



Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

# **Mastcellens roll vid recurrent airway obstruction**

*Anna Sjöblom*

---

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011: 27

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2011

---





Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

## **Mastcellens roll vid recurrent airway obstruction**

The mast cells roll in recurrent airway obstruction

*Anna Sjöblom*

**Handledare:**

Gunnar Pejler, SLU, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

**Examinator:**

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Omfattning:** 15 hp

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** EX0700

**Program:** Veterinärprogrammet

**Nivå:** Grund, G2E

**Utgivningsort:** SLU Uppsala

**Utgivningsår:** 2011

**Omslagsbild:** -

**Serienamn, delnr:** Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011: 27  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

**On-line publicering:** <http://epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** Recurrent airway obstruction, häst, mastcell, typ 1-hypersensitivitet, allergen, kvickdrag.

**Key words:** Recurrent airway obstruction, horse, mast cell, typ 1 hypersensitivity, allergen, heaves.



## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

<b>SAMMANFATTNING</b> .....	<b>1</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>2</b>
<b>INLEDNING</b> .....	<b>3</b>
<b>MATERIAL OCH METODER</b> .....	<b>3</b>
<b>LITTERATURÖVERSIKT</b> .....	<b>3</b>
MASTCELL .....	3
<i>Bakgrund</i> .....	3
<i>Funktion</i> .....	4
HÄSTENS MASTCELL .....	5
RECURRENT AIRWAY OBSTRUCTION .....	6
MASTCELLENS ROLL VID RAO .....	6
<i>Studier positiva till mastcellens roll vid RAO</i> .....	7
<i>Studier negativa till mastcellens roll vid RAO</i> .....	9
<b>DISKUSSION</b> .....	<b>11</b>
<b>LITTERATURFÖRTECKNING</b> .....	<b>13</b>

## **SAMMANFATTNING**

Den här litteraturstudien tar upp frågeställningen kring mastcellens roll vid recurrent airway obstruction (RAO) hos häst. RAO är en icke-infektiös luftvägssjukdom som leder till prestations- och träningsnedsättning. Mastcellen är en cell som spelar stor roll i det medfödda immunförsvaret. Mastcellen spelar även en stor roll vid typ 1-hypersensitivitet. Att känna till etiologin bakom RAO är viktigt för att kunna komma till rätta med problemet. Flera forskare har på senare tid studerat RAO:s bakomliggande orsaker. I denna litteraturstudie tas flera av dessa studier upp. Studierna ger dock inte samma bild om mastcellens roll vid RAO. En del forskningsresultat tyder på ett samband medan andra forskningsresultat visar på motsatsen. Sammanfattningsvis kan man säga att det behövs mer forskning inom ämnet då det fortfarande är mycket oklart huruvida mastcellen är orsaken till RAO eller inte. Detta gör att man troligtvis kan säga att etiologin bakom RAO är mer komplicerad än att bara handla om mastcellen. Denna litteraturstudie tar även upp hästens fenotyp av mastcell. Lite forskning har dessvärre gjorts i ämnet och mer forskning skulle behövas. Att känna till hästens mastcellsfenotyp är viktigt för att hitta orsaken bakom RAO hos häst.

## **SUMMARY**

This work addresses the possible role of mast cells in recurrent airway obstruction (RAO) in horses. RAO is a non-infectious airway disease which leads to performance reduction and exercise reduction. The mast cell is an important cell in the innate immunity. The mast cell also plays an important role in type 1 hypersensitivity. It is important to understand the etiology behind RAO in order to reduce the number of horses suffering from it. Many scientists have studied this issue during the past years. In this work many of those studies are summarized. These studies do not all provide the same picture as regards the etiology behind RAO. Some results indicate that there is a correlation between mast cells and RAO while others indicate that there is no correlation. It is therefore clear that more research is needed. This shows that the etiology behind RAO is much more complicated than the disease just being caused by the mast cell itself. This work also addresses the phenotype of the mast cell in the horse. There is little research done in this issue and more is needed. It is important to understand the phenotype of the mast cell in horses in order to further dissect the etiology behind RAO in horses.

## **INLEDNING**

RAO, recurrent airway obstruction, är en icke-infektiös sjukdom som drabbar luftvägarna hos häst. Sjukdomen ger perioder då hästar varken kan tränas eller tävla ordentligt. Idag används hästar mer och mer både som sällskapshäst inom hobbyridning men även som tävlingsindivid. Hästar med RAO kommer sannolikt inte att kunna prestera så bra som ägaren önskat och dessutom innebär sjukdomen svårigheter för hästen själv.

Det är idag oklart vad som orsakar RAO men att det kanske kan vara en allergisk reaktion med mastcellens inverkan är en teori. Det är därför av vikt att undersöka huruvida mastcellen spelar roll vid RAO eller inte.

Min frågeställning är om det finns något bevis i vetenskapliga artiklar för att mastcellen spelar en roll vid RAO hos häst. Jag kommer sammanfatta viktiga studier i en litteraturstudie.

Det är också av vikt att studera funktion och struktur av mastcellen hos häst. Mastcellen spelar stor roll i det medfödda immunsvaret som kroppen har mot allergener eller patogener som tar sig in i kroppen. Därför kommer jag även ta upp studier som belyst detta.

## **MATERIAL OCH METODER**

Jag har sökt på SLU:s databaser på PubMed och Web of knowledge. Mina sökord har varit: horse OR horses, Recurrent airway obstruction, mast cell, Chronic obstructive pulmonary disease, airways, type 1 hypersensitivity, AND, OR. Mina flesta sökningar har varit på horse OR horses AND recurrent airway obstruction samt horse OR horses AND mast cell. Via intressanta artiklar gick jag vidare till nya referenser. Jag sökte också vidare till relaterade artiklar från SLU:s hemsida. De flesta artiklar har funnits på PubMed och några få på Web of Knowledge. Sedan har jag använt mig av en lärobok i immunologi samt att några artiklar fanns i tidskriftsformat på veterinärbiblioteket på SLU.

Jag har tagit personlig kontakt med leg.vet. Eva Wattrang angående hästens mastcell då hon arbetat länge med veterinär immunologi. Hon har hjälpt mig att hitta två bra artiklar i detta ämne.

## **LITTERATURÖVERSIKT**

### **Mastcell**

#### ***Bakgrund***

1878 upptäcktes mastcellen av den tyske forskaren Paul Ehrlich och den har fått sitt namn efter det tyska ordet Mastzellen som betyder "välfödd" (Pejler et al., 2009, Tizard, 2009).

Mastcellen härstammar från hematopoetiska stamceller från benmärgen. De cirkulerar runt i blodet som progenitorceller som sedan differentierar när de kommer till sin vävnad. När de hittat sin vävnad differentierar de till rätt typ av mastcell. Man hittar mastceller i bindväv, i



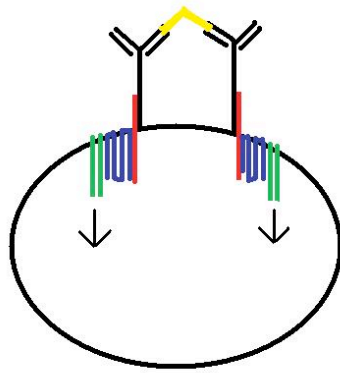
submucosa samt i huden. Störst antal mastceller hittar man dock i vävnader som är väl kärlförsörjda vävnader i hud, luftvägar och gastorintestinala kanalen då dessa vävnader kommer att utsättas för flest allergener och patogener (Galli and Tsai, 2010). Mastceller är en långlivad cell som kan leva i månader eller till och med år (Abraham and St John, 2010).

Mastcellen har förmåga att anpassa sin fenotyp till vilken sorts mastcell som behövs i den vävnad den befinner sig i. Beroende på signaler från omgivningen såsom cytokiner, tillväxtfaktorer och kemokiner kan mastcellen gå tillbaka in i cellcykeln, differentiera vidare eller proliferera till den typ som passar kroppen bäst. Detta kommer att påverka mastcellens överlevnad och utmognad. Det är stamcells faktorn (KIT-ligand) som är den viktigaste faktorn för mastcellens överlevnad och utveckling (Galli and Tsai, 2010).

### **Funktion**

Mastcellen är en relativt stor cell (15 – 20  $\mu\text{m}$  i diameter) och innehåller många sekretoriska granula (Tizard, 2009). Dessa granula innehåller en mängd viktiga ämnen bl.a. histamin (som är den mest välkända), cytokiner, proteaser och proteoglykaner. Heparin är en av proteoglykaner som mastcellen bildar. Mastcellen frisätter vid aktivering, förutom granula och dess ämnen, flera andra mediatorer. Förutom frisättning av dessa ämnen kan mastcellen starta en nyproduktion av andra proinflammatoriska mediatorer t.ex. andra prostaglandiner samt flera olika cytokiner (Pejler et al., 2009).

Mastcellen har en mycket viktig roll i det medfödda immunförsvaret. Vid allergiska reaktioner kommer mastcellen att påverkas av IgE som produceras genom ett Th2-svar. Th2-celler producerar IL-4 och IL-13 och dessa interleukiner påverkar B-cellerna att producera IgE. IgE binder i sin tur till två olika typer av receptorer, högaffinitets  $F_{c\epsilon}$ -receptorer och lågaffinitets  $F_{c\epsilon}$ -receptorer. På mastcellens yta sitter högaffinitetsreceptorn för IgE  $F_{c\epsilon}RI$ . Denna receptor består av fyra olika kedjor: En  $\alpha$ -kedja, en  $\beta$ -kedja och två  $\gamma$ -kedjor (Figur 1).  $\alpha$ -Kedjan binder in till IgE medan  $\beta$ -kedjan skapar stabilitet och  $\gamma$ -kedjorna skickar in signalerna i cellen. För att mastcellen ska få signalen att degranulera eller producera de andra ämnena måste IgE korsbindas på ytan av mastcellen. Detta sker genom att två IgE binder till varsin  $F_{c\epsilon}RI$  bredvid varandra. Korsbindning sker sedan genom att ett polyvalent antigen binder till bägge dessa IgE-molekyler. Men mastcellen kan också aktiveras via andra mediatorer såsom cytokiner, toxiner, bakterier eller virus. Vid aktivering via bakterier eller virus sker aktiveringen företrädevis via sk. PAMP(pathogen associated molecular pattern). PAMP binder till toll-liknande receptorer TLR1-4, 6-7 och 9. Genom denna bindning kommer mastcellen att producera specifika mediatorer och kan på så sätt skapa ett specifikt försvar. En ökning av IgE är ett tecken på en allergisk reaktion. Typ 1-hypersensitivitet beror på IgE-aktivering av mastcellen. Det finns också ett sent immunsvaret. Detta påverkas av de mediatorer som produceras lite senare i immunsvaret hos mastcellen. Dessa mediatorer kommer i sin tur att påverka andra celler i kroppen såsom eosinofiler och neutrofiler (Tizard, 2009).



Figur 1. Två IgE korsbinder till ett polyvalent antigen.  $F_{c\epsilon}RI$  består av en  $\alpha$ -kedja (röd), en  $\beta$ -kedja (blå) och två  $\gamma$ -kedjor (grön).

På mastcellens yta finns förutom  $F_{c\gamma}$ -receptorer som har affinitet för IgE även  $F_{c\epsilon}$ -receptorer som binder till IgG (Abraham and St John, 2010).

Vid en aktivering av mastcellen via IgE kan mediatorer frisättas på olika sätt. Ett sätt är genom degranulering och frisättning histamin, proteaser (t.ex. tryptas och chymas), cytokiner (t.ex. TNF) och proteoglykaner (t.ex. heparin). Detta sker väldigt snabbt, inom någon minut. En tid senare, ca 30 minuter, frisätter mastcellen leukotreiner och prostaglandiner. Flera timmar efter det frisätter mastcellen nybildade cytokiner (t.ex. TNF och IL-5), kemokiner (t.ex. IL-8) och tillväxtfaktorer (Pejler et al., 2009). Mastcellen bildar också IL-4 som i sin tur triggas B-cellerna att producera mer IgE och man får i och med detta en ökad aktivering av mastcellerna i kroppen (Tizard, 2009).

Frisättning och nybildning av alla dessa ämnen ger upphov till en kraftig inflammatorisk process i kroppen. Effekten av detta kan bli mycket dramatiskt, t.ex. vid anafylaktisk chock (Pejler et al., 2009).

Det finns två stora huvudtyper av mastceller - mastceller i mucosa och i bindväv. De har lite olika strukturer. Mucosa-mastcellen har mindre och heterogent stora granula, de är något mindre och innehåller mindre histamin än bindvävsmastcellerna. De har dessutom kortare livstid och dessa mastceller finns i interstitiell vävnad och lunga. Bindvävstypen av mastceller har fler, uniforma granula och är den större typen av dessa två. Denna typ av mastcell producerar heparin, släpper ut mycket granula, lever längre och finns i huden. Men mastcellstyper varierar beroende på immunsvaret, djurslag och individuell polymorfism (Tizard, 2009).

### Hästens mastcell

Det finns få studier om hästens specifika mastcell. Men det finns studier där man har tittat på mastceller som producerar chymas eller tryptas, som är proteaser, eller på mastceller som producerar båda två. Dessa mastceller har studerats i bronker och bronkioler. Där såg man att det finns mest chymasmastceller i bronker och i bronkioler. Dessa utgjorde 85% respektive 77% av alla mastcellstyper i vävnaden. Tryptasmastcellerna hittas mest runt blodkärlen där de

utgör 73% av det totala antalet mastceller. I bronkerna och bronkioler fanns de flesta mastcellerna i lamina propria. I studien såg man inga mastceller som producerar båda två proteaserna i lungorna (van der Haegen et al., 2005).

En annan studie påvisa att man genom att titta på mastceller i mikroskop och elektromikroskop kan se hur mastcellerna placerar sig i hästens respirationsorgan och hur mastcellerna ser ut. Mastcellerna i perifera lungan har lägst densitet medan mastcellerna i nasopharynx har högst densitet. Mastcellerna i bronkerna och bronkioler har även dessa relativt låg densitet. Man ser att majoriteten av mastcellerna, ca 80%, hittas i lamina propria i bronkerna och bronkioler. Mastcellens ultrastrukturella utseende ses inte avvika från hur mastceller ser ut i människan. Dessutom stämmer granulainnehåll väl överens mellan häst och människa (Mair et al., 1988).

### **Recurrent airway obstruction**

Recurrent airway obstruction, RAO, är en icke-infektiös luftvägssjukdom som drabbar häst. Sjukdomen kallades tidigare för chronic obstructive pulmonary disease (COPD) och har även kallats för hyperaktiv lungsjukdom. På engelska används begreppet heaves. På svenska går sjukdomen under namnet kvickdrag. Under International Workshop of Equine Chronic Airway Disease beslutade man att inte längre använda termen COPD till häst då den lätt kan sättas i samband med KOL på människa och COPD har mycket få likheter vilket därför skulle kunna skapa förvirring. Sjukdomen finns över hela världen och drabbar mest äldre hästar. Flera studier visar på en medianålder av 12 år. Man ser även ett ökat antal sjuka hästar i länder där hästarna ofta står inne på halm och äter hö inomhus (Reed et al., 2010).

Symptomen kan variera mellan mild till kraftig respiratorisk nedsatthet. Hos vissa hästar blir symptomen värre vid ansträngning (Léguillette, 2003).

Hästar med RAO är dock oftast feberfria men har hosta, mucopurulent näsflöde och ökad ansträngd andning. Efter en längre tids kronisk sjukdom utvecklas hypertrofi av *musculus abdominus obliquus externus* detta på grund av att man måste använda denna muskel mera vid bukandning. Detta fenomen kallas även "heave line". Andningsfrekvensen kan öka men det är inte nödvändigt. I allvarliga fall kan hästarna drabbas av viktminskning, flackande närborrar eller oförmåga till träning (Reed et al., 2010).

Man diagnostiserar RAO via den kliniska bilden och via cytologisk provtagning av BALF (bronchoalveolar lavage fluid) (Reed et al., 2010).

### **Mastcellens roll vid RAO**

Det är viktigt att komma fram till de bakomliggande orsakerna för att förstå etiologi och för att kunna hitta adekvat behandling för RAO. Mastcellens roll vid RAO har varit kontroversiell och många studier har gjorts för att komma fram till hur stor roll mastcellen spelar vid denna sjukdom.

### **Studier positiva till mastcellens roll vid RAO**

Dåligt och dammigt hö ses som en viktig exponeringskälla för allergener som kan orsaka typ 1-hypersensitivitet och eventuellt även RAO. Flera forskare väljer därför att undersöka dessa allergener i sina studier. En studie gjord på 5 sjuka RAO-hästar och 5 kontrollhästar hade syftet att undersöka lungmastcellernas kapacitet att degranulera då hästarna utsätts för allergen. De gavs gammalt och möjligt hö. Man tittade fram för allt på histaminfrisättningen som tros spela stor roll vid allergiska reaktioner och som är ett resultat av mastcellsaktivering. Lungsköljning gjordes på hästarna och prover togs på detta. Studien visade att hästar med RAO hade en högre histaminfrisättning än kontrollgruppen och detta tolkades som att mastcellen spelar roll vid RAO (Hare et al., 1999).

I en studie ville man se om RAO gav ökning av olika typer av mastceller i vävnader. Även i denna studie tittade man på dammigt hö som ett tänkbart allergen och såg om det inducerade någon allergisk reaktion. 13 hästar med RAO testades och 6 kontrollhästar fanns med i studien. Man gav hästarna dammigt hö och tog prover innan och direkt efter giva. Prover togs genom sköljning och man mätte tryptasnivåerna m.h.a. ELISA-metoden. Tryptasnivåerna ger en indikation på om tryptasproducerande mastceller har en roll vid sjukdomen eller ej. Studien visade att tryptasnivåerna ökade i BALF (bronchoalveolar lavage fluid) hos både de sjuka hästarna och kontrollhästarna efter högiva men att ökningen hos RAO-hästarna ändå var högre. I studien använde man även immunohistokemi för att titta på antalet tryptasproducerande mastceller i olika delar av bronker och bronkioler. Tryptasproducerande mastceller som låg i bindväv eller glatt muskulatur i bronker och bronkioler ökade inte signifikant enligt studien. Däremot ökade nivåerna av tryptasproducerande mastceller som låg i epitelet hos RAO-hästarna medan det i kontrollgruppen inte sågs någon ökning av denna mastcellstyp alls. Enligt studien sågs även en ökning av tryptasproducerande mastceller i epitelet i bronkerna och bronkioler. Detta sågs inte heller i kontrollgruppen. Sammantaget visade studien på en total ökning av antalet mastceller hos RAO-hästarna. Forskarna bakom denna studie tolkade resultaten som att mastcellen spelar roll vid RAO (Dacre et al., 2007).

I en annan studie gjord i Storbritannien använde man *Aspergillus fumigatus* som allergen. *Aspergillus fumigatus* är en mögelsvamp som ofta finns i dåligt hö. I studien undersöktes hur hästar med RAO reagerar på det specifika allergenet genom att titta på responsen av IgE och IgG hos hästarna. Studien använde sig av 16 sjuka hästar och 3 kontrollhästar som var friska. I denna studie sågs ökade nivåer av specifika IgE-antikroppar mot *Aspergillus fumigatus* i BALF hos hästarna med RAO. Detta sågs inte i kontrollgruppen. Dock visade studien ingen ökning av IgE-antikropps nivåer mot *Aspergillus fumigatus* i serum och heller inte i kontrollgruppen. I studien såg man detta som en bekräftelse på att den lokala och systemiska immunologiska responsen regleras oberoende av varandra. Dock ansåg forskarna att resultaten ändå kan tyda på att IgE-medierat svar via mastcellen spelar roll vid RAO (Schmallenbach et al., 1998).

Flera andra studier har man som sagt också använt sig av gammalt hö som allergen. I en av dessa studier undersöktes mastcellens roll genom att studera 16 hästar, 7 diagnostiserade med RAO och 9 friska kontrollhästar. Dessa hästar fick sedan äta dammigt hö. De avlivades och

efter det togs lungprover som analyserades. Man ville titta på om det skiljde sig något i antalet mastceller samt mastcellstyp i de två grupperna. Man tittade på chymasproducerande samt tryptasproducerande mastceller, båda i bronker, bronkioler och blodkärl. Hos hästarna med RAO sågs en tydlig ökning av chymasproducerande mastceller framförallt i bronkioler men även till viss del i bronkerna. I blodkärlen sågs en ökning av tryptasproducerande mastceller hos RAO-hästarna (Tabell 1). Ingen av mastcellstyperna sågs öka i kontrollgruppen. Detta tolkade forskarna som ett tydligt tecken på mastcellens viktiga roll vid RAO (van der Haegen et al., 2005).

Tabell 1. Medianantalet av två olika typer av mastceller i olika vävnader/mm<sup>2</sup> (efter van der Haegen et al., 2005)

	Chymas			Tryptas		
	Bronker	Bronkioler	Blodkärl	Bronker	Bronkioler	Blodkärl
RAO	7.6 (1.2-14)	21 (0-217)	0 (0-82)	0 (0-1.8)	0 (0-16)	7 (0-48)
Kontroll	1.7 (0-10)	2.9 (0-83)	0 (0-1)	0.1 (0-2)	0 (0-12)	0 (0-24)

I dammigt och dåligt hö kan man hitta andra potentiella allergener än enbart *Aspergillus fumigatus*. *Micropolyspora faeni* är en annan mögelsvamp som kan ses i hö som är gammalt och dammigt. Dessa två allergener undersöktes i en studie som fått stor genomslagskraft i diskussionen om etiologin bakom RAO. I denna studie mätte man specifika IgE-antikroppar i serum och BALF mot just *Aspergillus fumigatus* och *Micropolyspora faeni*. I denna studie studerade tre olika grupper, en kontrollgrupp med 17 hästar och två grupper med hästar diagnostiserade med RAO. Dessa hästar med RAO var totalt 14 st, varav 10 hästar provtogs vid tillfällena då de uppvisade symptom. Serumprov togs och analyserades för att mäta IgE-nivåer (Tabell 2). Även BALF-prov togs och IgE-nivåer mättes även där (Tabell 3). Resultatet av studien visar att hästar med RAO har något högre IgE-nivåer i serum men det mest intressanta resultatet är den stora skillnaden av IgE-nivåer i BALF. Därigenom anser forskarna att typ 1-hypersensitivitet spelar stor roll vid RAO (Halliwell et al., 1993).

Tabell 2. IgE-nivåer i serum hos kontrollgruppen, hästar med RAO utan symptom och hästar med RAO med symptom mätt med RAU (relative antibody unit) som ett jämförelsevärde. (efter Halliwell et al., 1993)

	Kontroll	Asymptomatisk RAO	Symptomatisk RAO
<i>Micropolyspora faeni</i>	44 (15-180)	30 (8-176)	51 (12-276)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	67 (11-312)	41 (10-127)	72 (8-209)

Tabell 3. IgE-nivåer i BALF kontrollgruppen, hästar med RAO utan symptom och hästar med RAO med symptom mätt med RAU (relative antibody unit) som ett jämförelsevärde. (efter Halliwell et al., 1993)

	Kontroll	Asymptomatisk RAO	Symptomatisk RAO
<i>Micropolyspora faeni</i>	280 (22-2848)	1727 (125-14467)	1174 (98-14262)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	578 (78-5405)	3870 (288-9891)	2006 (78-20513)

### Studier negativa till mastcellens roll vid RAO

Några studier är dock negativa till huruvida RAO beror på mastcellernas reaktioner. En studies syfte var att undersöka huruvida mastceller och histaminfrisättning spelar roll vid RAO. I denna studie gavs 6 RAO-hästar och 6 kontrollhästar damm från hö och halm via inhalation genom nebulisering, alltså att man gör partiklarna i ”rätt” storlek så att man vet var i kroppen de kommer att hamna. Sedan studerades hur många mastceller det fanns genom BALF-cytologiprovtagning och sedan mättes även BALF-histamin. Detta jämfördes sedan mellan de två grupperna. Studien visade att mastcells-nivån i BALF, visat genom cytologi, var högre hos kontrollgruppen och att den även ett dygn efter exponering var högre än hos RAO-hästarna. BALF-histamin-nivåerna var även de högre hos kontrollgruppen än hos RAO-hästarna. Detta tyder på att mastceller och histaminfrisättning inte är en orsak till RAO (Deaton et al., 2007).

Histamin-nivåer i plasma mättes tillsammans med BALF och PELF (pulmonar epithelial lining fluid) som också kallas lungvätska, i en annan studie. Forskarna gav hästarna hö och annat stråmaterial att stå på ett tag för att sedan provta. I studien ingick det 8 hästar med RAO och 8 hästar som fanns i en kontrollgrupp. Enligt studien sågs ingen ökning av histamin-nivåer i plasma hos RAO-gruppen men inte heller hos kontrollgruppen (Tabell 4). Inte heller sågs någon ökning av histamin i BALF (Tabell 5). Däremot såg forskarna en ökning av histamin-nivåerna i PELF några timmar efter giva (Tabell 6). Till en början låg nivåerna i PELF hos RAO-hästarna mycket lägre än hos den friska kontrollen men vid provtagning efter 5 timmar sågs en kraftig ökning och där var nivåerna högre än hos kontrollhästarna. Detta tyder på, enligt denna studie, att det sena immunsvaret vid hypersensitivitet spelar roll vid RAO. Men forskarna bakom denna studie kan trots det inte anse att mastcellen en spelar i signifikant roll vid RAO. De anser däremot att det kan vara det sena immunförsvaret som har betydelse (McGorum et al., 1993).

Tabell 4. Histamin-nivåer i plasma (median i  $\text{ng ml}^{-1}$ ) hos kontrollgrupp och hästar med RAO efter utfodring med hö (efter McGorum et al., 1993)

Tid efter giva (timmar)	Kontroll	RAO
0	0.24 (0.07-0.57)	0.16 (0.19-0.48)
1.5	0.36 (0.15-0.64)	0.18 (0.12-0.48)
5.0	0.23 (0.07-0.38)	0.17 (0.06-0.54)

Tabell 5. Histaminnivåer i BALF (median i  $\text{ng ml}^{-1}$ ) hos kontrollgrupp och hästar med RAO efter utfodring med hö (efter McGorum et al., 1993)

Tid efter giva	Kontroll	RAO
0	1.78 (0.11-2.66)	0.28 (0.01-3.93)
0.5	1.92 (0.00-3.05)	1.01 (0.10-2.37)
5.0	1.36 (0.13-2.37)	1.10 (0.02-6.38)

Tabell 6. Histaminnivåer i PELF (median i  $\text{ng ml}^{-1}$ ) hos kontrollgrupp och hästar med RAO efter utfodring med hö (efter McGorum et al., 1993)

Tid efter giva	Kontroll	RAO
0	189.3 (31.3-435.9)	35.2 (4.6-430.0)
0.5	243.9 (1.1-651.4)	174.6 (11.1-777.3)
5.0	146.2 (64.9-658.2)	246.0 (5.0-1087.0)

En annan studie med syfte att studera IgE i serum och IgE-medierade reaktioner gjordes via *in vitro*-test. IgE-nivåerna jämfördes via serologi. Studien gjordes på 13 hästar diagnostiserade med RAO och i studien fanns även 14 kontrollhästar. I serologitestet sågs ökat positivt svar från kontrollhästarna än hos de med RAO. Skillnaden är dock liten och knappt signifikant. Hästarna med RAO visar högre IgE-nivåer mot *Aspergillus fumigatus*, 35 allergienheter mot 16 allergienheter i kontrollgruppen. Allergienheter användes i denna studie som en jämförande gradering med avseende på allergenspecifika IgE-nivåer. *Aspergillus fumigatus* var ett av allergenen som användes i studien. Men flera andra allergen användes också och hos alla dem var värdena något högre hos hästarna med RAO än hos kontrollgruppen. Forskarna bakom studien ansåg dock att dessa ökningarna inte är signifikanta. Dessa resultat kunde alltså inte påvisa att RAO beror på IgE-medierade reaktioner men inte heller att de verkligen inte har någon betydelse alls (Tahon et al. 2009).

Det finns även andra studier där man tittat på nivåer av allergenspecifikt IgE i serum samt IgE-bärande celler i BALF. Frågeställningen i denna studie var att se om hästar med RAO hade högre nivåer av celler som binder till IgE, t.ex. mastceller. Målet var även att undersöka om dessa hästar hade högre nivåer av IgE i serum. I studien ingick 35 hästar varav 8 var diagnostiserade med RAO. Dessa hästar levde i samma miljö som kontrollhästarna. I studien undersökte man även hur dessa nivåer såg ut hos unga respektive gamla hästar. De hästar som fanns i den unga gruppen var i åldrarna 4-7 år. Hästarna i den gamla gruppen var äldre än 12 år. När forskarna mätte serumnivåer av specifikt IgE mot allergenet *Aspergillus fumigatus* sågs att hos 57% av RAO-hästarna fanns det en ökning av specifikt IgE medans det i kontrollgruppen bara var 13.5%. När det gällde skillnaden i ålder såg man ingen större skillnad, 29% i den unga gruppen och 23% i den äldre. Dock såg man enligt studien ingen ökning av mastceller hos RAO-hästarna jämfört med kontrollgruppen, 4.4% mastceller i BALF hos RAO-gruppen och 5.5% i kontrollgruppen. Mastcells nivåerna skiljde sig inte heller mellan åldersgrupperna. Forskarna bakom studien anser att dessa resultat inte kan stödja teorin att mastcellen har någon signifikant betydelse vid RAO (Künzle et al., 2007).

## DISKUSSION

Det är mycket omdiskuterat huruvida mastcellen har en betydelse i etiologin bakom RAO hos häst. Den studie som många andra studier refererar till, som den viktigaste i att tro sig se ett tydligt samband mellan mastcellen och RAO, är R.E.W Halliwells (1993). Den refereras till i många andra studier gjorda på senare år. Denna tillsammans med studien gjord av K.H. Schmallenbach (1998) är det de studier som tydligast påvisar ett samband mellan RAO och mastcellen. R.E.W. Halliwells forskning är dock ifrågasatt i flera studier som gjorts på senare tid.

R.E.W Halliwells (1993) studie anser jag har många brister som gör att man kan ifrågasätta resultatet och tolkningen av resultaten. Tabell 2 visar uppmätta IgE-nivåer i serum. Här går det inte att se någon signifikant skillnad mellan kontrollgruppen, asymtomatiska och symptomatiska. Dessutom är mätvärdena i kontrollgruppen högre än hos de i den asymtomatiska gruppen. Dock kan man som sagt inte se någon signifikant skillnad. När det gäller IgE-nivåer i BALF som ses i Tabell 3 finns det frågetecken även kring dessa. Det finns en väldigt stor bredd mellan mätvärdena. Detta gör att jag ifrågasätter mätningen och dess relevans. Medianvärdena visar på en signifikant skillnad mellan kontrollgruppen och hästar med RAO, asymtomatiska som symptomatiska. Men det är svårt att dra några konkreta slutsatser när det finns ett sådant stort spann. Det är också viktigt att förtydliga att mätvärdena som ligger mycket lågt eller mycket högt inte enligt studien är några outliers då de andra mätvärdena inte ligger särskilt långt ifrån. Detta gör att jag starkt ifrågasätter denna studies relevans.

I Schmallenbachs studie (1998) anser jag att antalet i kontrollgruppen är för få. Dessutom ser man ingen ökning av IgE-antikroppar i serum varken i RAO-gruppen eller i kontrollgruppen. I studien tolkar man detta som att den systemiska immunologiska responsen regleras oberoende av den lokala men att man ändå kan dra en slutsats att mastcellen har en betydelse vid RAO. Hade studien påvisat en ökning av IgE-nivåer även i serum hade denna studie varit mer trovärdig anser jag. Men jag håller ändå med om att ökningen av specifika IgE-nivåer i BALF mycket väl kan tyda på mastcellens viktiga roll.

Künzles studie (2007) är en intressant studie som ställer sig negativt till mastcellens roll. I denna studie har man använt hästar som lever under samma förhållanden på samma gård. Dessutom innehåller studien ett stort antal hästar och kontrollgruppen är stor. Att studien dessutom tar hänsyn till ålder är en bra aspekt då RAO främst drabbar äldre hästar. Studien är också intressant då den både har tittat på specifika IgE-nivåer i serum och antalet mastceller.

Om mastcellen har någon betydelse vid RAO är svårt att säga. Många studier har gjorts och sammanfattningsvis tycker jag att antalet hästar i dessa studier har generellt varit lågt. Dessutom har man i de lite äldre studierna t.ex. Halliwells (1993) och Schmallenbachs (1998) dragit slutsatser som kan ifrågasättas. Dessa två studier omnämns mycket i andra senare studier som studier som visar på mastcellens betydelsefulla roll. Dock ska sägas att även studier som gjorts på senare år tyder på att mastcellen spelar stor roll. Det blir ändå svårt när



man ska komma till någon slutsats hur stor roll mastcellen ensam har vid RAO. Troligtvis har RAO en komplicerat etiologi som inte enbart kan bero på mastcellen. Att RAO skulle vara en typ 1-hypersensitivitetsreaktion går med dagens forskning inte att säga säkert.

Det är helt klart att mer forskning behövs inom detta område. RAO har stor betydelse för de hästar som drabbas. Tävlingshästar med RAO får ofta svårt att tävla och träna på samma nivå som tidigare och den ekonomiska förlusten kan bli stor. Att hitta etiologin bakom RAO är också av vikt för att kunna behandla sjukdomen på rätt sätt.

Mer forskning behövs även på hästens specifika mastcell. För att förstå mekanismer hos mastcellen och dess roll vid sjukdom behöver man veta hur mastcellen ser ut och fungerar. Mastcellen har en viktig roll vid allergier men också i skyddet mot patogener. Därför är det av vikt att ha god kunskap om denna. Behov av mer forskning finns även kring vilka vävnader i lungan som drabbas vid RAO. Detta tillsammans med ökad kunskap om hästens mastcell kan ge bättre insikt i ämnet. Idag finns inte mycket kunskap kring vilka mastceller som finns var i hästens respirationsorgan och dess funktioner. Med ökad kunskap följer ökad förståelse och bättre studier kan göras.

## LITTERATURFÖRTECKNING

- Abraham, N.S. & St. John. L.A. (2010). Mast cell-orchestrated immunity to pathogens. *Nature*, 10, 440-452.
- Dacre, K.J., McGorum, C.B., Marlin, J.D., Bartner, L.R., Brown, J.K., Shaw, D.J., Robinson, N.E., Deaton, C. & Pemberton, A.D. (2007). Organic dust exposure increases mast cell tryptase in bronchoalveolar lavage fluid and airway epithelium of heaves horses. *Clinical and Experimental Allergy*, 37, 1809-1818.
- Deaton, C.M., Deaton, L., Jose-Cunilleras, E., Vincent, T.L., Baird, A.W., Darce, K. & Marlin, D.J. (2006). Early onset airway obstruction in response to organic dust in the horse. *Journal of Applied Physiology*, 102, 1071-1077.
- Galli, S.J. & Tsai, A. (2010) Mast cells in allergy and infection: Versatile effector and regulatory cells in innate and adaptive immunity. *European Journal of Immunology*, 40, 1843-1851.
- Hare, J.E., Viel, L., Conlon, P.D. & Marshall, J.S. (1997). In vitro allergen-induced degranulation of pulmonary mast cells from horses with recurrent airway obstruction (heaves). *American Journal of Veterinary Research*, 60, 841-852.
- Van der Heagen, A., Künzle, F., Gerber, V., Welle, M., Robinson, N.E. & Marti, E. (2005) Mast cells and IgE-bearing cells in lungs of RAO-affected horses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 108, 325-334.
- Halliwell, R.E.W., Mc Gorum, B.C., Irving, P. & Dixon, P.M. (1993) Local and systemic antibody production in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 38, 201-215.
- Künzle, F., Gerber, V., Van der Heagen, A., Wampfler, R., Straub, R. & Marti, E. (2007) IgE-bearing cells in bronchoalveolar lavage fluid and allergen-specific IgE levels in sera from RAO-affected horses. *Journal of Veterinary Medicine*, 54, 40-47.
- Léguillette, R. (2003) Recurrent airway obstruction – heaves. *The Veterinary Clinics of Equine Practice*, 19, 63-86.
- Mair, T.S., Strikes, C.R. & Bourne, F.J. (1988) Distribution and ultrastructure of mast cells in the equine respiratory tract. *Equine Veterinary Journal*, 20, 54-58.
- McGorum, B.C., Dixon, P.M & Halliwell, R.E.W. (1993) Quantification of histamine in plasma and pulmonary fluids from horses with chronic obstructive pulmonary disease, before and after "natural (hay and straw) challenges". *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 36, 223-237.
- Pejler, G. & Nilsson, G. (2009) Mastcellen – både ond och god. *Läkartidningen*, 106, 845-849.
- Reed, I., Bayly, S.M.II., Sellon, W.M.III. & Debra, C. (2010) *Equine Internal Medicine*. 3.uppl. St.Louis. Saunders Elsevier.
- Schmallenbach, K.H., Rahmna, I., Sasse, H.H.L., Dixon, P.M., Halliwell, R.E.W., McGorum, B.C., Crameri, R. & Miller, H.R.P. (1998) Studies on pulmonary and systemic *Aspergillus fumigatus*-specific IgE and IgG antibodies in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease(COPD). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 66, 245-256.
- Tahon, L., Beselgia, S., Gerber, V., Doherr, M.G., Straub, R., Robinson, N.E. & Marti, E. (2009) In vitro allergy tests compared to intradermal testing in horses with recurrent airway obstruction. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 127, 85-93.
- Tizard, I.R. (2009) *Veterinary Immunology an introduction*. 8.uppl. St.Louis. Saunders Elsevier.