of human and 11 animal species. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 64, 1-13.
- Chastain, C.B. Panciera. D.L. 1995. *Textbook of Veterinary International Medicine*, 4<sup>th</sup> edition, 1487-1500. Philadelphia, W.B. Saunders.
- Chistiakov, D.A. 2005. Immunogenetics of Hashimoto's thyroiditis. *Journal of Autoimmune Diseases* 2:1, 1-21.
- Debenham, S.L. Hart, E.A. Ashurst, J.L. Howe, K.L. Quail, M.A. Ollier, W.E.R. & Binns, M.M. 2005. Genomic sequence of the class II region of the canine MHC: comparison with the MHC of other mammalian species. *Genomics* 85, 48-59.
- Griffiths, A. Wessler, S. Lewontin, R. Gelbart, W. Suzuki, D. & Miller, J. 2004. *Introduction to Genetic Analysis*, 8<sup>th</sup> edition, 343-344. New York, W.H. Freeman and company.
- Happ, G.M. 1995. Thyroiditis-A model canine autoimmune disease. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine* 39,97-139.
- Kennedy, L.J. Huson, H.J. Leonard, J. Angles, J.M. Fox, L.E. Wojciechowski, J.W. Yuncker, C. & Happ, G.M.2006. Association of hypothyroid in Doberman Pinscher dogs with rare major histocompatibility complex DLA class II haplotyp. *Tissue Antigens* 67, 53-56.
- Lee, J-Y. Uzuka, Y. Tanabe, S. Takasawa, T. Sarashina, T. & Nachreiner, R.F. 2004. Tryptic peptides of canine thyroglobulin reactive with sera of patients with canine hypothyroidism caused by autoimmune thyroiditis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 101, 271-276.
- Myers, L.K. Rosloniec, E.F. Cremer, M.A. & Kang, A.H. 1997. Collagen-induced arthritis, an animal model of autoimmunity. *Life Science* 61, 1861-1878.
- Nagahara, N. Akiyama, Y. Higaki, K. & Kimura, T. 2007. Animal models for predicting potency of oral sustained-release adhesive microspheres in humans. *International Journal of Pharmaceutics* 331, 46-53.

- Nouguchi, H. Hanai, T. Honda, H. Harrison, L.C. & Kobayashi, T. 2001. Fuzzy Neutral Network-Based Prediction of the Motif for MHC Class II Binding Peptides. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol 92, No 3, 227-231.
- Olivry, T. Dunston, S.M. Schachter, M. Luthing, X. Nguyen, N. Marinkovick, P. & Chan, L.S. 2001. A Spontaneous Canine Model of Mucous Membrane (Cicatricial) Pemphigoid, an Autoimmune Blistering Disease Affecting Mucoasae and Mucocutaneous Junctions. *Journal of Autoimmunity* 16, 411-421.
- Pancieria, D.L. 1994. Hypothyroidism in dogs: 66 cases. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 204, 761-767.
- Sjaastad, Ø.V. Hove, K. & Sand, O. 2003. *Physiology of Domestic Animals*, 1<sup>st</sup> edition. Oslo, Scandinavian Veterinary Press.
- Schelton, G.D. 1999. Acquired myasthenia gravis: what we have learned from experimental and spontaneous animal models. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 69, 239-249.