



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap

Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsvetenskap

Myasthenia gravis hos hund

Petra Andersson

Uppsala
2018

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen
Delnummer i serien: 2018:07

Myasthenia gravis hos hund

Myasthenia gravis in dogs

Petra Andersson

Handledare: *Caroline Fossum & Magnus Åbrink, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Examinator: *Maria Löfgren, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: *Självständigt arbete i veterinärmedicin*

Kurskod: EX0700

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2018

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2018:07

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

Nyckelord: *immunologi, autoimmunitet, myasthenia gravis, hund, T-lymfocyter, tymus*

Key words: *immunology, autoimmune, myasthenia gravis, dog, T-lymphocyte, thymus*

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning	3
Material och metoder	3
Litteraturoversikt.....	3
Kongenital myasthenia gravis.....	3
Förvärvad myasthenia gravis	4
<i>Förändringar i tymus associerade med myasthenia gravis</i>	6
<i>Remodellering av tymus</i>	7
<i>Diagnos, prognos och behandling</i>	7
Symtom	9
Predisponerade djur.....	10
Diskussion	10
Litteraturförteckning	12

SAMMANFATTNING

Myasthenia gravis är en sjukdom som drabbar den neuromuskulära överföringen. Den förekommer i två former: kongenital (medfödd) och förvärvad. Kongenital myasthenia gravis beror på en defekt i acetylkolinreceptorn (AChR), som orsakas av olika mutationer. Förvärvad myasthenia gravis är en immun-medierad sjukdom, där autoantikroppar bildas mot AChR eller andra proteiner i neuromuskulära "junctions". Sjukdomen resulterar i muskelsvaghet och muskeltrötthet. Myasthenia gravis kan drabba både människor och andra djurslag. Hos hund rapporterades det första fallet av förvärvad myasthenia gravis år 1961.

Denna litteraturstudie inriktar sig på att besvara frågeställningen kring vad som orsakar myasthenia gravis hos hund och de bakomliggande immunologiska mekanismerna, samt hur prognos och behandling ser ut idag vid förvärvad myasthenia gravis.

Den kongenitala formen av myasthenia gravis framträder vid 6–12 veckors ålder och förekommer mer frekvent hos vissa hundraser, exempelvis jack russell terrier och springer spaniel. Sjukdomen orsakas av olika genmutationer vilket leder till defekta AChR. Den vanligaste formen av myasthenia gravis är den förvärvade som är en autoimmun sjukdom. Autoantikroppar bildas i tymus och riktar sig mot olika proteinstrukturer i neuromuskulära "junctions". AChR är den vanligaste och mest studerade proteinstrukturen som det bildas autoantikroppar mot. Autoantikroppar kan påverka AChR på tre sätt: genom att öka degenerationen av receptorerna, blockera inbindning till receptorn och/eller genom att trigga en komplement-medierad skada via den klassiska vägen.

Det finns många teorier om vad som initierar och bibehåller det autoimmuna tillståndet. Det har bland annat rapporterats att T-regulatoriska celler förlorar en del av sin suppressiva förmåga och att T-hjälpar typ 17 celler överuttrycker IL-17 vilket leder till att den inflammatoriska processen bibehålls. Hos både människa och hund finns en tydlig koppling mellan förändringar i tymus och myasthenia gravis. Mekanismen bakom förändringen är inte klarlagd och anses ha ett komplext ursprung. Det finns några troliga teorier: en generell dysfunktion i immunsystemet som resulterar i en förlust av självtolerans, antikropps bildning mot neurofilamenten hos myoidea celler och/eller molekyllär-mimicry. Hos hyperplastisk tymus eller tymom associerad med human myasthenia gravis har det upptäckts strukturella och molekyllära förändringar. Det uppkommer ektopiska germinalcentra och nya kärl, inklusive hög endotel venoler.

Det kan vara svårt att diagnosticera myasthenia gravis på grund av att sjukdomen kommer i många olika former, drabbar olika åldrar och ger olika symtom. Det finns inga specifika tester och många differentialdiagnoser att ta hänsyn till. Mer forskning kring behandling av hundar med förvärvad myasthenia gravis behövs för att kunna ge hundar en optimal behandling och öka överlevnadsgraden.

SUMMARY

Myasthenia gravis is a disease that affects the neuromuscular transmission. It occurs in two forms: congenital and acquired myasthenia gravis. The congenital myasthenia gravis is due to a defect in the acetylcholine receptor (AChR), induced by various mutations. Acquired myasthenia gravis is an immune-mediated, autoimmune disease, caused by development of autoantibodies against AChR or other protein structures in neuromuscular junctions. The disease results in muscle weakness and general fatigue. The disease can affect both humans and animals. The first case of acquired myasthenia gravis in dogs was reported in 1961. The aim of this study is to explain the cause of myasthenia gravis in dogs and the underlying immunological mechanisms, and to summarize the current knowledge about the prognosis and treatment in acquired myasthenia gravis.

The congenital form of myasthenia gravis emerges at 6-12 weeks of age and occurs more frequently in certain dog breeds, such as jack russell terrier and springer spaniel. The disease is caused by gene mutations, which leads to defective AChR. The acquired autoimmune form of myasthenia gravis is the most common, which results in formation of autoantibodies in thymus against various protein structures in the neuromuscular junctions. AChR is the most studied protein structure and target for the autoantibodies. Autoantibodies affects AChR in three ways; by increasing the degeneration of the receptors, blocking the AChR binding site and/or triggering a complement-mediated injury.

There are many theories concerning how the autoimmune condition is initiated and maintained. It has been reported that T-regulatory cells lose some of their suppressive ability and that T-helper 17 cells overexpress IL-17 which leads to an inflammatory process. Changes in thymus have been associated with myasthenia gravis in both humans and dogs. The mechanism behind the changes has not been clarified and is considered to be complex. There are some likely theories: a general dysfunction of the immune system which results in a loss of self-tolerance, antibody formation to the neurofilaments of myoid cells and/or molecular mimicry. Structural and molecular changes have been discovered in hyperplastic thymus or thymoma associated with human myasthenia gravis. New formation of ectopic germinal centers and new vessels, including high endothelial venules occurs.

It can be difficult to diagnose myasthenia gravis because of the different forms of disease affecting various ages and giving various symptoms. There are no specific tests but many differential diagnoses to take into account. More research on treatment of dogs with acquired myasthenia gravis is necessary to give dogs optimal treatment and increased survival rates.

INLEDNING

Immunförsvarets huvudsakliga uppgift är att skydda kroppen mot patogener. För att det ska fungera måste kroppen kunna skilja på främmande strukturer och strukturer som normalt finns i kroppen. I tymus genomgår naiva lymfocyter positiv och negativ selektion, vilket lär immunförsvaret (T-celler) vilka strukturer som är kroppsegna. Ibland kan denna funktion störas, vilket leder till att lymfocyter reagerar och attackerar normala strukturer i kroppen. Sådana störningar kan ge upphov till autoimmunitet (Gershwin, 2010).

Myasthenia gravis är en sjukdom som drabbar den neuromuskulära överföringen och orsakas av defekta acetylkolinreceptorer (AChR) (Shelton, 2002) eller autoantikroppar mot andra proteinstrukturer på neuromuskulära ”junctions”. Detta resulterar i generell eller fokal muskelsvaghet och muskeltrötthet (Marx *et al.*, 2013). Det finns två olika typer av myasthenia gravis, båda typerna ger i princip samma symtom, men den ena är kongenital (medfödd) och den andra är en förvärvad autoimmun typ (Shelton, 2002). Termen myasthenia gravis står för: ”myo” eller ”my” som påvisar involveringen av muskler, - ”asthenia” betyder fynd av generell svaghet och gravis står för allvarlighetsgraden hos sjukdomen (Khorzad *et al.*, 2011). Sjukdomen kan drabba både människa och andra djurslag, exempelvis hund, iller och katt (Tizard, 2013). Förvärvad myasthenia gravis rapporterades första gången hos hund år 1961 (Palmer, 1980).

Denna litteraturstudie riktar in sig på att besvara frågeställningen kring vad som orsakar myasthenia gravis hos hund och vad de bakomliggande immunologiska mekanismerna är, samt hur prognos och behandling ser ut idag vid förvärvad myasthenia gravis. Autoimmuna sjukdomar är relativt vanliga och förekommer hos ca 5% av den mänskliga befolkningen, fördelningen tros vara ungefär likadan hos domesticerade djur (Tizard, 2013).

MATERIAL OCH METODER

Artiklar i denna litteraturstudie hittades genom sökning i databaserna Primo, PubMed och Web of science. Vid litteratursökningen användes sökorden (myasthenia gravis) AND (dog* OR canine*). Sedan användes (myasthenia gravis) AND (thymoma*). Referenser från vetenskapliga artiklars referenslistor har också använts. Boken Veterinary Immunology av Tizard (2013) har använts för grundläggande fakta.

LITTERATURÖVERSIKT

Kongenital myasthenia gravis

Den kongenitala och den förvärvade formen av myasthenia gravis skiljer sig åt. Kongenital myasthenia gravis har en genetisk bakgrund och en autosomal recessiv nedärvning. Det finns inget bevis för att kongenital myasthenia gravis är associerad med autoantikroppar mot AChR eller autoimmunitet (Shelton, 2002). Defekten uppkommer på AChR på det postsynaptiska membranet och stör signalöverföringen mellan neuron och muskelcell (Rinz *et al.*, 2014). Hos människor kan defekten drabba presynaptisk, synaptisk eller postsynaptiska regioner på

neuromuskulära ”junctions”. Mer än hälften av fallen involverar en abnormitet i nikotin acetylkolinreceptorernas subenheter (Rinz, *et al.*, 2015).

De genmutationer som hittills har upptäckts hos hundar drabbade av kongenital myasthenia gravis finns i: gener som kodar för nikotin ϵ -subenheten av AChR (CHRNE), kolinacetyltransferas (CHAT) och ”collagen-like tail” subenhet av asymmetriskt acetylkolinesteras (COLQ) (Shelton, 2016). Hos jack russell består mutationen i genen CHRNE av en insertion som skapar ett ”frameshift”, vilket leder till ett för tidigt stoppkodon i den nya läsramen. Detta skapar en icke-funktionell ϵ -subenhet av AChR (Rinz *et al.*, 2015).

Mutation i genen som kodar för enzymet kolinacetyltransferas hos gammal dansk hönsehund identifierades 2007. Till skillnad från mutationen i CHRNE hos jack russell har gammal dansk hönsehund en normal uppsättning av AChR och en mutation uppkommer istället i genen CHAT som kodar för enzymet kolinacetyltransferas. Enzymet har lägre aktivitet hos hundar med kongenital myasthenia gravis än hos friska hundar utan mutationen, vilket leder till att mindre acetylkolin (ACh) bildas hos hundar med mutation i CHAT-genen. När mindre ACh bildas blir överföringen från nervcell till muskelcell nedsatt (Proschowsky *et al.*, 2007). Hos labrador retriever har det identifierats en missens-mutation i genen COLQ, som leder till att acetylkolin ACh ackumuleras och skapar en fördröjd muskelkontraktion. När AChR utsätts för en överexponering av ACh, sker en desensibilisering av AChR som leder till en sämre överföring mellan nervcell och muskelcell (Rinz *et al.*, 2014).

Förvärvad myasthenia gravis

Den vanligaste formen av myasthenia gravis är den förvärvade formen, en immun-medierad sjukdom, där det bildas autoantikroppar som riktas mot olika proteinstrukturer i neuromuskulära ”junctions”. Det kan bildas autoantikroppar riktade mot AChR, men det finns även autoantikroppar som riktar sig mot ”muscle specific kinase” (MuSK), ”agrin-receptor low-density lipoprotein receptor-related protein 4” (LRP4) och ”triple sero-negative myasthenia gravis” (som inte har en känd målproteinstruktur). De tre sistnämnda är ovanligare och det finns inte mycket forskning kring dem (Marx *et al.*, 2013).

Vid den vanligaste formen bildas autoantikroppar, som attackerar AChR i neuromuskulära ”junctions” i skelettmuskulatur. Autoantikropparna är (oftast) av immunoglobulinklass G och riktar sig vanligtvis mot ”the main immunogenic region” (MIR). MIR är en konformationsberoende region på α -1-subenheten av AChR. MIR är beläget på ett sådant sätt att autoantikropparna kan tvärbinda AChR och inducera en antigenmodulering. Autoantikropparna skapar en förlust av AChR vid den neuromuskulära överföringen och skapar en sämre överföring av nervimpulser över motorändplattan (Khorzad *et al.*, 2011).

Symtomen vid förvärvad myasthenia gravis är kopplade till muskelsvaghet, men själva produktionen av autoantikroppar och den inflammatoriska processen sätts igång i tymus (Villegas *et al.*, 2018). Det är inte helt klarlagt vad som initierar eller upprätthåller det autoimmuna tillståndet (Berrih-Aknin & Le Panse, 2014), men studier tyder på att T-celler har en aktiv roll i utvecklingen av förvärvad myasthenia gravis. CD4+ T-hjälparceller (CD4+ Th-celler) aktiveras och interagerar med B-celler vilket leder till produktion av autoantikroppar mot AChR eller mot andra muskelproteiner. Under normala förhållanden produceras

regulatoriska T-celler (Treg-celler) som inhiberar CD4⁺ Th-celler och hindrar den autoimmuna reaktionen (Khorzad *et al.*, 2011). Det finns studier som visar att Treg-celler inte är färre hos myasthenia gravis-patienter än hos friska individer, utan istället tyder det på att Treg-celler har en lägre suppressiv aktivitet (Balandina *et al.*, 2005; Thiruppathi *et al.*, 2012). Hos andra autoimmuna sjukdomar inducerade av T-celler, som multipel skleros (MS), är det CD8⁺ cytotoxiska T-celler som gör att kroppen angriper sin egen vävnad. Hos förvärvad myasthenia gravis har det inte setts någon inverkan av CD8⁺ cytotoxiska T-celler (Khorzad *et al.*, 2011).

Treg-celler är CD4⁺, CD25⁺ och FOXP3⁺ och anses viktiga för att motverka autoimmunitet (Villegas *et al.*, 2018). Enligt Balandina *et al.* (2005) och Thiruppathi *et al.* (2012) kan ett lägre uttryck av transkriptionsfaktor FOXP3 i tymus och perifert blod hos humana myasthenia gravis-patienter förklara en del av den försämrade suppressionsförmågan som setts hos Treg-celler. Om FOXP3 uttrycks hos Treg-celler beror delvis på om IL-2 transduktionsvägen inducerar en fosforylering av ”signaltransdukter och aktivator av transkription 5” (STAT5) (Villegas *et al.*, 2018). En rapport av Gradolatto *et al.* (2012) har visat förhöjda nivåer av IL-2 i serum och tymus, medan en betydligt äldre rapport av Takahashi *et al.* (1996) konstaterat att lymfocyter i blod i tymus och perifert i kroppen hos människa har en ökad sensitivitet för IL-2.

Det finns även andra faktorer som misstänks bidra, initiera eller upprätthålla den autoimmuna reaktionen, exempelvis ökade nivåer av cytokinerna interleukin-17 (IL-17) och interleukin-23 (IL-23). Naiva CD4⁺ T-celler differentierar till T-hjälpar typ 17 celler (Th17-celler) via aktivering av olika cytokiner, till exempel transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-21 (IL-21), interleukin-1 β (IL-1 β) och IL-23. Exponeringen för IL-23 sker i det sista steget av differentieringen och stabiliserar fenotypen hos Th17-cellerna och bidrar till att Th17-cellen kan producera IL-21, IL-22 och IL-17 (Villegas *et al.*, 2018). Lee *et al.* (2012) menar att en felexponering för IL-23 vid differentieringen av Th17-celler leder till att cellerna överuttrycker IL-17. Cytokinen IL-17 inducerar produktion av kemokiner och proinflammatoriska cytokiner, som bidrar till den inflammatoriska processen genom att attrahera neutrofiler och Th17-celler samt underlätta migration av B-celler och byte av immunoglobulinklass. Denna reaktion brukar kallas för IL-23/Th17 – axeln och har bevisad betydelse hos andra autoimmuna sjukdomar, som exempelvis psoriasis (Villegas *et al.*, 2018).

I normala fall finns Th17-celler i slemhinnebarriärer i kroppen, exempelvis i lunga och magslemhinna för att skydda mot patogener. Finns Th17-celler i andra vävnader kan de agera på ett felaktigt sätt och det misstänks att Th17-celler som befinner sig i vävnader där de normalt inte ska vara har en roll vid uppkomsten av autoimmuna sjukdomar. Ett exempel är hos patienter med psoriasis, där förekommer Th17-celler som uttrycker IL-17 i huden. Även hos MS-patienter har det upptäckts Th17-celler som överuttrycker IL-17 i cerebrospinalvätskan (Villegas *et al.*, 2018). Det finns ännu inga bevis för att Th17-celler som överuttrycker IL-17 finns i tymus hos myasthenia gravis-patienter, men högre nivåer av cytokinen IL-17 i serum har upptäckts (Gradolatto *et al.*, 2012). Dessutom visar studier på ett överuttryck av IL-23 receptorer hos T-celler i tymus hos myasthenia gravis-patienter (Villegas *et al.*, 2018).

Autoantikroppar påverkar AChR på tre sätt: genom att öka degenerationen av receptorerna, blockera acetylkolinets inbindning till receptorn och/eller genom att trigga en komplement-medierad skada (Tizard, 2013). Degenerationen av AChR ökar genom att autoantikropparna

tvärbinder AChR. Det gör att halveringstiden minskar och endocytosen ökar, vilket leder till minskat antal AChR (Lennon *et al.*, 1985). Autoantikropparna kan även binda till receptorer och ta den plats som acetylkolin binder till i normala fall. Det leder till att fler AChR är upptagna och ACh kan binda till färre receptorer, vilket ger mindre effekt. Den sista mekanismen involverar komplementsystemet som via aktivering av den klassiska vägen orsakar lys av det postsynaptiska membranet. En annan defekt som upptäckts hos hundar är autoantikroppar mot ryanodinreceptorn (en kanal som släpper igenom Ca^{2+} i muskelcellen) och mot det intracellulära proteinet titin (Khorzad *et al.*, 2011).

Förändringar i tymus associerade med myasthenia gravis

I vissa fall av förvärvad myasthenia gravis kan tymus visa hyperplasi, förändring i struktur eller tymuskarcinom (Tizard, 2013). Tymom är en neoplastisk proliferation av epitelceller i tymus, som oftast är infiltrerade av icke-neoplastiska lymfocyter (Berrih-Aknin & Le Panse, 2014). Studier visar att tumörerna är långsamväxande med en låg mitosaktivitet, icke-invasiva och de metastaserar sällan. Dock kan tymuskarcinom förekomma (Day, 1997).

Hos människa finns en tydlig koppling mellan förvärvad myasthenia gravis och förändringar i tymus. Det är mellan 10–15% av patienterna med myasthenia gravis som blir diagnostiserade med förändringar i tymus, bland annat tymom (Tormoehlen & Pascuzzi, 2008). Enligt Khorzad *et al* (2011) är 30–60% av patienterna med tymom associerade med förvärvad myasthenia gravis. Det finns även ett samband hos hund där 30–50% av hundarna som har blivit diagnostiserade med tymom också lider av myasthenia gravis (Khorzad *et al.*, 2011). Hos humanpatienter med tymom har det upptäckts en kombination av autoantikroppar mot AChR och mot andra proteiner som är viktiga för överföring mellan nervcell och skelettmuskelcell. Titin, ryanodinreceptorn, myosin och α -actinin är exempel på sådana proteiner som autoantikropparna kan rikta sig mot både hos människa och hund. Dessa antikroppar kallas antistriational-antikroppar i fall med tymom i kombination med myasthenia gravis. Det misstänks att autoantikroppar mot andra proteiner i kombination med autoantikroppar mot AChR eventuellt kan leda till en allvarligare sjukdom (Khorzad *et al.*, 2011).

Kopplingen mellan förändringar i tymus och myasthenia gravis är ännu inte klarlagt och det anses vara ett komplext samband som tros kunna involvera följande: en generell dysfunktion i immunsystemet som resulterar i förlust av självtolerans (Lewis, 1994; Paciello *et al.*, 2003). Antikropps bildning mot neurofilamenten hos myoidea celler i tymus, vilka har en antigenlikhet med AChR (Wood *et al.*, 2001; Paciello *et al.*, 2003). En immunrespons mot infektionsagens som liknar AChR, vilket triggar en autoimmunreaktion. Enligt Schwimbeck *et al* (1989) hade 6 av 40 humanpatienter med myasthenia gravis, antikroppar bundna till en peptidfrekvens av herpes simplex virus, som är homolog med en sekvens av acetylkolinreceptorns α - subenheten.

Hos människa med myasthenia gravis och hyperplastisk tymus finns nyare studier som visar att de har ett ökat uttryck och utsöndring av proinflammatoriska cytokiner, exempelvis IL-6, IL-1 β , interferon- γ (IFN- γ), tumor necrosis factor- α (TNF- α) och TGF- β 1. Dessa patienter har även en onormal fördelning mellan Treg-celler och Th17-celler. Dessutom har Treg-cellerna uppvisat en defekt regulatorisk funktion, samtidigt som effektor T-celler visar en resistens mot suppression (Villegas *et al.*, 2018).

Remodellering av tymus

Hos hyperplastisk tymus eller tymom associerad myasthenia gravis hos människa har strukturella och molekylära förändringar beskrivits. En förändring är uppkomst av ektopiska germinalcentra i perivaskulära utrymmen i märgen i tymus. Förändringen associeras med nybildning av blodkärl och lymfkärl, inklusive bildandet av hög endotel venoler. Studier visar att de patologiska förändringarna i tymus inte beror på produktion av autoantikroppar i periferin, utan förändring och produktion av autoantikroppar i tymus. Vad som triggar förändringarna i tymus är okänt, men det är tydligt att ett starkt inflammatoriskt tillstånd bidrar till utvecklandet av hyperplastisk tymus (Le Panse *et al.*, 2010).

Epitelialcellerna i tymus (TEC) har en central roll i förändringarna. TEC är involverade i självtolerans och utvecklandet av Treg-celler (Le Panse *et al.*, 2010). Enligt Marx *et al* (2010) har det upptäckts en defekt i uttrycket av den autoimmuna regulator (AIRE), som normalt driver uttrycket av perifera vävnaders autoantigen (bland annat AChR α -subenhet) i TEC. TEC presenterar autoantigen för T-celler direkt eller genom att leverera autoantigen till dendritiska celler som sedan presenterar antigen för T-celler och på så sätt eliminerar autoreaktiva T-celler. Neoplastiska TEC uttrycker reducerade nivåer av "human leukocyte antigen-klass II" (HLA-klass II), som påverkar både den positiva och negativa selektionen i tymus. Tillsammans med reducerade nivåer av AIRE och HLA-klass II påverkas utvecklandet av Treg-celler. Om TEC:s uttryck förändras vid myasthenia gravis kan det förklara hur defekta Treg-celler utvecklas. En del studier visar även att TEC uttrycker mindre andel själv-antigen, vilket leder till lägre tolerans hos Treg-celler (Le Panse *et al.*, 2010).

I normal tymus finns en liten andel B-celler. Studier visar att det sker en onormal ökning av B-celler hos myasthenia gravis-patienter jämfört med friska individer (Le Panse *et al.*, 2010). B-cellerna har även visat sig producera autoantikroppar mot AChR (Berrih-Aknin & Le Panse, 2014). Studier visar på mindre andel myoida celler i hyperplastiska tymus, vilket tyder på skador eller destruktion av myoida celler. Det leder till frisläppande av AChR-fragment som fångas upp av antigenpresenterande celler (TEC och dendritiska celler), vilket triggar en produktion av autoantikroppar mot AChR (Le Panse *et al.*, 2010).

Genom att utsöndra flera cytokiner som både upprätthåller den inflammatoriska processen och rekryterar fler lymfocyter genom de nya kärnen till tymus, kan utvecklandet av ektopiska germinalcentra ske (Le Panse *et al.*, 2010). Det har upptäckts att B-celler, TEC och dendritiska celler i tymus hos myasthenia gravis patienter utsöndrar högre nivåer av kemokinerna CXCL13 och CCL21. Studier visar att CXCL13 och CCL21 attraherar B-celler till tymus (Berrih-Aknin & Le Panse, 2014). Förändringen i tymus har setts hos humana myasthenia gravis-patienter med autoantikroppar mot AChR, men MuSK+ patienter visar färre eller inga patologiska förändringar i tymus (Le Panse *et al.*, 2010).

Diagnos, prognos och behandling

Förvärvad myasthenia gravis bör övervägas hos alla hundar med förvärvad megaesofagus och dysfagi eller med generell muskelsvagheter som förvärras vid motion. Blodprov, urinprov och röntgen av thorax är ett första steg för att utesluta andra sjukdomar. På röntgen kan megaesofagus, aspirationspneumoni eller förstörd tymus upptäckas. Det finns flera

differentialdiagnoser som veterinären bör ha i åtanke, exempelvis: hypothyroidism, kraftig hypoglykemi sekundär till neoplasi i pankreas, elektrolytrubbningar (hypokalcemi och hyperkalemi), andra myopatii eller neuropatii (exempelvis polymyositis). Även fästingparalys, hypoadrenokorticism och botulism är tänkbara differentialdiagnoser (Khorzad *et al.*, 2011).

Vid misstänkt fall av förvärvad myasthenia gravis kan ett edrofoniumkloridtest utföras. Det innebär en gradvis injektion av acetylkolinesterashämmaren edrofoniumklorid i patienten, om en tillfällig ökning i muskelstyrka kan observeras räknas provet som positivt. Detta test har sina begränsningar och är inte tillräckligt specifikt eller känsligt, då ett negativt utslag inte kan utesluta sjukdom men ett kraftigt positivt utslag kan indikera på myasthenia gravis (Khorzad *et al.*, 2011). Det finns ett mer specifikt och känsligare test för både människor och djur, radioimmunologisk ”assay” (RIA). RIA är det ”gyllene standardtestet” och kan vid påvisande av autoantikroppar mot AChR i serum bekräfta diagnosen myasthenia gravis. Även detta test har begränsningar då det finns myasthenia gravis-patienter som är seronegativa och därför inte har cirkulerande autoantikroppar, alternativt har autoantikroppar mot andra proteinstrukturer än AChR (Shelton, 1999; Shelton, 2000). Inom humanmedicinen används ”Single-fiber EMG” för att diagnostisera sjukdomar som påverkar neuromuskulära ”junctions” hos exempelvis seronegativa myasthenia gravis-patienter (Khorzad *et al.*, 2011; Selvan, 2011).

Förvärvad myasthenia gravis hos hund och människa liknar varandra, men den största skillnaden är prognosen. Hos människa är prognosen god vid rätt behandling medan hundarnas prognos beror på om de utvecklar megaesofagus eller inte. Hundar har en stor andel tvärstrimmig muskulatur runt esofagus och därför har de en stor risk att utveckla megaesofagus vid förvärvad myasthenia gravis. Megaesofagus har rapporterats i ca 85% av fallen hos hund och ökar risken för aspirationspneumoni, vilket tillsammans med avlivning är de två vanligaste dödsorsakerna (Stenner *et al.*, 2003). Den sämre prognosen för hundar med förvärvad myasthenia gravis beror mestadels på att behandlingar som utförs på människa inte fått någon utbredd acceptans inom veterinärmedicinen. Hos hund är det endast behandling med antikolinesteras som sätts in, medan patienter inom humanmedicinen även behandlas med tymektomi och immunsuppressiva läkemedel (Stenner *et al.*, 2003). En retrospektiv studie av 25 hundar med förvärvad myasthenia gravis visade att immunsuppressiv behandling var den enda behandlingen som hade en signifikant positiv effekt på patienternas överlevnad (Dewey *et al.*, 1997).

Antikolinesteras läkemedel (vanligast pyridostigmine) lindrar symtomen och ger tillbaka muskelstyrka, dock varierar effekten mellan olika individer (Stenner *et al.*, 2003). Denna behandling lindrar endast symtomen och behandlar inte det autoimmuna tillståndet (Khorzad *et al.*, 2011). Utan någon behandling kommer ungefär hälften av hundarna att avlida, men det finns fall där symtomen spontant minskar eller försvinner (Tizard, 2013). Att sjukdomen kan gå tillbaka spontant visar även andra studier (Khorzad *et al.*, 2011) men en enskild behandlingsplan anpassad efter graden av symtom behövs alltid. Inom humanmedicinen behandlas ofta autoimmuna sjukdomar med kortikosteroider under en kort tid. Kortikoidernas verkningsmekanism vid autoimmuna sjukdomar är oklar, men de tros kunna binda till intracellulära receptorer och reglera genuttryck och på så sätt nedreglera immunförsvaret. Kortikosteroider kan även hämma makrofagernas cytokinproduktion samt minska

neutrofilernas migration. Kortikosteroider ger dock stora biverkningar på djur (Khorzad *et al.*, 2011). Behandlingsalternativen för hundar med neoplastiska typen av myasthenia gravis är tymektomi, kemoterapi och strålningsbehandling. En studie gjord 1994 visade dock att hundar med tymom tillsammans med megaesofagus har en kortare överlevnadstid (Khorzad *et al.*, 2011). Tymektomi har även mindre effekt vid MuSk+ myasthenia gravis (Le Panse *et al.*, 2010).

Symtom

De första tecknen djurägaren vanligtvis ser är att hunden lätt blir trött och att den inte orkar samma typ av motion som tidigare. Stegen blir kortare och hunden kan visa ovilja att röra på sig, på grund av att musklerna i frambenen är de första att påverkas. Dock är det ofta svaghet i bakbenen som är det första symtomet djurägare upptäcker. Andra symtom är att hunden har svårt att hålla upp huvudet och svårt att svälja (Palmer, 1980).

Förvärvad myasthenia gravis klassificeras i olika grupper beroende på utbredning och de kliniska symtomens allvarlighetsgrad. Grupperna delas in i fokala, systemisk/generell och ”explosiv” myasthenia gravis. Det kan även förekomma en neoplastisk form, där myasthenia gravis förekommer tillsammans med tymom eller andra typer av neoplasier (Khorzad *et al.*, 2011). Hundar med den fokala formen av sjukdomen uppvisar svaghet i ansikts-, faryngal-, esofageal- och laryngealmusklerna (Pedersen, 1999; Khorzad *et al.*, 2011), som kan ge dysfagi och hängande ögonlock (Shelton, 2016). Vid denna form ses ej någon histologisk eller klinisk muskelsvaghet i frambens- och bakkensmuskulatur (Pedersen, 1999). Den fokala formen förekommer i 36–43% av kliniska fall hos hund (Khorzad *et al.*, 2011). Den systemiska/generella formen av myasthenia gravis förekommer i 57–64% av kliniska fall hos hund och många av dem utvecklar megaesofagus (Khorzad *et al.*, 2011) som ofta förknippas med aspirationspneumoni på grund av regurgitation (Lewis, 1994; Day, 1997). Symtomen kan variera mycket i den generella/systemiska formen, från mild till allvarlig muskelsvaghet i den appendikulära muskulaturen, som oftast induceras av motion (Khorzad *et al.*, 2011).

Den ”explosiva” formen är den allvarligaste formen av förvärvad myasthenia gravis. Den har ett akut förlopp och orsakar tetraparalys, andningssvårigheter och aspirationspneumoni som kan leda till kollaps. Den här formen är inte vanlig och förekommer hos mindre än 5% av de hundar som drabbas av den generella/systemiska formen. Den har sämre prognos och har högre dödlighet än de andra formerna (Khorzad *et al.*, 2011). Kliniska symtom vid förvärvad myasthenia gravis kan uppkomma i vilken ålder som helst, men hundarna är ofta äldre än fyra månader (Shelton, 2016). Vanligaste åldern för sjukdomen är vid två års ålder med undantag av de hundar som drabbas av den neoplastiska formen som uppträder senare i livet (Palmer, 1980).

Kliniska symtom för kongenital och förvärvad myasthenia gravis är liknande men med några skillnader. Kongenital myasthenia gravis framträder vid 6–12 veckors ålder (Khorzad *et al.*, 2011) och visar sig i form av att valpen inte är lika aktiv som sina kullsyskon. Svaghet i bakbenen är första tecknet följt av svaghet i framben och nacke. Sjuka valpar kan även drabbas av dysfagi, men till skillnad från den förvärvade myasthenia gravis förekommer vanligtvis inte megaesofagus hos den kongenitala formen (Palmer, 1980).

Predisponerade djur

Den kongenitala formen av myasthenia gravis förekommer mer frekvent hos vissa raser, exempelvis jack russell terrier, springer spaniel och släthårig fox terrier (Palmer, 1980). Kliniska fall har även upptäckts hos hundar av raserna tax och gammel dansk hönsehund (Rinz *et al.*, 2014).

Den förvärvade formen av myasthenia gravis drabbar vuxna hundar och kan utvecklas hos de flesta raser (Tizard, 2013). Hundar av större raser förefaller drabbas mer frekvent och det har inte upptäckts någon skillnad mellan kön (Palmer, 1980). Schäfer, golden retriever, labrador retriever och tax räknas till de raser som är predisponerade (Tizard, 2013). Renrasiga hundar har större risk att drabbas än blandrashundar enligt rapporter från Pedersen (1999) och Shirani *et al* (2011).

DISKUSSION

Myasthenia gravis är en sjukdom som har studerats sedan 1970-talet med fokus på autoantikroppar mot AChR. Upptäckten av autoantikroppar mot andra proteinstrukturer är nyligen gjorda och om dem finns inte samma kunskap (Marx *et al.*, 2013). Myasthenia gravis är en komplex sjukdom och det finns många teorier om vad som initierar och vidmakthåller det autoimmuna tillståndet. Det som verkar mest troligt är att det är en multifaktoriell sjukdom, det vill säga en kombination av avvikelser som gör att immunförsvaret börjar reagera på sin egen vävnad (Berrih-Aknin & Le Panse, 2014).

Villegas *et al* (2018) tar upp den potentiella betydelsen av FOXP3 för Treg-cellernas nedsatta suppressiva kapacitet. I studier av Balanida *et al* (2005) och Thriuppathi *et al* (2012) har det upptäckts att Treg-celler hos humana myasthenia gravis-patienter uttrycker mindre av transkriptionsfaktorn FOXP3. Cytokinet IL-2 är en viktig del i Treg-cellers uttryck av FOXP3 och en rapport av Gradolatto *et al* (2012) visar förhöjda nivåer av IL-2, medan en rapport från Takahashi *et al* (1996) påvisat att lymfocyter i blod hos människa har en ökad sensitivitet för IL-2. Detta tyder på att det inte är en avvikande IL-2 signalering som stör Treg-cellernas uttryck av FOXP3 utan istället en defekt i fosforyleringen av STAT5 efter IL-2 signaleringen, som leder till minskad fosforylering av STAT5 och mindre uttryck av FOXP3.

Vid andra autoimmuna sjukdomar, exempelvis psoriasis är det känt att IL-23/Th17 – axeln har en stor del i uppkomsten av autoimmuniteten. Betydelsen av IL-23 och Th17-celler har ännu inte kunnat bevisas vid myasthenia gravis, men Gradolatto *et al* (2012) har påvisat en högre nivå av IL-17 i serum hos humanpatienter med myasthenia gravis. Dessutom finns indikationer på ett högre uttryck av IL-23 receptorn hos T-celler i tymus hos dessa patienter. Det kan tyda på att IL-23/Th17-axeln även har en betydelse för initieringen och upprätthållandet av det inflammatoriska tillståndet vid myasthenia gravis (Villegas *et al.*, 2018). Mer forskning om IL-23/Th17-axeln och det eventuella sambandet med myasthenia gravis krävs för att säkert kunna avgöra dess betydelse.

Kopplingen mellan tymom eller hyperplastisk tymus och förvärvad myasthenia gravis hos både människa och hund är väl dokumenterade (Khorzad *et al.*, 2011). Det finns flera teorier om varför hyperplastisk tymus kan ge upphov till myasthenia gravis, men ingen av dessa är helt

klarlagda. En av dessa teorier är molekyllär mimicry, det vill säga ett infektionsagens som liknar AChR skulle trigga en autoimmunreaktion efter att infektionen är över (Schwimmbeck *et al.*, 1989). Det kan dock bli problem att bevisa det eventuella sambandet mellan infektiöst agens och myasthenia gravis på grund av tidförloppet mellan infektion och att symtom uppkommer (Le Panse *et al.*, 2010). Studierna av remodeleringen av tymus är gjorda på människa och det krävs mer studier för att säkerställa om det finns liknande förändringar hos hund.

Den senaste forskningen sker framför allt inom humanmedicinen, men skillnaden mellan myasthenia gravis hos människa och hund är små. Därför bör det utföras mer forskning kring samma mekanismer hos hund för att kunna ge hundar med myasthenia gravis bättre behandling. Skillnader mellan myasthenia gravis hos människa och hos hund är att hundar utvecklar megaesofagus och att sjukdomen kan genomgå spontan remission. Megaesofagus ger en dålig prognos för hundarna (Stenner *et al.*, 2003) men genom att symtomen spontant kan minska eller försvinna kan hundar behandlas symtomatiskt i väntan på att symtomen spontant går tillbaka (Khorzad *et al.*, 2011).

Det kan vara svårt att diagnostisera myasthenia gravis på grund av att sjukdomen kommer i många olika former, drabbar olika åldrar och ger olika symtom. Det finns inga specifika tester och de många differentialdiagnoser att ta hänsyn till bidrar till den svåra diagnostiseringen. Det kan leda till lång tid innan patienten får rätt diagnos och behandling. Människa med misstänkt myasthenia gravis behandlas ofta med glykokortikoider en kort tid, men det är inte ett bra alternativ för hundar då det ger kraftiga biverkningar (Khorzad *et al.*, 2011). Den behandling som i studier visat sig ge bra resultat på hund och signifikant minska dödligheten är immunsuppressiv behandling, men den är inte lika accepterad inom veterinärmedicinen som antikolinesteras behandlingen är (Stenner *et al.*, 2003). På grund av att hundar ofta utvecklar megaesofagus, vilket leder till regurgitation som kan ge aspirationspneumoni, är det en risk att ge immunsuppressiva läkemedel till hund (Dewey *et al.*, 1997). Att dämpa immunförsvaret kan göra mer skada än nytta, då en förvärrad pneumoni kan skada djuret mer än läkemedlet lindrar övriga symtom.

Förvärvad myasthenia gravis är en autoimmun sjukdom där autoantikroppar bildas och riktas mot proteinstrukturer på neuromuskulära ”junctions”. Det är komplex sjukdom där orsak till vad som initierar och bibehåller det autoimmuna tillståndet är oklart. Flera möjliga teorier finns, men mer forskning krävs för att klarlägga sjukdomens mekanismer och på så sätt utveckla en bättre behandling för hundar.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Balandina, A., Lécart, S., Darteville, P., Saoudi, A. & Berrih-Aknin, S. (2005). Functional defect of regulatory CD4+CD25+ T cells in the thymus of patients with autoimmune myasthenia gravis. *Blood*, 105 :735-741.
- Berrih-Aknin, S & Le Panse, R. (2014). Myasthenia gravis: A comprehensive review of immune dysregulation and etiological mechanism. *Journal of Autoimmunity*, 52 :90-100.
- Day, M. (1997). Review of thymic pathology in 30 cats and 36 dogs. *Journal of small Animal Practice*, 38: 393-403.
- Dewey, C. W., Bailey, C. S., Shelton, D. G., Kass, P. H. & Cardinet III, G. (1997). Clinical Forms of Acquired Myasthenia Gravis in dogs: 25 cases (1988-1995). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 11: 50-57.
- Gershwin, L. J. (2010). Autoimmune Diseases in Small Animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 40: 439-457.
- Gradolatto, A., Nazzari, D., Foti, M., Bismuth, J., Truffault, F., Le Panse, R. & Berrih-Aknin, S. (2012). Defects of immunoregulatory mechanisms in myasthenia gravis: role of IL-17. *Annals of the New York academy of sciences*, 1274: 40-47.
- Khorzad, R., Whelan, M., Sisson, A. & Shelton, G. (2011). Myasthenia gravis in dogs with an emphasis on treatment and critical care management. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 21: 193-208.
- Le Panse, R., Bismuth, J., Cizeron-Clairac, G., Weiss, J. M., Cufi, P., Darteville, P., Karlero de rosbo.N. & Berrih-aknin, S. (2010). Thymic remodeling associated with hyperplasia in myasthenia gravis. *Autoimmunity*, 43: 401-412.
- Lee, Y., Awasthi, A., Yosef, N., Quintana, F. J., Xiao, S., Peters, A., Wu, C., Kleinewietfeld, M., Kunder, S., Hafler, D., Sobel, R., Regev, A. & Kuchroo, V. K. (2012). Induction and molecular signature of pathogenic Th17 cells. *Nature Immunology*, 13: 991-999.
- Lennon, V. A., McCormick, D. J., Lambert, E. H., Griesmann, G. E. & Atassi, M. (1985). Region of peptide 125-147 of acetylcholine receptor α subunit is exposed at neuromuscular junction and induces experimental autoimmune myasthenia gravis, T-cell immunity and modulating autoantibodies. *National Academy of Sciences*, 82: 8805-8809.
- Lewis, R. M. (1994). Immune-mediated muscle disease. *Veterinary clinics of north america: small animal practice*, 24: 703-710.
- Marx, A., Pfister, F., Schalke, B., Saruhan-Direskeneli, G., Melms, A. & Ströbel, P. (2013). The different roles of the thymus in the pathogenesis of the various myasthenia gravis subtypes. *Autoimmunity reviews*, 12: 875-884.
- Paciello, O., Maiolino, P., Navas, L. & Papparell, S. (2003). Acquired Canine Myasthenia Gravis Associated with Thymoma: Histological Features and Immunohistochemical Localization of HLA typ II and IgG. *Veterinary Research Communications*, 27: 715-718.
- Palmer, A. (1980). Myasthenia Gravis. *Veterinary clinics of north america: Small animal practice*, 10: 213-221.
- Pedersen, N. C. (1999). A review of immunologic diseases of the dog. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 69: 251-342.

- Proschowsky, H. F., Flagstad, A., Cirera, S., Joergensen, C. B. & Fredholm, M. (2007). Identification of a mutation in the CHAT gene of old danish pointing dogs affected with congenital myasthenic syndrome. *Journal of heredity*, 98: 539-543.
- Rinz, C. J., Lennon, V. A., James, F., Thoreson, J. B., Tsai, K. L., Starr-Moss, A. N., Humphries, D.H., Guo, L.T., Plamer, A.C., Clark, A.L. & Shelton, D. G. (2015). A CHRNE frameshift mutation causes congenital myasthenic syndrome in young Jack Russell Terriers. *Neuromuscular Disorders*, 25: 921-927.
- Rinz, C. J., Levine, J., Minor, K. M., Humphries, H. D., Lara, R., Starr-Moss, A. N., Guo, L.T., Williams, C.D., Shelton, D.G. & Clark, L. A. (2014). A COLQ Missense Mutation in Labrador Retrievers having Congenital Myasthenic syndrome. *PLoS one*. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106425>. 2018-02-13
- Schwimmbeck, P. L., Dyrberg, T., Drachman, D. B. & Oldstone, M. B. (1989). Molecular mimicry and myasthenia gravis. An autoantigenic site of the acetylcholine receptor alpha-subunit that has biologic activity and reacts immunochemically with herpes simplex virus. *The journal of Clinical Investigation*, 84: 1174-1180.
- Selvan, V. (2011). Singel-fiber EMG: A review. *Annals of Indian Academy of Neurology*, 14: 64-67.
- Shelton, D. G. (1999). Acquired myasthenia gravis: what we have learned from experimental and spontaneous animal models. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 69: 239-249.
- Shelton, D. G. (2016). Masthenia gravis and congenital myasthenic syndromes in dogs and cats: A history and mini-review. *Neuromuscular disorders*, 26: 331-334.
- Shelton, G. D. (2002). Myasthenia gravis and disorders of neuromuscular transmission. *Veterinary clinics of north america: small animal practice*, 32: 189-206.
- Shirani, D., Ardestani, B. Z., Ardestani, S. Z. & Mohyedini, S. (2011). Clinical diagnosis and different management of acquired myasthenia gravis in a Pekingese. *Comparative clinical pathology*, 20: 285-287.
- Stenner, V., Parry, B. & Holloway, S. (2003). Acquired myasthenia gravis associated with a non-invasive thymic carcinoma in a dog. *Australian veterinary journal*, 81: 543-546.
- Takahashi, K., Monden, Y., Saito, S., Kamamura, Y. & Uyama, T. (1996). Myasthenia Gravis induces the Activation and Maturation of Lymphocytes in Thymoma. *Journal of Clinical Immunology*, 16: 190-197.
- Thiruppathi, M., Rowin, J., Ganesh, B., Sheng, J. R., Prabhakar, B. S. & Meriggioli, M. N. (2012). Impaired Regulatory Function in Circulating CD4⁺CD25^{high}CD127^{low} T cells in Patients with Myasthenia Gravis. *Clinical immunology*, 145: 209-223.
- Tizard, I. R. (2013). *Veterinary Immunology*. 9 uppl. Ames: Elsevier saunders.
- Tormoehlen, L. M. & Pascuzzi, R. M. (2008). Thymoma, Myasthenia gravis, and Other Paraneoplastic Syndromes. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 22: 509-526.
- Villegas, J. A., Van Wassenhove, J., Panse, R. L., Berrih-aknin, S. & Dragin, N. (2018). An imbalance between regulatory T cells and T helper 17 cells in acetylcholine receptor-positive myasthenia gravis. *Annals of the new york academy of sciences*, 1413: 154-162.
- Wood, S., Rosenstein, D. & Bechuk, T. (2001). Myasthenia gravis and thymoma in a dog. *Veterinary Record*, 148: 573-574.