



Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Lymfocytär tyroidit hos hund

- Genetik, patogenes, histologi

Anna Wikstrand

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011: 57

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2011



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Lymfocytär tyroidit hos hund -Genetik, patogenes, histologi

Canine Lymphocytic Thyroiditis (CLT)-
Genes, pathology, histology

Anna Wikstrand

Handledare:

Karin Vargmar, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

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

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011: 57
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

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

Nyckelord: CLT, lymfocytär tyroidit, hypotyroidism, autoimmun, DLA, genetik, tyroglobulin, autoantikroppar,

Key words: CLT, lymphocytic thyroiditis, hypothyroidism, autoimmune, DLA, genetics, thyroglobulin, autoantibodies, dog, canine

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning.....	3
Hypotyreoidism.....	3
Primär hypotyreoidism.....	4
Material och metoder	4
Databaser.....	4
Sökord	4
Litteraturoversikt.....	5
Genetik	5
Dog Leukocyte Antigen	5
Övriga kandidatgener	6
Patogenes.....	6
Hur kan gener för MHC predisponera för förlust av självtolerans?.....	6
Celler involverade i det autoimmuna svaret.....	7
Autoantikroppar som bildas vid CLT.....	7
Symptom	9
Histopatologiska förändringar vid lymfocytär tyroidit	10
Diskussion	11
Referenslista	13

SAMMANFATTNING

Hypotyroidism är en vanlig endokrin sjukdom hos hundar. Den orsakar nedsatt livskvalitet i form av utbredda symptom från flera olika organsystem och sjukdomen kräver livslång medicinering. En orsak till hypotyroidism är Canine Lymphocytic Thyroiditis (CLT), en autoimmun sjukdom som står för ett stort antal av sjukdomsfallen hos hund. Mycket talar för att utvecklandet av sjukdomen har en ärftlighetskomponent eftersom den uppträder i mycket hög frekvens inom vissa raser medan det är en tämligen ovanlig åkomma inom andra raser. Studier av hundpopulationer har visat på en genetisk koppling mellan CLT och gener för Dog Leukocyte Antigen II (DLA II) hos vissa raser. DLA II, även kallat Major Histocompatibility Complex II (MHC II), kan vara en predisponerande faktor för autoimmun sjukdom hos inavlade populationer som rashundar. Patogenesen är hos hund ännu inte säkerställd men studier visar att B-celler samt CD8⁺ och CD4⁺ T-celler är involverade och ger upphov till immunoglobulin G (IgG) autoantikroppar och ett cellmedierat svar. I CLT kan autoantikroppar uppstå mot flera strukturer i tyroidea. Autoantikroppar mot tyroglobulin är det vanligaste serologiska fyndet hos hundar med CLT medan autoantikroppar mot tyroidperoxidas, tyroxin (T4) och triiodotyronin (T3) är mindre vanligt. Autoantikroppar mot tyroglobulin ses som en tidig indikation på CLT då de avtar i ett senare stadie av sjukdomen. Histologiskt kan man se att CLT är en inflammatorisk och progressiv sjukdom som slutligen leder till en fibrös omvandling av tyroidea med endast ett fåtal inflammatoriska celler.

SUMMARY

Hypothyroidism is a common endocrine disorder in dogs. The lack of thyroid hormone causes a diversity of symptoms from different organ systems, which will lead to a decreased quality of life as well as lifelong medical treatment. Canine Lymphocytic Thyroiditis (CLT) is an autoimmune cause of hypothyroidism and it represents a large part of the total cases in dogs. There is a belief that the cause of CLT might have a genetic component, since the disease occurs in high frequency in some breeds while it is rare in others. Studies of different breeds has connected CLT with the gene for Dog Leukocyte Antigen II (DLA II). DLA II, also known as Major Histocompatibility Complex II is a protein complex that can be a predisposing factor among inbred populations such as pure-bred dogs. The pathology in dogs is still uncertain but studies have shown that CD4+ and CD8+ T-cells are involved and the immune response leads to both immunoglobulin G (IgG) autoantibodies and a cellmediated answer. Autoantibodies are generated against several thyroid structures, the most common findings are autoantibodies against thyroglobulin while autoantibodies against thyroidperoxidase, thyroxine (T4) and triiodothyronine (T3) are more uncommon. Autoantibodies against thyroglobulin is seen as an early sign of CLT, but the levels of autoantibodies is not constant and will decrease in the end-stage of the disease. The histological appearance of the thyroid reveals an inflammatoric and progressive disease that eventually will lead to a fibrous change of the thyroid with only a few scattered inflammatory cells.

INLEDNING

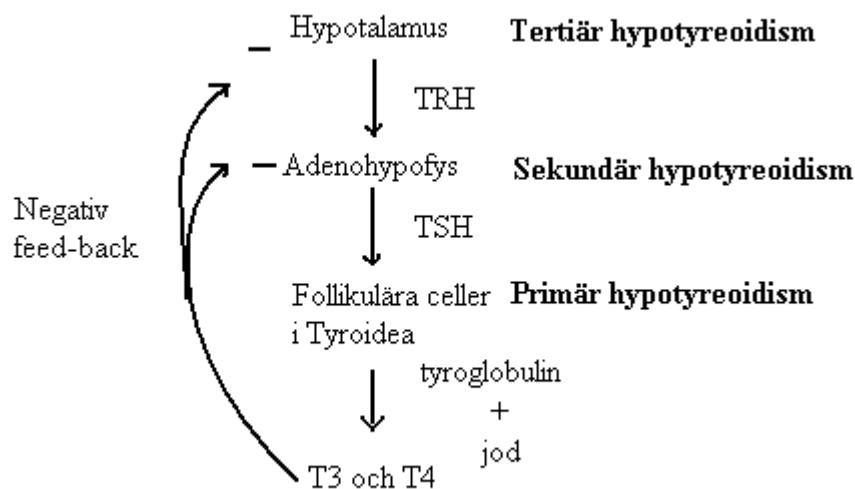
Hypotyroidism är en frekvent förekommande endokrin sjukdom hos hundar (McGavin & Zachary, 2007) och den orsakar lidande i form av en rad olika symptom från flera organsystem. Sjukdomen är dessutom mycket kostsam att behandla då medicineringen är livslång (Ferm et al., 2009). Hypotyroidism utvecklas i ungefär lika hög utsträckning hos både hanhundar och tikar men kastrering verkar vara en riskfaktor inom båda könen (Panciera, 1994).

De flesta fall av hypotyroidism hos hund orsakas av någon form av defekt i tyroidea och hälften av dessa fall beror på autoimmuna processer som bryter ner tyroidea (Graham et al., 2007). I denna uppsats kommer fokus att ligga på den autoimmuna formen som orsak till hypotyroidism vilken då kallas autoimmun tyroidit, lymfocytär tyroidit eller som i den engelska litteraturen: Canine Lymphocytic Thyroiditis (CLT).

Förekomsten av CLT uppvisar tydliga mönster på att vara en sjukdom med genetiska kopplingar (Conaway et al., 1985). Det är angeläget att hitta eventuella riskgener som kan predisponera för sjukdomen då klinisk hypotyroidism oftare drabbar äldre hundar (6-7 år) (Ferm et al., 2009). Vilket är ett problem då de flesta hundar avelsdebuterar långt tidigare. Genom att hitta riskgener ökar man också förståelsen för hur sjukdomen uppkommer hos hund vilket fortfarande inte är helt klarlagt. I den här litteraturstudien kommer jag att presentera Dog Leukocyte Antigen II (DLA II) som riskgen för sjukdomen samt hur den kan predisponera för autoimmun sjukdom. Dessutom diskuterar jag vilka celler och autoantikroppar som är involverade i patogenesen samt hur de kan orsaka skador på tyroidea. För att ge förståelse för hur hundarnas livsvalitet kan påverkas av CLT presenteras slutligen kort några av alla de symptom som kan uppkomma vid hypotyroidism.

Hypotyroidism

Hypotyroidism karakteriseras av låga värden av tyroideahormonerna tyroxin (T4) och triiodotyronin (T3) (Conaway et al., 1985). I en stor studie med 30 336 undersökta hundar fann man att prevalensen för hypotyroidism (oavsett grundorsak) i den undersökta populationen var 0,2% (Panciera, 1994). Sjukdomen kan benämnas som primär, sekundär eller tertiär hypotyroidism beroende på var i den hormonella regleringen produktionen störs (Graham et al., 2007). Se figur 1.



Figur 1. Utsöndringen av tyroideahormonerna tyroxin (T4) och triiodotyronin (T3) styrs av Thyrotropin Releasing Hormone (TRH) och tyroideastimulerande hormon (TSH). Baserat på text från (McGavin & Zachary, 2007; Graham et al., 2007).

Primär hypotyroidism

Primär hypotyroidism är den vanligaste formen av hypotyroidism hos hund. Den primära formen innebär att orsaken till hormonbristen beror på en defekt i tyroidea som gör att den inte kan producera och utsöndra T3 och T4 i tillräcklig mängd. Orsaken till denna oförmåga beror i sin tur på att tyroideas vävnad degenererat. Den primära formen kan histologiskt delas in i två varianter: idiopatisk follikulär atrofi och CLT. Av fall med primär hypotyroidism förekommer CLT och idiopatisk follikulär atrofi i ungefär lika stor utsträckning. Den idiopatiska formen karakteriseras av degeneration utan inflammatoriska inslag och en progressiv fettomvandling av tyroidea medan den lymfocytära formen är en autoimmun sjukdom med infiltration av bland annat lymfocyter och plasmaceller och det sker en immunologisk nedbrytning av tyroidea (Gosselin et al., 1981).

MATERIAL OCH METODER

Databaser

- ScienceDirect
- PubMed
- Web of knowledge/ Web of science
- Google Scholar

Sökord

- (canine* OR dog*) AND ("primary hypothyroidism" OR "lymphocytic thyroiditis")
- (canine OR dog OR dogs) AND ("primary hypothyroidism" OR "lymphocytic thyroiditis")

- (autoimmune) AND (thyroiditis) AND (canine OR dog OR dogs) AND (human)
- (thyroiditis) AND (gene OR genes)

Genomgång av referenslistor i artiklar och rewievs. Övergripande fakta har hämtats från aktuell kurslitteratur.

LITTERATURÖVERSIKT

Genetik

Mycket talar för att utvecklandet av CLT är kopplat till individens genetiska bakgrund. Det finns teorier om att det föreligger en autosomal recessivt nedärvd predisponering för sjukdomen inom rasen borzoi (Conaway et al., 1985). Något annat som talar för att sjukdomen är kopplad till ärftlighet är att CLT uppträder i mycket hög frekvens inom vissa raser exempelvis boxer, doberman pinscher och engelsk setter medan det är en ovanlig sjukdom inom andra raser såsom shih tzu och fransk bulldog (Kennedy et al., 2006a; Nachreiner et al., 2002).

Dog Leukocyte Antigen

Polymorfism innebär att olika individer får olika varianter av ett visst protein till följd av att de specifika gener som kodar för proteinet finns i olika uppsättningar. Från studier av människor har man sett kopplingar mellan autoimmuna sjukdomar och polymorfism i gener som kodar för Major Histocompatibility Complex (MHC), vilket även kallas för HLA (Human Leukocyte Antigen) (Levin et al., 2004). MHC II är en molekyl som finns på dendritiska celler, makrofager och B-celler och används vid presentation av exogena antigen för T-hjälparceller (Tizard, 2009). I en studie sekvenserade man hundens MHC II, vilket också kallas Dog Leukocyte Antigen II (DLA II), och fann att MHC II var mycket väl konserverade mellan flera arter bland annat människa, hund och katt. Särskilt loci (ställen för gener på kromosomer) för generna DRB1, DQB1 och DQA1 var mycket överensstämmande (Debenham et al., 2005) vilket gör att man kan anta att det även hos hunden kan finnas en koppling mellan gener för MHC II och autoimmuna sjukdomar (Kennedy et al., 2006b). Dessa loci ansvarar även för den antigenbindande delen av MHC II (Tizard, 2009).

DLA II består av ett antal gener och pseudogener och i vissa loci uppvisas stor polymorfism (Kennedy et al., 2002; Debenham et al., 2005). I det här fallet ger polymorfism upphov till olika former av den antigenbindande delen på MHC II. I en undersökning av en population dobermann pinschers fann man en specifik haplotyp: DLA-DRB1*01201/DQA1*00101/DQB1*00201 som var associerad med tyroidit-afpekterade hundar (Kennedy et al., 2006b). Haplotyp är ett antal gener som är starkt kopplade till varandra och som alltid nedärvs tillsammans. Dock kunde man inte dra slutsatsen att det var samma haplotyp som orsakade autoimmun tyroidit hos andra raser men generna verkade vara en riskfaktor (Kennedy et al., 2006b).

I en annan studie fann man också att haplotypen DLA-DRB1*01201/DQA1*00101/DQB1*00201 var en riskfaktor för CLT, denna gång hos rasen

riesenschnauzer. Här gick man ett steg längre och tittade på de enskilda allelerna (alleler är olika varianter av samma gen) som ingår i haplotypen, varvid man fann att allelen DLA-DRB1*01201 var unik för riskhaplotypen medan de övriga även hittades i andra haplotyper. I samma studie undersökte man även hundar av rasen hovawart och bland dessa fanns riskhaplotypen hos 48% vilket kan förklara varför den funna prevalensen för CLT hos hovawart var hela 13% (Wilbe et al., 2010). I en studie av 25 raser som finns registrerade i The American Kennel Club fann man allelen DLA-DRB1*01201 hos ytterligare 6 raser som newfoundland, schäfer, golden retriever och labrador retriever (Angles et al., 2005) där golden retriever sedan tidigare är en känd riskras för utvecklandet av hypotyroidism (Panciera, 1994; Lee et al 2004).

Även allelen DQA1*00101 ur tidigare nämnda riskhaplotyp har studerats närmare. I en studie undersökte man frekvensen av DQA1*00101 hos 4 riskraser (boxer, doberman pinscher, rhodesian ridgeback och engelsk setter) och fann att hos alla raser utom boxer fanns allelen i en förhöjd frekvens hos CLT-drabbade hundar jämfört med friska hundar av samma ras (Kennedy et al., 2006a).

Övriga kandidatgener

I humanstudier har man även studerat andra gener som kan vara av intresse för autoimmun lymfocytär tyroidit hos människa. Exempel på gener som ingått i projekt är tyroglobulin, CTLA-4 och CD40 (LUPA, 2011). CTLA-4 finns på T-celler och dämpar immunsvaret från T-celler och CD40 är en co-stimulatorisk molekyl på antigenpresenterande celler som behövs för att T-celler ska aktiveras och ett antikroppssvar genereras (Tizard, 2009).

Patogenes

Hur kan gener för MHC predisponera för förlust av självtolerans?

För att kroppens immunsystem inte ska reagera på den egna vävnaden krävs självtolerans. Med genetisk predisponering, som ovan nämnda DLA haplotyp, kan autoimmunitet utvecklas, det vill säga det kan ske en förlust av självtolerans. MHC-molekylens antigenbindande del avgör vilka antigen som kan presenteras för T-celler och generera en immunrespons. Kan inte antigen binda till MHC uteblir svaret från T-cellerna. Om en population har stor polymorfism i den antigenbindande delen på MHC orsakad av flera uppsättningar av haplotyper som binder antigen betyder det att varje individ har en större diversitet av specifika MHC-molekyler och därmed möjlighet att stå emot ett större spektra av infektiösa sjukdomar. Med liten variation i dessa gener ökar risken för både infektiösa och autoimmuna sjukdomar. Om en riskhaplotyp finns hos en sådan inavlad individ ökar risken för att den individen har MHC II-molekyler som kan presentera självantigen på ett korrekt och immunstimulerande sätt. På samma sätt kan man inom en sluten population med låg grad av polymorfism av MHC II finna skyddande alleler mot olika sjukdomar (Tizard, 2009).

Då T-celler normalt exponeras för självantigen för att upprätthålla självtolerans och selektera bort autoreaktiva celler är den genetiska predisponeringen inte en ensam orsak till uppkomst

av autoimmun sjukdom utan andra omständigheter måste vanligtvis till som exempelvis exogena antigen (Tizard, 2009).

Celler involverade i det autoimmuna svaret

Patogenesen för CLT på immunologisk och molekylär nivå är dåligt beskriven hos hund. Känt är att sjukdomen ger upphov till ett humoralt immunsvaret med bildning av autoantikroppar. Vilka celler som är involverade och som förlorar sin självtolerans är dock inte helt klarlagt. I *in vitro* studier har man använt sig av perimono-nukleära blodceller (PBMC) vilket innefattar lymfocyter, monocyter och makrofager från hypotyroida hundar med autoantikroppar mot tyroglobulin för att undersöka detta. Det har visat sig att T-lymfocyter från ovan nämnda PBMC prolifererar i närvaro av tyroglobulin från hund (Tani et al., 2005; Choi et al., 2006). Tani et al. (2005) visade också att både antalet CD4+ (Th1- och Th2-celler) och CD8+ (cytotoxiska T-celler) celler prolifererade i närvaro av tyroglobulin, men att CD4+ celler även ökade proportionellt med ökande koncentration tyroglobulin. I studien såg man att PBMC från hypotyroida hundar uttryckte immunoglobulin G (IgG) antikroppar vilket kan förklaras av att B-celler ingår i PBMC. Någon liknande reaktion sågs inte hos PBMC i serum från friska hundar som saknade autoantikroppar mot tyroglobulin. Forskarna menade att eftersom CD4+ celler inte bara generellt prolifererade utan också ökade i antal med stigande koncentrationer av antigenet så innebär det att cellerna visade en stark reaktivitet mot tyroglobulin som antigen. I PBMC ingår monocyter som är en antigenpresenterande cell (Tani et al., 2005). De kan därmed aktivera CD4+ T-celler som i sin tur kan aktivera B-celler och på så sätt ge upphov till bildning av antikroppar som IgG. CD8+ T-celler kan när de väl är aktiverade inducera apoptos hos tyroidea målceller. Resultatet av studien visade att tyroglobulin är ett viktigt autoantigen i CLT (Tani et al., 2005).

I en annan studie där man använde sig av hundar med experimentellt inducerad tyroidit (extrakt från främmande tyroidea och/eller bovint tyroglobulin injicerades subkutan) fann man vid histologisk utvärdering att de celler som infiltrerade tyroidea var plasmaceller, CD4+-och CD8+-T-celler. I samma studie undersökte de även den cytokinprofil som genereras när autoimmun tyroidit utvecklas. Cytokinerna mättes i form av cytokin mRNA. mRNA ökade för Th1-cytokiner (Choi et al., 2006) som leder till aktivering av NK-celler och makrofager samt fungerar som tillväxtfaktorer för B-, T- och NK-celler (Tizard, 2009). Nivåerna av vissa Th2-cytokiner verkade snarare minska medan andra immunosuppressiva cytokiner ökade. Författarna menade att cytokinerna medierade en möjlig initiering av CLT (Choi et al., 2006). Vid stimulering av immunsystemet kommer de olika cytokinerna leda till antikroppsproduktion samt trigga ett cellulärt svar men beroende om svaret är Th1- eller Th2-relaterat så dominerar antingen celler eller antikroppar.

Autoantikroppar som bildas vid CLT

Tyroglobulin

Fynd av autoantikroppar mot tyroglobulin i serum tros vara ett tidigt tecken på utvecklandet av CLT, dvs något som sker innan kliniska tecken på hypotyroidism kan ses (Ferm et al., 2009). Hos diagnostiserade hypotyroida hundar verkar prevalensen av autoantikroppar mot

tyroglobulin vara cirka 50% (Lee et al., 2004, Gosselin et al., 1982). Tyroglobulin är en polypeptid som består av 2762 aminosyror och aminosyrasekvensen uppvisar stora likheter mellan flera djurslag. Mellan exempelvis hund och nöt respektive humant tyroglobulin finns cirka 80% likhet. Särskilt konserverade är de delar som innehåller tyrosindomäner, i dessa sker påkoppling av jod för bildandet av tyroidea-hormonerna triiodotyronin (T3) och tyroxin (T4) (Lee et al., 2007). I en studie jämförde man autoantikroppar mot tyroglobulin från olika hundar för att undersöka om de angrep några gemensamma epitoper. Resultatet visade att autoantikroppar från olika individer angrep olika delar av proteinet (Tani et al., 2003). Ärftliga mutationer i tyroglobulin kan vara en bidragande orsak till utvecklandet av CLT (Lee et al., 2007). Som nämnts tidigare tror man att autoantikroppar mot tyroglobulin består av IgG-antikroppar och att celler involverade i immunsvaret är CD4⁺, CD8⁺ T-celler samt B-celler (Tani et al., 2005). Förekomsten av autoantikroppar mot tyroglobulin är inte konstant utan tenderar att avta i ett senare stadie av sjukdomen (Graham et al., 2007).

Triiodotyronin och Tyroxin

Förekomsten av autoantikroppar mot triiodotyronin (T3) och tyroxin (T4) hos hundar som uppvisar kliniska tecken på hypotyroidism är cirka 4% respektive 0,5% (Piechotta et al., 2010; Nachreiner et al., 2002). Förekomsten av autoantikroppar mot T3 och T4 verkar minska med stigande ålder (Nachreiner, et al., 2002). Enligt databasstatistik innehållande 143 800 prover från hypotyroida hundar i USA är det ovanligt med förekomst av autoantikroppar mot T3 och T4 utan förekomst av autoantikroppar mot tyroglobulin. En teori är att T3 och T4 är allt för små molekyler för att själva generera ett immunsvaret och är beroende av ett haptencarrier fenomen för att stimulera immunsvaret. Det skulle då ske med tyroglobulin som carrier och T3 och/eller T4 som haptent. Det talar för att autoantikroppar mot T3 och T4 egentligen är autoantikroppar mot tyroglobulin men att dessa har riktats mot hormonogena delar av tyroglobulin. Dessa är aktiva delar som bidrar till bildandet av hormonerna T3 och T4 (Graham et al, 2007). Eftersom T3 och T4 är delar av tyroglobulin som klyvs av vid bildandet av hormonerna (Mc Gavin & Zachary, 2007) kommer autoantikroppar mot tyroglobulin att korsreagera med T3 och T4. Hos de individer där autoantikroppar mot T3 och T4 inte uppstår har autoantikroppar riktats mot andra epitoper på tyroglobulin (Graham et al. 2007).

Tyroidperoxidas

Tyroidperoxidas är ett membranbundet protein i den apikala delen av tyrocyterna. Tyroidperoxidas är viktigt för produktionen av tyroideahormonerna T3 och T4 då det omvandlar tyroglobulin och jod till förstadiet till dessa genom oxidering av jod. Hos människa med autoimmun tyroidit är autoantikroppar mot tyroidperoxidas och tyroglobulin de vanligaste serologiska fynden (Skopek et al., 2006). I samma studie fann man att prevalensen av autoantikroppar mot tyroidperoxidas hos hundar som också uppvisade autoantikroppar mot tyroglobulin, T4 eller T3 var 17%. I en tidigare studie fann man att prevalensen för autoantikroppar mot tyroidperoxidas var endast 4% (Gosselin et al., 1982). I ytterligare en studie där man inducerat tyroidit hos hundar visade man att alla hundar i studien utvecklade autoantikroppar mot tyroidperoxidas men jämfört med titrarna för autoantikroppar mot tyroglobulin var dessa betydligt lägre (Haines & Penhale, 1985).

Autoantikroppar mot tyroidperoxidase är komplementfixerande (Mizejewski et al., 1971). Förmågan att binda komplement kan orsaka cell-lys av målceller via den klassiska vägen och bildandet av "membrane attack complex" (Tizard, 2009). I en *in vitro* studie gjord med rekombinerade autoantikroppar mot tyroidperoxidase från klonade B-celler från humanpatienter med Grave's disease (en form av autoimmun tyroidit hos människa) visade man att dessa autoantikroppar (IgG) har förmåga att inducera antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) mot målceller (tyroida celler) (Guo et al., 1997). ADCC innebär att celler med vissa typer av receptorer för IgG-antikroppar, genom att binda till komplex av IgG och antigen, kan inducera cytotoxicitet och cell-lys hos målcellen. Förmåga till ADCC har bla monocyter och NK-celler (Tizard, 2009). Guo et al. (1997) visade i sin studie att NK-celler och/eller monocyter låg bakom ADCC och cytotoxiciteten mot tyroida celler.

Symptom

Symptom uppstår till följd av att T3 och T4 inte utsöndras i tillräcklig mängd men dessa märks vanligtvis inte förrän ca 75% av tyroideas vävnad är förstörd (Tizard, 2009). Figur 1 visar hur utsöndringen regleras. Tyroideahormoner verkar på flera typer av målceller i olika delar av kroppen och därför blir symptomen många och varierande. Då T3 och T4 är viktiga för att upprätthålla den basala energimetabolismen i kroppen uppstår vid brist en rad symptom till följd av att metabolismen sänks (McGavin & Zachary, 2007). Sådana symptom är viktuppgång utan ökad aptit, mindre benägenhet att vilja aktivera sig samt lägre kroppstemperatur (Gosselin et al., 1982).

Ett annat viktigt målorgan för T3 och T4 är huden (McGavin & Zachary, 2007), och vid hormonbrist ses ofta hudförändringar som bilateral alopeci (håravfall) utan klåda, hyperkeratos och hyperpigmentering (Gosselin et al., 1982). Alopeci kan förklaras av att tyroideahormonerna stimulerar tillväxten hos hårfolliklarna. Hyperkeratosen innebär att hornlagret i huden förtjockas, vilket kliniskt ses som ökad hudavlagring med torr och fjällande hud. Hyperkeratosen förekommer framförallt på de områden som drabbas av alopeci. (McGavin & Zachary, 2007). Långt gånge hypotyroidism kan också resultera i myxödem (Gosselin et al., 1982) vilket innebär en ökad mängd vätska i huden till följd av att glukosaminoglykaner och hyaluronsyra ansamlas där (McGavin & Zachary, 2007).

Hypotyroida hundar drabbas ofta av ateroskleros i tunna kärl i hjärta och hjärna till följd av höga serumnivåer av kolesterol (McGavin & Zachary, 2007). En studie med 66 hypotyroida hundar visade att 73% hade förhöjda kolesterolnivåer (Panciera, 1994).

Exempel på mindre vanliga symptom som tros vara relaterade med hypotyroidism är neurologiska problem såsom facialpareser och vestibulära störningar. Varför de neurologiska skadorna uppkommer är inte helt klarlagt (Panciera, 1994) men man vet att T3 och T4 är involverade i muskelmetabolismen och vid brist orsakas både en neuropati (degeneration av nerver) av perifera motoriska nerver och muskelatrofi (McGavin & Zachary, 2007).

Histopatologiska förändringar vid lymfocytär tyroidit

För att förstå hur tyroidea förändras vid CLT behövs en beskrivning av hur tyroideas normala histologi ser ut. Tyroidea består av follikulära celler som bildar ett cylinderepitel runt folliklar, vilka de fyller med kolloid bestående av tyroglobulin. Beroende på hur välfyllda folliklarna är så kan epitelets utseende variera från cylindriskt till kubiskt. Den andra cellpopulationen i tyroidea består av C-celler. De är belägna antingen perifert i folliklarna alternativt interstitiellt mellan folliklarna.

En studie i vilken man under 6 års tid följde tre generationer av ett antal borzoi-hundar som alla naturligt utvecklade CLT kunde man genom biopsier av tyroidea vid olika tidpunkter följa hur det histologiska utseendet förändrades med sjukdomens utveckling. De allra första förändringarna som observerades var en viss minskning i storlek av enstaka folliklar, fokal follikelatrofi. Förändringarna var degenerativa utan inflammatoriska processer. I ett senare stadium följde infiltration av neutrofiler och de observerade vaskulit med förtjockning av kärlendotelet. Parallellt med detta fann de även elektrontäta "dense deposits" i follikelepitelets basalmembran. Något senare sågs varierande grad av inflammation vilket varierade mellan fokal lymfocyt- och plasmacellsinfiltration med lokal destruktion av folliklar till en mer allvarlig bild där cellinfiltrationen var mer diffus och även innefattade makrofager. Den senare inflammationsbilden verkade leda till förlust av tyroideas grundstruktur vilket innebar att folliklarna förstördes helt. Inflammationen minskade i ett senare stadium av sjukdomen och mängden plasmaceller avtog (Conaway et al., 1985). Gosselin et al. (1982) såg hos hundar med naturligt förekommande CLT att degenerationen verkade vara progressiv och till slut leda till ett så kallat "end stage" vilket innebar en fibrös omvandling av tyroideas vävnad med endast ett fåtal kvarvarande folliklar och enstaka spridda inflammatoriska celler. Folliklarnas kolloid var vakuoliserad och follikulära celler var hypertrofierade, vilket de menar kan ses som ett försök till att kompensera förlusten av follikelceller. I en tidigare studie utförd av samma forskare noterade de även att hos hundar med naturligt förekommande CLT syntes en nodulär hyperplasi av tyroidea vilket också kunde ses som en kompensation för förlust av fungerande tyroideavävnad. De konstaterade även att de perifera kärl som omgav tyroidea var drabbade av ateroskleros (Gosselin et al., 1981).

Gosselin et al. (1982) observerade även elektrontäta sk "dense deposits" i follikelepitelets basalmembran som verkade uppkomma vid kraftig inflammation. Författarna menade att det kunde vara komplex av autoantikroppar och antigen som ansamlats i det förtjockade basalmembranet.

Studier har också gjorts där man på olika sätt har inducerat tyroidit hos hund för att sedan studera de histologiska förändringarna, och dessa visar generellt på liknade resultat som hos de studier där hundar med naturligt förekommande sjukdom har undersökts.

En studie i vilken man inducerat tyroidit hos ett antal blandrashundar genom att immunisera dem med extrakt av främmande tyroideavävnad samt adjuvans visade på lymfocytinfiltration av varierande grad. En hund uppvisade höggradig degeneration av tyroideas vävnad där folliklarna var helt förstörda och det förelåg en stor infiltration av plasmaceller och

lymfocyter, andra hundar hade en till synes normal tyroidea eller endast enstaka foci med lymfocyter. I studien såg man att de hundar med de mest framträdande patologiska förändringarna i tyroidea också var de med de högsta titrarna av autoantikroppar mot tyroglobulin och tyroidperoxidase (i studien användes termen mikrosomalt antigen vilket är en äldre term). De menade att det kunde tyda på att mängden autoantikroppar kunde vara en initierande faktor till CLT alternativt var av betydelse för upprätthållandet av sjukdomsprocesserna. Fyndet med stor lymfocytinfiltration och degeneration av folliklarna kombinerat med höga titrar av autoantikroppar ansåg de eventuellt kunna spegla det akuta stadiet av naturligt förekommande CLT (Haines & Penhale, 1985).

Ett annat försök där tyroidit inducerades experimentellt genom att främmande lymfocyter injicerades i en av tyroideas lobber hos försökshundar för att sedan jämföras med motsvarande icke-injicerade lobber hos samma hund gav följande resultat: i den icke-injicerade lobben såg man att de tidiga förändringarna bestod av infiltrat av eosinofiler, neutrofiler, makrofager, plasmaceller och lymfocyter. Särskilt rikliga mängder fanns i och omkring tyroideas kärl. Några veckor senare dominerades infiltratet av plasmaceller och lymfocyter. Många av follikelcellerna var degenererade och pyknotiska och tillhörande folliklar var under nedbrytning. Hos de individer med de kraftigaste inflammatoriska förändringarna fann man ”dense deposits” i follikelepitellets basalmembran. I den injicerade lobben såg man ett snabbare men liknande förlopp, dock fann man här en mer uttalad nekros. (Gosselin et al., 1982).

DISKUSSION

Det är ett problem att klinisk CLT ofta (dock inte alltid) är en sjukdom som framförallt bryter ut hos det äldre djuret eftersom det då är svårt att välja bort avel med belastade individer (Ferm et al., 2009). Kunskap om specifika riskgener bör kunna utnyttjas genom utformning av DNA-tester. På så sätt kan man testa nya avelsdjur innan de går in i aveln. Dock bör man komma ihåg att det inte är troligt att det är samma allel av en gen som ligger bakom alla fall av CTL. Som visat i två studier så fann man olika kandidatalleler för olika raser.

Polymorfism hos kandidatalleler kan göra att prevalensen för sjukdomen ser olika ut beroende på vilket geografiskt område man undersöker. Oftast är aveln i ett land eller område en någorlunda sluten krets med få individer som tas in utifrån för att utöka genpoolen. Det kan vara av intresse att jämföra prevalens av sjukdomen inom olika raser mellan olika länder eller geografiska regioner.

Autoimmuna sjukdomar är oftast multifaktoriella och kan bestå av många predisponerande faktorer, både gener såväl som exogena antigen, miljöfaktorer som kemikalier, föroreningar, läkemedel etc kan ha betydelse. Utöver gener för DLA bör man vidare undersöka andra presumptiva riskgener vilket sker på humansidan. Mig veterligen har det ännu inte studerats några andra gener än DLA II hos hundar. Det är också mycket möjligt att CLT är en polygenetisk sjukdom, att flera gener tillsammans har betydelse för utveckling av sjukdomen. Ett sådant scenario kan vara svårare att avla bort beroende av hur starkt kopplade generna är till varandra.

De elektrontäta områden som syns vid histologisk undersökning kan som Gosselin et al. (1982) menade mycket riktigt vara komplex av autoantikroppar, de kan eventuellt vara riktade mot tyroidperoxidase som ju är beläget i dessa regioner. Det verkar troligt att dessa autoantikroppar kan orsaka skador på follikulära celler eftersom tyroidperoxidase är cellbundet och autoantikroppar hos människa har förmåga till lys av målcellen genom ADCC. I en äldre studie där man letade efter vävnadsbundet IgG med hjälp av immunofluorescens lyckades man dock inte detektera detta, de fann istället att IgG var cellbundet i områden med lymfocytinfiltration och menade att IgG här var bundet till B-celler (Haines & Penhale, 1985). En annan studie menar att skadorna på tyroidea istället orsakades när immunologiska celler migrerade genom follikelepitelet och på så sätt förstörde strukturen (Gosselin et al. 1981). Slutsatsen är att det är oklart exakt hur vävnadsskadorna uppstår men klart är att både T- och B-celler är involverade. Skadorna kan eventuellt uppstå på flera sätt, dels genom ett cellmedierat svar och dels via ett humoralt svar med B-celler som producerar autoantikroppar med förmåga till komplementaktivering och ADCC (Guo et al., 1997). Enligt Choi et al. (2006) verkar själva initiering av CLT påverkas av framförallt Th1-cytokiner vilket skulle innebära att initialt ligger tonvikten på ett cellmedierat svar.

Förekomsten av autoantikroppar varierar mycket, ungefär hälften av hundarna med hypotyroidism har autoantikroppar mot tyroglobulin, hur många av dessa som dessutom histologiskt uppvisar CLT har det inte gått att finna något svar på. Man vet att autoantikroppar mot tyroglobulin är ett tidigt tecken på utvecklandet av CLT och även att mängden autoantikroppar avtar i ett sent stadium av sjukdomen (Graham et al., 2007). Den parallella histologiska bilden visar att när CLT har nått ett "end stage" finns endast ett fåtal eller inga inflammatoriska celler, kvarvarande folliklar är atrofiska och mycket av tyroideas vävnad är bindvävsomvandlad (Gosselin et al., 1982). Eventuellt kan man tänka sig att inflammationen avtar när mängden autoantigen blir så låg att något immunsvaret inte längre genereras.

Etiologin och patogenesen för CLT är fortfarande oklar och mer forskning behövs. Mycket forskning har utförts på humansidan vad gäller lymfocytär tyroidit. Lymfocytär tyroidit hos människa och CLT uppvisar gemensamma drag vad gäller både histologisk och i viss mån även serologisk bild (Mizejewski et al., 1971) men det finns skillnader, exempelvis verkar inte autoantikroppar mot tyroidperoxidase förekomma i samma utsträckning hos hund som det gör hos människa (Skopek et al., 2006). Trots detta kan det vara värt att använda hunden som genetisk komparativ modell för människans lymfocytära tyroidit inom de områden där patogenesen överensstämmer. Tack vare sin begränsade genpool inom raser och den stora skillnaden som finns av fenotyper mellan raser, det vill säga en fenotyp blir ofta dominerande inom en ras är det möjligt att urskilja gener som är kopplade till sjukdomen (Debenham et al., 2005). Flera av kandidatgenerna (MHC II, tyroglobulin) är högt konserverade och fyller troligtvis samma funktion hos de båda arterna. Sådan forskning kan öka förståelsen för hur lymfocytär tyroidit uppkommer hos människa såväl som hos hundar.

REFERENSLISTA

- Angles, J. M., Kennedy, L.J., Pedersen, N. C. (2005). Frequency and distribution of alleles of canine MHC-II DLA-DQB1, DLA-DQA1 and DLA-DRB1 in 25 representative American Kennel Club breeds. *Tissue antigens*, 66, 173-184.
- Choi, E. W., Shin, I. S., Bhang, D. H., Lee, D. H., Bae, B. K., Kang, M. S., Kim, D. Y., Hwang, C. Y., Lee, C. W., Youn, H. Y. (2006). Hormonal change and cytokine mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells during the development of canine autoimmune thyroiditis. *Clinical and experimental immunology*, 146, 101-108.
- Conaway, D.H., Padgett, G.A., Bunton, T.E., Nachreiner, R., Hauptman, J. (1985). Clinical and Histological Features of Primary Progressive, Familial Thyroiditis in a Colony of Borzoi Dogs. *Veterinary Pathology*, 22, 439-446.
- 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.
- Ferm, K., Björnerfeldt, S., Karlsson, Å., Andersson, G., Nachreiner, R., Hedhammar, Å. (2009). Prevalence of diagnostic characteristics indicating canine autoimmune lymphocytic thyroiditis in giant schnauzer and hovawart dogs. *Journal of small animal practice*, 50, 176-179.
- Gosselin, S. J., Capen, C. C., Martin S. L. (1981). Histologic and ultrastructural evaluation of thyroid lesions associated with hypothyroidism in dogs. *Veterinary pathology*, 18, 299-309.
- Gosselin, S. J., Capen, C. C., Martin, S. L., Krakowka, S. (1982). Autoimmune lymphocytic thyroiditis in dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 3, 185-201.
- Graham, P. A., Refsal, K. R., Nachreiner, R. F. (2007). Etiopathologic findings of canine hypothyroidism. *Veterinary clinics of North America small animal practice*, 37, 617-631.
- Guo, J., Jaume, J. C., Rapoport, B., McLachlan, S. M. (1997). Recombinant thyroid peroxidase-specific fab converted to immunoglobulin G (IgG) molecules: Evidence for thyroid cell-damage by IgG1, but not Ig G4, autoantibodies. *The journal of clinical endocrinology and metabolism*, 82, 925-931.
- Haines, D. M., Penhale, W. J. (1985). Experimental thyroid autoimmunity in the dog. *Veterinary immunology and immunopathology*, 9, 221-238.
- Kennedy, L. J., Barnes, A., Happ, G. M., Quinnell, R. J., Courtenay, O., Carter, S. D., Ollier, W. E. R., Thomson, W. (2002). Evidence for extensive DLA polymorphism in different dog populations. *Tissue antigens*, 60, 43-52.
- Kennedy, L. J., Quarmby, S., Happ, G. M., Barnes, A., Ramsey, I. K., Dixon, R. M., Catchpole, B., Rusbridge, C., Graham, P. A., Hillbertz, N. S., Roethel, C., Dodds, W. J., Carmichael, N. G., Ollier, W. E. R. (2006a). Association of canine hypothyroidism with a common major histocompatibility complex DLA class II allele. *Tissue antigens*, 68, 82-86.
- Kennedy, L. J., Huson, H. J., Leonard, J., Angles, J. M., Fox, L. E., Wojciechowski, J. W., Yuncker, C., Happ, G. M. (2006b). Association of hypothyroid disease in Doberman Pinscher dogs with a rare major histocompatibility complex DLA class II haplotype. *Tissue antigens*, 67, 53-56.
- Lee, J.-Y., Uzuka, Y., Tanabe, S., Sarashina, T. (2004). Prevalence of thyroglobulin autoantibodies detected by enzyme-linked immunosorbent assay of canine serum in hypothyroid, obese and healthy dogs in Japan. *Research in Veterinary Science*, 76, 129-132.

- Lee, J.-Y., Uzuka, Y., Tanabe, S., Sarashina, T., Suzuki, H., Sato, M. (2007). Cloning and characterization of canine thyroglobulin complementary DNA. *Domestic Animal Endocrinology*, 32, 178-189.
- Levin, L., Ban, Y., Concepcion, E., Davies, T. F., Greenberg, D. A., Tomer, Y. (2004). Analysis of HLA genes in families with autoimmune diabetes and thyroiditis. *Human immunology*, 65, 640-647.
- LUPA. Projektinformation om inflammatoriska sjukdomar. Tillgänglig: www.eurolupa.org. [2011-03-02]
- McGavin, M. D., Zachary, J. F. (2007). *Pathologic basis of veterinary disease*. 4. uppl. St. Louis, Missouri. Mosby Elsevier.
- Mizejewski, G. J., Baron, J., Poissant, G. (1971). Immunologic investigations of naturally occurring canine thyroiditis. *Journal of immunology*, 107, 1152-1160.
- Nachreiner, R. F., Refsal, K. R., Graham, P. A., Bowman, M. M. (2002). Prevalence of serum thyroid hormone autoantibodies in dogs with clinical signs of hypothyroidism. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220, 466-471.
- Panciera, D. L. (1994). Hypothyroidism in dogs: 66 cases (1987-1992). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 204, 761-767.
- Piechotta, M., Arndt, M., Hoppen, H.-O. (2010). Autoantibodies against thyroid hormones and their influence on thyroxine determination with chemiluminescence immunoassay in dogs. *Journal of veterinary science*, 11, 191-196.
- Skopek, E., Patzl, M., Nachreiner, R. F. (2006). Detection of autoantibodies against thyroid peroxidase in serum samples of hypothyroid dogs. *American journal of veterinary research*, 67, 809-814.
- Tani, H., Shimizu, R., Sasai, K., Baba, E. (2003). Recognition pattern of thyroglobulin autoantibody from hypothyroid dogs to tryptic peptides of canine thyroglobulin. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 65, 1049-1056.
- Tizard, I. R. (2009). *Veterinary immunology-an introduction*. 8. uppl. St. Louis, Missouri. Saunders Elsevier.
- Wilbe, M., Sundberg, K., Hansen, I. R., Strandberg, E., Nachreiner, R. F., Hedhammar, Å., Kennedy, L. J., Andersson, G., Björnerfeldt, S. (2010). Increased genetic risk or protection for canine autoimmune thyroiditis in Giant schnauzers depends on DLA class II genotype. *Tissue antigens*, 75, 712-719.