



Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Immunologisk bakgrund till fodermedelsallergi hos hund och katt

Sanna Gille



Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2014:20

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2014



Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Immunologisk bakgrund till fodermedelsallergi hos hund och katt

Immunological background of food allergy in dogs and cats

Sanna Gille

Handledare:

Caroline Fossum, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Magnus Åbrink, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator:

Eva Tydén, 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: 2014

Omslagsbild: Erika Winterlia

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2014:20
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

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

Nyckelord: Fodermedelsallergi, hund, katt, oral tolerans, immunsvär, eliminationsdiät

Key words: Food allergy, dog, cat, oral tolerance, immune response, elimination diet

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	2
INLEDNING.....	3
MATERIAL OCH METODER	3
LITTERATURÖVERSIKT	4
INDUKTION AV ORAL TOLERANS	4
<i>Antigenpresentation</i>	<i>4</i>
<i>Låg- och högdostolerans.....</i>	<i>5</i>
<i>Faktorer som påverkar den orala toleransen</i>	<i>5</i>
<i>Skillnader mellan katter och hundar.....</i>	<i>6</i>
IMMUNSVAR VID FODERMEDELSALLERGI	7
<i>Mastceller och histamin.....</i>	<i>7</i>
<i>Lymfocyter</i>	<i>7</i>
<i>Cytokiner och transkriptionsfaktorer</i>	<i>8</i>
<i>Antikroppar.....</i>	<i>8</i>
ELIMINATIONSDIETER	9
<i>Typer av eliminationsdieter</i>	<i>9</i>
Hydrolyserade dieter.....	9
Novel diets.....	9
<i>Effekter av eliminationsdieter.....</i>	<i>9</i>
DISKUSSION	10
REFERENSER.....	14

SAMMANFATTNING

Fodermedelsallergi är ett tillstånd som beror på att immunsystemet reagerar mot något, oftast ett protein, som normalt sett inte ska utlösa ett immunsvaret. De vanligaste symptomen är kutana symptom såsom klåda, alopeci och otit. Fodermedelsallergi diagnosticeras med hjälp av en eliminationsdiet med efterföljande provokation och vid diagnos behandlas sjukdomen genom att undvika det orsakande allergenet. För att inte utveckla fodermedelsallergi måste hunden eller katten utveckla en oral tolerans mot proteinerna i kosten; misslyckas detta kan allergi uppstå. Denna uppsats syftar till att sammanfatta den tillgängliga forskningen kring hur den orala toleransen uppstår, den immunologiska bakgrunden till fodermedelsallergi samt hur en eliminationsdiet påverkar immunsvaret. Toleransutvecklingen är beroende av en rad faktorer bland annat regulatoriska T-celler, IL-10, TGF- β , Fc γ RIIB på B-celler, $\gamma\delta$ T-celler samt en fungerande normalflora. Det är accepterat att bland annat tarminflammationer ökar risken för att fodermedelsallergi utvecklas. Vilken typ av immunsvaret som ger upphov till fodermedelsallergi är fortfarande oklar men det är sannolikt att en kombination av en typ I-överkänslighet och en typ IV-överkänslighet är förklaringen till sjukdomen. Hos fodermedelsallergiska hundar och katter syns en ökad lymfocytaktivitet i blodet och hos hundar förekommer ett ökat antal CD8+ T-celler i huden. Hos andra djurslag, såsom mus, har ett minskat antal T_{reg} funnits och i vissa studier även en ökning av antalet mastceller. Vad gäller cytokiner och transkriptionsfaktorer vid fodermedelsallergi finns fortfarande mycket oklarheter men minskat uttryck av IL-10, TGF- β och Foxp3 kan vara en del av patogenesen. Majoriteten av de drabbade djuren har en ökad mängd antikroppar i blodet men om detta är en direkt eller indirekt effekt är fortfarande osäkert. En eliminationsdiet kan bestå av nya protein- och kolhydratkällor (novel diet) eller hydrolyserade proteiner och det diagnostiska värdet av dessa tycks likvärdiga. Trots att de kliniska symptomen försvinner med hjälp av eliminationsdieten kvarstår ofta de förhöjda antikroppstitrarna efter avslutad diet. I vissa studier syns dock en minskad lymfocytaktivitet i blodet efter eliminationsdietens slut. Huden hos fodermedelsallergiska hundar är oförändrad vid jämförelse innan och efter eliminationsdiet vilket kan bero på att immunsystemet är förberett på nya stimuli från antigen. Det behövs mer forskning för att ta reda på vilka faktorer som påverkar utvecklingen av fodermedelsallergi och hur den immunologiska bakgrunden verkligen ser ut.

SUMMARY

Food allergy is a condition characterised by an immune response to an antigen, most often a protein, which would not normally provoke such an immune response. The most common clinical signs are cutaneous symptoms such as pruritus, alopecia and otitis. The disease is diagnosed by use of an elimination diet, followed by a provocation diet. In case of a diagnosis, the disease is treated by a lifelong exclusion of the offending antigen from the diet. In healthy individuals, an oral tolerance to the proteins in their diets develops, but if this fails, allergy may follow. The aim of this thesis is to summarise the available research regarding the induction of oral tolerance, food allergy and how the immune system reacts to elimination diets. Induction of oral tolerance is dependent on multiple factors including regulatory T cells, IL-10, TGF- β , Fc γ RIIB on B cells, $\gamma\delta$ T cells and a functional micro flora in the gastrointestinal tract. It is well accepted that gastrointestinal inflammation increases the probability of disease. The immunological background remains partly unclear but the disease is likely to be caused by a combination of type I and type IV hypersensitivity reactions. Affected dogs and cats have increased lymphocyte reactivity, and an increased number of CD8⁺ T cells have been found in the skin of affected dogs. In other species, such as mice, studies have shown a decreased number of T_{reg} cells and occasionally an increased number of mast cells. Another part of the pathogenesis of food allergy may be decreased expressions of IL-10, TGF- β and Foxp3. Most affected animals show higher numbers of antibodies in their serum but whether this represents a direct action on B cells or is mediated via T cells remains unclear. An elimination diet may consist of novel sources of proteins and carbohydrates or of hydrolysed protein and the diagnostic value between these options are similar. Most often, despite the loss of clinical signs, the increased numbers of antibodies in the blood remains unaffected by an elimination trial. Some studies, however, have shown a decreased lymphocyte activity. The elimination trial did not affect the cell infiltrate, cytokines or transcription factors in the skin of affected dogs, which may indicate that the skin remains primed towards an allergic reaction. More research is needed to identify the true mechanisms behind food allergy in dogs and cats.

INLEDNING

Fodermedelsallergi innebär att immunsystemet aktiveras av en substans som normalt sett inte utlöser något immunsvaret och som tillförs individen med födan. Termen fodermedelsallergi innefattar inte andra typer av negativa effekter av foder såsom fodermedelsintolerans eller intoxicationer eftersom immunsystemet inte är inblandat i dessa (Gaschen & Merchant 2011).

Allergi mot fodermedel är en relativt vanlig diagnos hos hund och katt och tillståndet har i studier visat sig förklara ca 7-25 % av de hundar som uppvisar dermatologiska symptom (Chesney 2002; Picco et al. 2008; Proverbio et al. 2010) samt ca 6 % av dermatitdrabbade katter (Vogelnest & Cheng 2013). De vanligaste substanserna som orsakar fodermedelsallergi är proteiner (Kennis 2006). Hos både hund och katt är de vanligaste råvarorna att orsaka sjukdomen nötkött och mjölkprodukter. Hos hund är också kyckling en vanlig allergen medan fisk oftare orsakar allergi hos katt (Roudebush 2013).

De vanligaste kliniska symptomen en hund eller katt uppvisar är hudsymptom så som klåda, otit, pyoderma och alopeci samt gastrointestinala symptom som diarré eller kräkningar (Chesney 2002; Picco et al. 2008; Proverbio et al. 2010; Vogelnest & Cheng 2013); dock är gastrointestinala symptom ovanligare än hudsymptom (Veenhof et al. 2012). Eftersom symptomen till stor del liknar de som förekommer vid atopisk dermatit är det ofta mycket svårt att skilja dessa sjukdomar åt enbart baserat på den kliniska bilden (Veenhof et al. 2012). Diagnos av fodermedelsallergi sker med hjälp av en eliminationsdiet med en efterföljande provokation med det tidigare fodret (Gaschen & Merchant 2011). Påvisas fodermedelsallergi behandlas djuret genom undvikande av det orsakande allergenet (Kennis 2006).

Eftersom fodermedelsallergi är en så pass vanlig sjukdom och orsakar lidande för drabbade djur är det en viktig sjukdom att försöka bekämpa. Dock är den immunologiska bakgrunden fortfarande till stor del okänd. Denna uppsats syftar därför till att sammanfatta den tillgängliga forskningen kring den immunologiska bakgrunden till fodermedelsallergi hos hund och katt. Även immunologiska förändringar efter eliminationsdiet kommer att behandlas. För att förstå hur sjukdomen uppstår är det också viktigt att känna till hur de flesta djur faktiskt undkommer sjukdomen, genom utveckling av oral tolerans, och denna uppsats behandlar därför även detta.

MATERIAL OCH METODER

I litteratursökningen har databaserna Pubmed och Web of Science använts. Sökorden har varit ”Food allergy” OR ”Adverse food reactions” OR “Food hypersensitivity” OR “Oral tolerance” samt “dog” OR “dogs” OR “canine” OR “cat” OR “cats” OR “feline”. Även utvalda artiklars referenslistor har använts i sökningen samt Elseviers funktion ”recommended articles”.

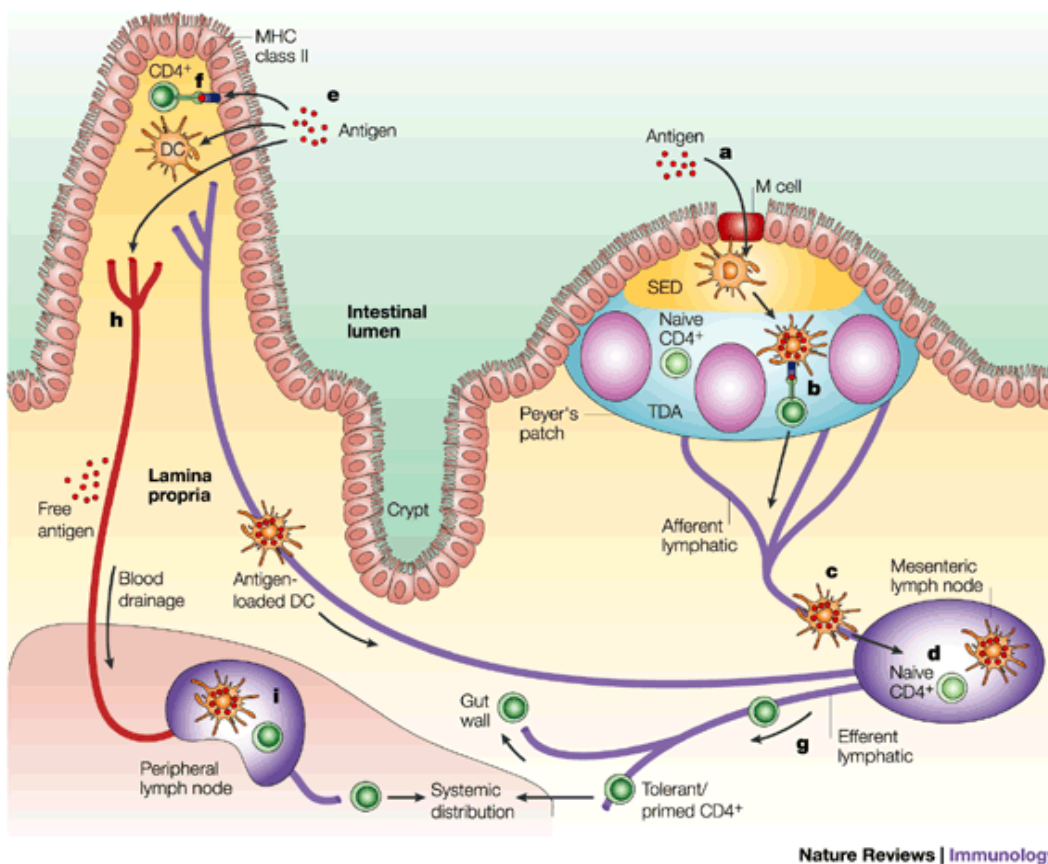
LITTERATURÖVERSIKT

Induktion av oral tolerans

Som tidigare nämnts utgör olika proteiner de vanligaste orsakerna till fodermedelsallergi. Proteiner är dock en nödvändig del i hundens och kattens kost. Därför behöver kroppen utveckla en tolerans mot proteinerna (Chehade & Mayer 2005). Vilka mekanismer som ligger bakom toleransutvecklingen är till viss del fortfarande okända, dock är en del av bakgrunden klarlagd.

Antigenpresentation

För att utveckla tolerans måste immunsystemet avgöra vilka antigen som ska accepteras och vilka som ska utlösa ett immunsvaret. De antigen som når gastrointestinkanalen måste därför processas av kroppen för att avgöra om tolerans eller sensibilisering ska uppstå. För att denna processning ska kunna genomföras måste antigenet tas upp från lumen vilket kan ske på flera sätt. Ett sätt är med hjälp av så kallade M-celler som finns i tarmens epitel. M-celler kan ta upp antigen från tarmen och leverera dem till underliggande Peyerska plack (PP). I PP kan antigenen tas upp av dendritiska celler (DC) som i sin tur kan presentera antigenen för en lymfocyt via Major Histocompatibility Complex klass II (MHC II) (Chehade & Mayer 2005). Antigen kan också tas upp via utskott på en underliggande DC, direkt mellan epitelceller om en skada i tight junctions föreligger eller i vissa fall direkt i epitelcellerna (Figur 1) (Veenhof et al. 2012).



Figur 1. Upptag och presentation av antigen i tarmen. Används med tillåtelse från Prof Allan Mowat (Mowat, 2003).

Låg- och högdostolerans

Oral tolerans kan utvecklas på två olika sätt, genom högdostolerans eller lågdostolerans. Högdostolerans kan i sin tur utvecklas genom antingen anergi eller apoptos av T-celler. T-cellen blir anergisk om bindning mellan ytmolekylerna CD80/86 på DC och CD28 på T-cellen, även kallad costimulering, uteblir. Apoptos induceras istället genom bindning mellan CD95 på T-cellen och CD95L på DC (Chehade & Mayer 2005). Viney et al. (1998) visade att DC i tarmen under normala förhållanden uttrycker mycket låga nivåer av CD80/86. Vid inflammatoriska tillstånd kan DC i tarmen dock uppreglera CD80/86 och därmed bidra till fullständig aktivering av T-celler (Chehade & Mayer 2005).

När en individ utsätts för låga doser av ett antigen kan tolerans, till skillnad från ovan beskrivna högdostolerans, uppstå på grund av en uppreglering av de regulatoriska T-cellerna. Regulatoriska T-celler kan delas in i tre grupper; T_H3 -celler, Tr_1 -celler samt $CD4+CD25+$ celler, även kallade T_{reg} (Chehade & Mayer 2005). T_H3 -celler kan producera Transforming Growth Factor- β (TGF- β) och en del av dem kan även uttrycka Foxp3, Tr_1 -celler producerar stora mängder Interleukin (IL)-10 medan T_{reg} som uttrycker Foxp3 fungerar nedreglerande på T_H2 -celler (Veenhof et al, 2012). Just IL-10 och TGF- β har visat sig vara två viktiga cytokiner i utvecklingen av tolerans. I en studie på hund av Zemann et al. (2003) gavs antigen enligt ett protokoll för att studera om tolerans utvecklades. De fann lägre Immunoglobulin (Ig)E- och IgG-nivåer samt högre nivåer av IL-10 och TGF- β hos de valpar där toleransutveckling hade skett vilket tyder på vikten av dessa cytokiners bidrag till den orala toleransen. TGF- β är också en faktor i antikroppsswitchen mot produktion av IgA som kan vara en viktig del av den orala toleransen (Faria & Weiner 2005).

Faktorer som påverkar den orala toleransen

Det finns många faktorer som påverkar huruvida ett protein orsakar allergi eller tolerans. Untersmayr et al. (2003) visade att möss som behandlades med syraneutraliserande läkemedel, antacida, och sedan utfodrades med bland annat kaviarprotein utvecklade allergi mot dessa proteiner. Kontrollgruppen, som i försöket utfodrades med samma proteiner men utan behandling med antacida, utvecklade istället en tolerans mot proteinerna. Andra faktorer som kan påverka är om antigenet är lösligt eller inte samt olika individskillnader (Chehade & Mayer 2005).

En viktig receptor för toleransutveckling har visat sig vara Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) på T-cellen vilken är en receptor med mycket hög affinitet för CD80/86 på DC. Möss som saknar CTLA-4 har i studier dött mycket tidigt och när receptorn blockerats med antikroppar har mössen snabbt utvecklat autoimmuna sjukdomar. Detta tyder på att en bindning mellan CD80/86 på DC och CTLA-4 på T-cellen ger en inhibitorisk signal till T-cellen (Walker 2013). Trots den höga affiniteten mellan CTLA-4 och CD80/86 binder CD80/86 oftare till CD28 både in vitro och in vivo (Chen 2004). Detta kan bero på att CTLA-4 till största delen förekommer intracellulärt medan CD28 oftare uttrycks på cellytan (Walker 2013). CTLA-4 kan också påverka DC genom så kallad omvänd signalering. När interaktion då sker mellan CTLA-4 och CD80/86 påverkas tryptofanmetabolismen hos DC och detta minskar i sin tur T-cellsaktiviteten (Chen 2004).

Sun, J-B. et al. (2013) använde transgena möss vilka saknade uttryck av Fc γ -receptor-IIIB (FC γ RIIB), en inhibitorisk IgG-receptor, på sina B-celler i en studie av oral tolerans. Studien visade att mössen hade ett betydligt lägre antal T_{reg} samt att DC inte inducerade T-cellstolerans lika effektivt. Sammantaget erhöll mössen i studien en betydligt sämre tolerans än kontrollmössen. Intressant nog återfick mössen förmågan att inducera T-cellstolerans när de erhöll B-celler från möss utan brist av FC γ RIIB. Ke et al. (1997) visade att möss som saknar uttryck av $\gamma\delta$ -receptorer inte utvecklar en normal oral tolerans när de utsätts för antigen vilket tyder på att även $\gamma\delta$ -receptorer på $\gamma\delta$ T-celler skulle kunna vara viktiga för oral tolerans. Antalet intraepiteliala $\gamma\delta$ T-celler i tarmen har hos hund och mus visat sig vara något högre än hos människor (German et al. 1999).

Huruvida den individuella normalfloran i tarmen påverkar utvecklingen av allergier har undersökts med något varierande resultat (Chehade & Mayer 2005). I en studie av Bashir et al. (2004) jämfördes transgena möss som saknade Toll like receptor-4 (TLR-4), en receptor för lipopolysackarider (LPS), med möss som uttryckte receptorn i normal mängd. De fann förhöjda nivåer av antigenspecifika IgE-antikroppar samt förhöjda histaminnivåer hos de transgena mössen efter oral administrering av antigen. Efter att de icke transgena mössen behandlats med antibiotika fick de liknande svar som de transgena mössen efter administrering av antigen, vilket visar på normalfloras effekt på den orala toleransen.

Att gastrointestinala inflammationer kan påverka den orala toleransen visades en i studie av Guilford et al. (2001). I studien undersöktes 55 katter med kroniska gastrointestinala problem med avseende på förekomst av fodermedelsallergi. 16 av dessa katter, vilket motsvarar 29%, diagnosticerades som fodermedelsallergiker med hjälp av eliminationsdiät. Ytterliggare elva katter fick förbättrade kliniska symptom av eliminationsdieten, men vid provokationsdiät återkom inte symptomen varför de ej diagnosticerades som fodermedelsallergiker.

Skillnader mellan katter och hundar

Normalt sett aktiverar enterocyter suppressiva CD8+ T-celler som har en hämmande inverkan på immunsystemet och detta skiljer enterocyternas funktion från de professionella antigenpresenterande cellerna (APC). Aktiveringen av CD8+ celler sker via CD1d på enterocyterna och inte via MHC II. Vid inflammatoriska tillstånd i tarmen kan dock enterocyterna istället aktivera CD4+ T_H-celler vilket sker med hjälp av MHC II (Chehade & Mayer 2005). Kattens enterocyter uttrycker inte, till skillnad från hundens, MHC II på sin yta varför kattens enterocyter inte kan fungera som APC för antigen (Stokes & Waly 2006; German et al. 1998).

Antalet intraepiteliala lymfocyter har hos katt visats vara betydligt högre än hos hund. Hos katt har även IgM+ plasmaceller påvisats i lamina propria, vilka ej har påvisats hos hund. (Waly et al. 2001).

Immunsvaret vid fodermedelsallergi

Mastceller och histamin

Sun et al. (2013a) jämförde histaminnivåerna i jejunum hos sensibiliserade möss med en kontrollgrupp. De fann signifikant högre histaminnivåer hos de sensibiliserade mössen. Även nivåerna i serum har visats vara förhöjda hos sensibiliserade möss (Sun et al. 2013b). Histaminnivåerna började stiga 2 veckor efter att mössen sensibiliserats och nådde sin topp 4 veckor efter sensibilisering. Dessa två studier visade att möss som sensibiliserats med låga doser antigen hade högre nivåer av histamin än möss som sensibiliserats med en högre dos antigen. De som sensibiliserats med den högre dosen hade inte signifikanta skillnader i histaminnivåer jämfört med den icke-sensibiliserade kontrollgruppen.

I en studie av Ishida et al. (2003) studerades de antigenspecifika serumhistaminnivåerna hos åtta hundar som genom eliminationsdiät diagnosticerats som fodermedelsallergiker. Fyra av de åtta hundarna hade höga histaminnivåer men de fann endast en svag korrelation mellan höga histaminnivåer och positiva resultat i IgE- samt intradermala test.

Hur antalet mastceller i lamina propria och bindväven i tarmen påverkas vid fodermedelsallergi studerades av Perrier et al. (2010). De sensibiliserade möss med proteinet ovalbumin (OVA) kopplat till ett adjuvans och jämförde antalet mastceller som återfanns i tarmen med icke sensibiliserade kontrollmöss samt en annan grupp kontrollmöss som utsatts enbart för adjuvans. De sensibiliserade mössen hade ett lindrigt ökat antal mastceller, både i lamina propria och i bindväven, jämfört med de båda kontrollgrupperna. Trots att endast en liten ökning kunde ses visade hälften av de sensibiliserade mössen symptom på allergi när de åter utsattes för allergenet.

Mastceller har också studerats i huden hos fodermedelsallergiska hundar. Veenhof et al. (2011) visade att mastceller förekom i varierande mängd i hudområden med lesioner (LS) medan de förekom i liten mängd i hud från drabbade hundar där lesioner inte förekom (NLS).

Lymfocyter

Hur T-celler är involverade i fenomenet fodermedelsallergi är utrett i ett antal studier. Li et al. (2014) undersökte vilka roller T_{H17} och T_{reg} spelade hos möss som sensibiliserats mot β -laktoglobulin. De sensibiliserade mössen hade en signifikant högre kvot mellan T_{H17} och T_{reg} i sin mjälte jämfört med kontrollgruppen. Även antalet av dessa celler skiljde sig signifikant mellan grupperna där T_{H17} och T_{reg} var betydligt högre respektive lägre hos de sensibiliserade mössen.

I en studie sensibiliserades möss med två olika proteiner från soja och mössen visade då ett högre antal $CD4^+$ T-celler i lamina propria än kontrollmössen. Antalet $CD8^+$ T-celler skiljde sig dock inte mellan sensibiliserade möss och kontrollgruppen (Sun et al. 2013a). Veenhof et al. (2010) jämförde T-cellsaktiviteten i duodenum hos friska hundar med hundar som diagnosticerats med fodermedelsallergi. De fann inga signifikanta skillnader mellan grupperna.

Veenhof et al. (2011) studerade T-celler i olika hudlager hos fodermedelsallergiska hundar, både i LS och NLS. De visade att epidermis i LS innehöll ett högre antal CD8+ $\gamma\delta$ TCR+ T-celler än epidermis hos kontrollhundar, som alltså ej var fodermedelsallergiker. I dermis i LS fanns istället ett ökat antal CD3+CD8+ och CD8+ $\alpha\beta$ TCR+ T-celler jämfört med kontrollhundar. Överlag varierade antalet T-celler mycket mellan olika individer.

Två studier har undersökt systemiskt lymfocyt svar hos fodermedelsallergiska hundar respektive katter med hjälp av ett lymfocytstimuleringsstest (Ishida et al. 2004, 2012). Gruppen fann att fodermedelsallergiska hundar och katter många gånger hade ett större lymfocyt svar än normalt. I en annan studie undersökte Sun et al. (2013b) det systemiska T-cellssvaret hos möss genom att studera celler från djurens mjälte. I denna studie visades att de möss som sensibiliserades med 0,1 eller 1 mg antigen per dag hade signifikant högre T-cellssvar än de möss som fått saltlösning eller 10 mg antigen/dag.

Cytokiner och transkriptionsfaktorer

Veenhof et al. (2011) studerade genuttryck hos hundar med konstaterad fodermedelsallergi med avseende på bland annat cytokiner och transkriptionsfaktorer i huden. I LS uttrycktes mer SOCS-3, IL-13 och Interferon- γ (IFN- γ) än i NLS. IL-4 och Foxp3 var förhöjda i både LS och NLS jämfört med huden hos kontrollhundar som ej visade tecken på sjukdom (CS). IL-13 tenderade även att vara något förhöjd i NLS jämfört med CS men denna skillnad var inte signifikant.

Möss som sensibiliserats med 0,1 eller 1,0 mg antigen från soja per dag uttryckte mer IL-4, IL-5 och IFN- γ i celler från mjälten än möss som ej utsattes för antigen eller fick 10 mg antigen per dag (Sun et al. 2013b). När RNA från jejunum istället studerades hos sensibiliserade möss återfanns högre uttryck av IL-4 och IFN- γ samt lägre uttryck av IL-10 och TGF- β jämfört med kontrollmöss (Sun et al. 2013a).

Li et al. (2014) studerade uttrycket av transkriptionsfaktorer och cytokiner i mjältceller hos möss allergiska mot ett protein förekommande i mjölk. Mössen uttryckte högre nivåer IL-17A, IL-6 och ROR γ t medan de uttryckte lägre nivåer av Foxp3 samt TGF- β . En annan studie visade högre uttryck av IL-5, IL-13, IL-10, IFN- γ och IL-17 i mjälte och mesenteriska lymfknutor hos möss som sensibiliserats mot OVA (Perrier et al. 2010).

Antikroppar

Jackson et al. (2003) studerade IgE-nivåerna i serum hos hundar med allergi mot soja och majs. När hundarna utsattes för provokation i form av majsstärkelse, hel majs och soja ökade de totala IgE-nivåerna i serum. Författarna fann ingen skillnad i antigenspecifika IgE-nivåer beroende på om hunden utsatts för majs, majsstärkelse eller soja utan samtliga IgE-nivåer höjdes oavsett vilket antigen som hunden provocerats med.

I en studie av Perrier et al. (2010) sensibiliserades möss med OVA och de visade sig ha högre serumnivåer av antigenspecifika IgE, IgG1, IgG2 och IgA än möss som inte sensibiliserats.

De hade även högre nivåer av sekretoriska IgA i feces än kontrollmössen. I andra musstudier har högre IgA-halter i tarmen påvisats (Sun et al. 2013a) samt högre serumnivåer av IgE, IgG1 och IgG2 hos möss som sensibiliserats mot olika proteiner (Sun et al. 2013b).

Eliminationsdieter

Typer av eliminationsdieter

Hydrolyserade dieter

Hydrolysering är en metod som använts under lång tid på humansidan för att minska allergiciteten hos proteiner. Med hydrolysering menas att klyva proteiner till kortare peptidkedjor och aminosyror och teorin är att kortare peptidkedjor inte kan korsbinda två stycken Fcε-receptor-1 (FcεR1) på en mastcell och därmed inte orsaka en degranulering av mastcellen (Cave 2006).

Novel diets

Ett alternativ till hydrolyserade proteiner är att använda råvaror som hunden eller katten ej tidigare utfodrats med, och därmed sensibiliserats mot. Ett sådant foder kan antingen vara kommersiellt tillagat eller ett av djurägaren tillagat foder (Loeffler et al. 2006). Ska en novel diet användas som elimination är det viktigt att ha i åtanke de korsreaktioner som kan ske mellan olika proteiner (Gaschen & Merchant 2011).

Effekter av eliminationsdieter

Huruvida det föreligger någon skillnad i resultat av en eliminationsdiet bestående av hydrolyserade proteiner eller en hemlagad novel diet undersöktes av Loeffler et al. (2006). De utförde en retrospektiv studie av 181 hundar med tecken på klåda. De fann inga skillnader mellan det diagnostiska värdet mellan dieterna.

T-cellsinfiltrat och genuttryck av cytokiner och transkriptionsfaktorer i huden på hundar drabbade av fodermedelsallergi jämfördes av Veenhof et al. (2011). Nivåerna jämfördes innan och efter att hundarna utfodrats med en eliminationsdiet under 8 veckor bestående av en hemlagad kost, novel diet. De fann inga skillnader i någon av dessa immunologiska parametrar före jämfört med efter eliminationsdieten, trots att hundarna efter eliminationsdieten blivit symptomfria.

Ishida et al. (2004) undersökte, med hjälp av ett lymfocytstimuleringstest, lymfocytaktivitet i serum hos fodermedelsallergiska hundar. Hundarna utfodrades med en eliminationsdiet bestående av hemlagad novel diet, kommersiell novel diet eller hydrolyserat foder under tre till åtta veckors tid. Lymfocytaktiviteten i serum var lägre hos hundarna efter eliminationsdieten och även dessa hundar blev helt symptomfria.

Nivåerna av antigenspecifika IgE-, och IgG-halter i serum undersöktes i en studie av Zimmer et al. (2011). Hundarna utfodrades med en eliminationsdiet under åtta till tio veckor. Eliminationsdieten bestod antingen av en novel diet, hemlagad eller kommersiell, eller ett

hydrolyserat, kommersiellt foder. Varken IgG-nivåer eller IgE-nivåer förändrades med hjälp av eliminationsdieten, dock blev de flesta hundarna symptomfria under eliminationsstiden.

Ricci et al. (2010) undersökte om hundar som var känsliga för kycklingprotein tolererade hydrolyserad kyckling samt hydrolyserad soja. De tolv hundarna utfodrades först med hel kyckling för att sedan antingen utfodras med hydrolyserad kyckling eller hydrolyserad soja. Efter den första hydrolyserade dieten fick de istället äta den andra hydrolyserade dieten. På så vis fick samtliga hundar äta samtliga dieter. Hos elva av de tolv hundarna förbättrades de kliniska symptomen avsevärt av den hydrolyserade dieten jämfört med dieten innehållande hel kyckling medan en hund fick förvärrade symptom. I studien mättes även antigenspecifika IgE- och IgG-nivåer. IgE-nivåerna låg mycket lågt, ofta under detektionsnivå, hos alla hundar i studien, både innan och efter eliminationsdiät. Det fanns ingen signifikant skillnad i IgG-nivåer hos hundarna före respektive efter eliminationsdieten. Däremot fann författarna i vissa fall en ökning av sojaspecifika IgG-antikroppar hos hundar som utfodrats med hydrolyserad kyckling.

Antigenspecifika IgE-nivåer har även undersökts av Olivry et al. (2007). I denna studie utvärderades ett foder (Aminoprotect care) bestående av aminosyror, potatisprotein och majsstärkelse med hjälp av hundar med en genetisk predisposition för foderinducerad dermatit. Hundarna undersöktes med avseende på kliniska symptom samt serumnivåer av cirkulerande CCR4+ T_H-celler, aktiverade T_H-celler och antigenspecifika IgE-antikroppar. De kliniska symptomen förbättrades avsevärt när hundarna utfodrades med Aminoprotect Care jämfört med en kontroldiet med tillsatt majs, vilket hundarna tidigare reagerat mot. Författarna fann dock inga skillnader i nivåer av antigenspecifika IgE-nivåer i serum hos hundarna vid jämförelse innan och efter utfodring med APC. Inte heller nivåerna av cirkulerande CCR4+ T_H-celler eller aktiverade T_H-celler förändrades signifikant, dock tenderade båda dessa parametrar att vara något lägre efter utfodring med APC.

DISKUSSION

Normalt sett skyddar utveckling av oral tolerans individen från att utveckla fodermedelsallergi. När den orala toleransen bryts kan dock allergi uppstå. Vilka faktorer som påverkar den orala toleransen är till viss del fortfarande okända. Känt är dock att en inflammation i tarmen påverkar mottagligheten för fodermedelsallergi. I studien av Guilford et al. (2001) påvisades en prevalens av fodermedelsallergi om 29 % hos katter med gastrointestinala störningar. Denna prevalens är mycket hög och det kan tyda på att katter med gastrointestinala störningar oftare drabbas av allergi än katter utan tarmstörningar. En annan förklaring till dessa höga värden kan vara att exklusionskriterierna i studien uteslöt många katter med andra diagnoser och därmed kan siffrorna vara snedvridna.

Varför en inflammation i tarmen ökar risken för fodermedelsallergi är inte klarlagt men det finns ett flertal teorier kring bakomliggande orsaker. En teori bygger på involveringen av DC i utvecklingen av tolerans. Som tidigare nämnts är DC i tarmen normalt sett vilande och uttrycker mycket låga mängder av bland annat CD80/86 och därför blir T-cellen anergisk eller

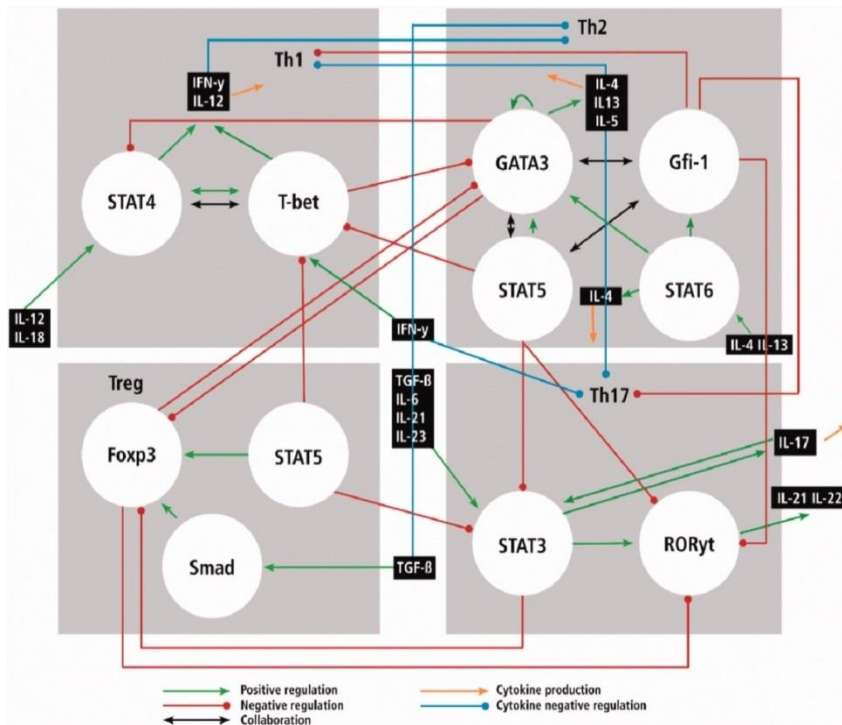
apoptotisk. Vid närvarande inflammatoriska stimuli, exempelvis LPS, uppregleras dock CD80/86 på DC (Viney et al. 1998) och torde därför kunna bidra till en förlorad tolerans genom fullständig aktivering av T-celler. En ökad permeabilitet i tarmen på grund av exempelvis inflammation eller parasiter skulle också kunna vara en förklaring till en förlorad tolerans. Marsvin som sensibiliserats med mjölk och som samtidigt hade en inflammation i tarmen hade betydligt högre allergimarkörer i blodet, exempelvis histamin och IgE (Fargeas et al. 1995). Detta skulle kunna bero på att dessa marsvin också hade en betydligt högre permeabilitet i tarmen än marsvinen från en kontrollgrupp och på så sätt kunde en högre andel antigen passera tarmväggen på ett patologiskt sätt. Även infektion med *Candida albicans* har visat sig påverka mottagligheten för fodermedelsallergi. Möss som infekterats med *Candida* hade signifikant högre permeabilitet i tarmen och även ökade nivåer av IgE och IgG-antikroppar i blodet än möss som ej var infekterade med *Candida* (Yamaguchi et al. 2006). Dessa studier tyder på att en ökad permeabilitet i tarmen ökar mottagligheten för fodermedelsallergi. En tredje förklaring skulle kunna innefatta enterocyter som antigenpresenterande cell. Eftersom enterocyterna vid inflammation kan aktivera T_H-celler via MHC II istället för suppressoriska CD8+ celler (Chehade & Mayer 2005) skulle detta kunna leda till en hämning av den orala toleransen. Katters enterocyter uttrycker dock inte MHC II på sin yta (Stokes & Waly 2006) varför detta inte kan appliceras på katter. Detta skulle kunna innebära att katter är mindre benägna att utveckla allergi på grund av inflammation i tarmen än vad hundar är. I studien av Sun et al. (2013a) återfanns fler CD4+ T-celler i lamina propria hos sensibiliserade möss vilket skulle kunna förklaras av en inflammatorisk process som lett till en aktivering av CD4+ celler snarare än CD8+ celler av enterocyterna.

Att toleransutveckling bygger på en administration av låga eller höga doser av antigen visas i studien av Sun et al. (2013b). Dessa möss utvecklade en allergi mot sojaproteiner när de administrerades i mängderna 0,1 samt 1 mg/dag men inte när de administrerades i 10 mg/dag vilket tyder på att en högdostolerans har uppstått. Sammanfattningsvis finns fortfarande många oklarheter inom toleransutvecklingen och helhetsbilden är ännu inte känd trots att många faktorer som påverkar, exempelvis regulatoriska T-celler, IL-10, TGF- β , Fc γ RIIB och $\gamma\delta$ T-celler, numera är kända.

Vilket immunsvaret som uppkommer vid fodermedelsallergi är fortfarande mycket osäkert. Hos människa beror födoämnesallergi till stor del av en typ I-överkänslighet som karakteriseras av bland annat förhöjda halter av IgE, mastceller och eosinofiler (Bischoff & Crowe 2005). Hos hundar är det dock osäkert om typ I-överkänslighet är den bakomliggande orsaken då serumtester för antigenspecifika IgE och IgG-nivåer har visat sig ha mycket låg sensitivitet (Betlehem et al. 2012). Den immunologiska bakgrunden till fodermedelsallergi skulle istället kunna vara en typ IV-överkänslighet, även kallad fördröjd överkänslighet. Att typ IV-överkänslighet är åtminstone en del av förklaringen till fodermedelsallergi styrks av att lymfocytaktiviteten hos både hundar och katter är förhöjda vid provokation av känsliga djur (Ishida et al. 2004 resp 2012). Även i huden har T-cellsaktiviteten visades vara högre hos drabbade hundar än hos kontrollhundar (Veenhof et al. 2011).

För att undersöka huruvida en typ I-överkänslighetsreaktion kan vara en del av patogenesen kring fodermedelsallergi har flera studier undersökt nivåerna av antikroppar i serum. Ofta studeras antigenspecifika antikroppar för att resultatet ska bli så tillförlitligt som möjligt. Ett intressant resultat av Jackson et al. (2003) är att inte bara de totala nivåerna av IgE i serum höjdes efter provokation med antigen utan så skedde även med de antigenspecifika IgE-nivåerna, oavsett vilket antigen som administrerades. Detta skulle kunna vara en effekt av korsreaktivitet men eftersom de två proteinerna är så pass olika varandra är detta mer osannolikt. En mer trolig förklaring kan vara att IgE-antikropparna uppkommer av en T-cellsaktivering som i sin tur ger en generell B-cellsaktivering och därmed flera olika typer av antigenspecifika IgE snarare än en direkt aktivering av specifika B-celler. Detta resultat tyder på att IgE-antikropparna inte härrör från en typiskt typ I-överkänslighet. Även resultaten från studien av Ricci et al. (2010) skulle kunna ge stöd till denna hypotes då vissa av hundarna fick förhöjda halter av antigenspecifika antikroppar mot andra antigen än de som de provocerades med. I studier av Perrier et al. (2010) och Sun et al. (2013b) fann forskarna högre nivåer av antigenspecifika antikroppar mot OVA respektive sojaproteiner, men i dessa studier var mössen enbart sensibiliserade mot ett antigen varför det inte går att dra några slutsatser om dessa höjda halter beror på en direkt eller en indirekt B-cellsaktivering. Sammantaget skulle resultaten som pekar mot en typ I-överkänslighet egentligen kunna vara en effekt av en typ IV-överkänslighet. Rollen av mastceller och histamin, som traditionellt är involverade i typ I-överkänslighet, är fortfarande oklar då studierna till stor del går isär.

I huden på fodermedelsallergiska hundar fann författarna till en studie ett ökat antal CD8+ T-celler jämfört med kontrollhundar. Dessa celler verkar vara viktiga för patogenesen vilket skiljer sig från det som hittats i studier på hundar med atopisk dermatit som ju är mycket likt fodermedelsallergi rent kliniskt (Veenhof et al. 2011). CD8+ celler kan vara antingen cytotoxiska T-celler eller suppressoriska T-celler och vilken grupp de funna cellerna tillhör är oklart. Förhöjda halter av IFN- γ skulle kunna tyda på att de CD8+ cellerna är cytotoxiska T-celler då IFN- γ tillhör T_H1-cytokinerna vilka kan rekrytera cytotoxiska T-celler. De övriga cytokinerna som uttrycktes i LS (IL-13 och IL-4) hos hundarna kan tillverkas av T_H2-celler och detta tyder på att LS har en blandad T_H1/T_H2-cytokinprofil (Figur 2). Eftersom NLS uttryckte låga nivåer av IFN- γ tyder resultaten på att NLS är mindre T_H1-riktat än LS samtidigt som uttrycket av IL-4 & till viss del IL-13 tyder på att huden är primad att bli LS trots avsaknad av kliniska tecken. Cytokin- och transkriptionsfaktorsprofilen förändrades inte av eliminationsdiet, trots att samtliga hundar blev symptomfria vilket också kan betyda att huden hos fodermedelsallergiska hundar är förberedd att utsättas för nya antigen. I både LS och NLS var uttrycket av Foxp3 förhöjt jämfört med CS. Detta resultat är något oväntat då Foxp3 tillhör de regulatoriska transkriptionsfaktorerna och skulle därmed kunna förväntas vara mindre uttryckt i LS och NLS (Figur 2). Det är möjligt att dessa förhöjda nivåer beror på att immunsystemet försöker inhibera immunsvaret i huden men att det inte är tillräckligt starkt.



Figur 2. Schematisk bild av regleringen av T-cellspopulationen. Används med tillåtelse från Prof Dr Victor PMG Rutten (Veenhof et al. 2012)).

De förhöjda halter av IL-17 och ROR γ t som funnits av Li et al. (2014) stämmer väl överens med en ökning av T_H17-celler, som även de fanns i studien, eftersom T_H17-celler kan vara bakgrunden till både IL-17 och ROR γ t (Figur 2). Det minskade uttrycket av Foxp3 och TGF- β stämmer väl överens med minskningen av T_{reg} som även det visades i studien. Denna obalans mellan T_H-17 och Treg skulle kunna vara en del i patogenesen bakom fodermedelsallergi. Dock är denna studie utförd på möss vilket gör att resultatet kan skilja sig från hund och katt.

Det är väl känt att IL-10 och TGF- β är viktiga faktorer för induktion av oral tolerans (Chehade & Mayer 2005). Detta bekräftas av resultatet från Sun et al. (2013a) där de sensibiliserade mössen hade lägre uttryck av just dessa två cytokiner och ett högre uttryck av IL-4 och IFN- γ i jejunum samt studien av Zemmann et al. (2003) som fann ökade nivåer TGF- β och IL-10 hos valpar som utvecklade tolerans. Perrier et al. (2010) hittade dock högre nivåer IL-10 hos sensibiliserade möss men diskuterar inte möjliga orsaker till detta då de klassificerar IL-10 som en T_H2-cytokin snarare än en immunosuppressiv cytokin. Att IL-10 hittats i förhöjda nivåer i en studie och sänkta nivåer i en annan skulle kunna bero på att mössen sensibiliserats på olika vis samt att olika delar av djuren provtagits. Det är fortfarande osäkert vilken exakt roll IL-10 spelar i patogenesen bakom fodermedelsallergi och det behöver göras mer forskning för att utreda detta.

Ett problem med forskning på fodermedelsallergi är diagnostiken då eliminationsdiet idag räknas som "gold standard". En hund eller katt som får förbättrade kliniska symptom under en eliminationsdiet och som återfår symptom under provokation anses vara fodermedelsallergisk (Kennis 2006). Eftersom det inte finns någon annan tillförlitlig diagnostik är det svårt att utvärdera denna standard. Ett stort problem med denna diagnostik är att det kan vara svårt att er hålla en god djurägarcompliance vilket är en förutsättning för korrekt diagnostik. Som Loeffler et al. (2006) visade verkar det diagnostiska värdet av en kommersiell diet inte skilja sig nämnvärt från hemlagade. Det är dock möjligt att compliance från djurägaren kan vara bättre när eliminationsdieten består av ett kommersiellt foder då djurägaren då slipper tillaga

maten själv vilket minskar arbetsbördan och risken för kontamination. Ett problem med hydrolyserade dieter kan vara en minskad smaklighet (Cave 2006) medan ett vanligt problem med hemlagade dieter är en obalans mellan näringsämnen (Kennis 2006).

Det finns idag ett flertal kommersiella, hydrolyserade dietfoder på marknaden. Som beskrivits i litteraturöversikten är teorin bakom hydrolyseringsprocessen att en minskad storlek på peptidkedjorna omöjliggör en korsbindning på FcεR1 på mastcellen. Dock förutsätter denna teori att den bakomliggande orsaken till fodermedelsallergi är en typ I-överkänslighetsreaktion och det blir alltmer osäkert om så är fallet. Hydrolyseringen skulle dock kunna fungera även om en typ IV-överkänslighetsreaktion ligger bakom fodermedelsallergin då det är möjligt att de epitoper som orsakar allergin kan förstöras av hydrolyseringen. Det kan dock oavsett vara en fördel att välja ett hydrolyserat foder som inte innehåller en proteinkälla som hunden eller katten tidigare reagerat mot, även om den är hydrolyserad, då en liten del av proteinerna kan gå igenom processen opåverkade.

Trots en förbättring av kliniska symptom har serumnivåerna av olika antikroppar varit i stort sett oförändrade efter en eliminationsdiet (Zimmer et al. 2011; Ricci et al. 2010; Olivry et al. 2007). Detta resultat kan ha olika förklaringar. I studien av Olivry et al. (2007) fick hundarna bara äta varje diet i 5 dagar vilket författarna diskuterar kan vara för kort tid för att detektera några skillnader. Denna teori får stöd av att lymfocytaktiviteten sjönk efter eliminationsdieten, men inte tillräckligt för att få signifikanta skillnader samt att Ishida et al. (2004) visade att lymfocytaktiviteten sjönk efter eliminationsdiet. De uteblivna förändringarna i serum skulle också kunna förklaras av att de biokemiska metoderna inte fungerade optimalt eller att antikropparna förblir höga efter eliminationsdiet för att immunsystemet är förberett för nya antigen.

REFERENSER

- Bashir, M.E.H., Louie, S., Shi, H.N. & Nagler-Anderson, C. (2004). Toll-like receptor 4 signaling by intestinal microbes influences susceptibility to food allergy. *The Journal of Immunology*, Vol. 172, ss 6978-6987.
- Betlehem, S., Bexley, J. & Mueller, R.S. (2012). Patch testing and allergen-specific serum IgE and IgG antibodies in the diagnosis of canine adverse food reactions. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Vol. 145, ss 582-589.
- Bischoff, S. & Crowe, S.E. (2005). Gastrointestinal food allergy: New insights into pathophysiology and clinical perspectives. *Gastroenterology*, Vol. 128, ss 1089-1113
- Cave, N.J. (2006). Hydrolyzed protein diets for dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, vol. 36, ss 1251-1268.
- Chenade, M. & Mayer, L. (2005). Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, Vol. 115, ss 3-12.
- Chen, L. (2004). Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nature Reviews Immunology*, Vol. 4, ss 336-347.
- Chesney, C.J. (2002). Food sensitivity in the dog: a quantitative study. *Journal of Small Animal Practice*, Vol. 43, ss 203-207.

- Fargeas, M-J., Theodorou, V., More, J., Wal, J-M., Fioramonti, J. & Bueno, L. (1995). Boosted systemic immune and local responsiveness after intestinal inflammation in orally sensitized guinea pigs. *Gastroenterology*, Vol. 109, ss 53-62.
- Faria, A.M.C. & Weiner, H.L. (2005). Oral tolerance. *Immunological Reviews*, Vol. 206, ss 232-259.
- Gaschen, F.P. & Merchant, S.R. (2011). Adverse food reactions in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, Vol. 41, ss 361-379.
- German, A.J., Bland, P.W., Hall, E.J. & Day, M.J. (1998). Expression of major histocompatibility complex class II antigens in the canine intestine. *Veterinary immunology and immunopathology*, Vol. 61, ss 171-180.
- German, A.J., Hall, E.J., Moore, P.F., Ringler, D.J., Newman, W. & Day, M.J. (1999). The distribution of lymphocytes expressing $\alpha\beta$ and $\gamma\delta$ T-cell receptors, and the expression of mucosal addressin cell adhesion molecule-1 in the canine intestine. *Journal of Comparative Pathology*, Vol. 121, ss 249-263.
- Guilford, W.G., Jones, B.R., Markwell, P.J., Arthur, D.G., Collett, M.G. & Harte, J.G. (2001) Food sensitivity in cats with chronic idiopathic gastrointestinal problems. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Vol. 15, ss 7-13.
- Ishida, R., Kurata, K., Masuda, K., Ohno, K. & Tsujimoto, H. (2012). Lymphocyte blastogenic responses to food antigens in cats showing clinical symptoms of food hypersensitivity. *Journal of Veterinary Medical Science*, Vol. 74, No. 6, ss 821-825.
- Ishida, R., Masuda, K., Kurata, K., Ohno, K. & Tsujimoto, H. (2004). Lymphocyte blastogenic responses to inciting food allergens in dogs with food hypersensitivity. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Vol. 18, ss 25-30.
- Ishida, R., Masuda, K., Sakaguchi, M., Kurata, K., Ohno, K. & Tsujimoto, H. (2003). Antigen-specific histamine release in dogs with food hypersensitivity. *Journal of Veterinary Medical Science*, Vol. 65, No. 3, ss 435-438.
- Jackson, H.A., Jackson, M.W., Coblenz, L. & Hammerberg, B. (2003). Evaluation of the clinical and allergen specific serum immunoblobulin E responses to oral challenge with cornstarch, corn, soy and a soy hydrolysate diet in dogs with spontaneous food allergy. *Veterinary Dermatology*, Vol. 14, ss 181-187.
- Ke, Y., Pearce, K., Lake, J.P., Ziegler, H.K. & Kapp, J.A. (1997). $\Gamma\delta$ T lymphocytes regulate the induction and maintenance of oral tolerance. *The Journal of Immunology*, Vol. 158, ss 3610-3618.
- Kennis, R.A. (2006). Food allergies: Update of pathogenesis, diagnoses and management. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, vol. 36, ss 175-184.
- Li, A-L., Meng, X-C., Huo, G-C., Duan, C-C., Zheng, Q-L., Li, D. & Wang, Y. (2014). The Th17/Treg imbalance in bovine β - lactoglobulin-sensitised mice. *International Dairy Journal*, Vol. 34, ss 257-262.
- Loeffler, A., Soares-Magalhaes, R., Bond, R. & Lloyd, D.H. (2006). A retrospective analysis of case series using home-prepared and chicken hydrolysate diets in the diagnosis of adverse food reactions in 181 pruritic dogs. *Veterinary Dermatology*, Vol. 17, ss 273-279.
- Mowat, A.M. (2003) Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nature Reviews Immunology*, Vol. 3, ss 331-341.

- Olivry, T., Kurata, K, Paps, J.S. & Masuda, K. (2007). A blinded randomized controlled trial evaluating the usefulness of a novel diet (aminoprotect care) in dogs with spontaneous food allergy. *Journal of Veterinary Medical Science*. Vol. 69, No. 10, ss 1025-1031.
- Perrier, C., Thierry, A-C., Mercenier, A. & Corthésy, B. (2010). Allergen-specific antibody and cytokine responses, mast cell reactivity and intestinal permeability upon oral challenge of sensitized and tolerized mice. *Clinical and Experimental Allergy*, Vol. 40, ss 153-162.
- Picco, F., Zini, E., Nett, C., Naegeli, C., Bigler, B., Rüfenacht, S., Roosje, P., Ricklin Gutzwiller, M. E., Wilhelm, S., Pfistert, J., Meng, E. & Favrot, C. (2008). A prospective study on canine atopic dermatitis and food-induced allergic dermatitis in Switzerland. *Veterinary Dermatology*, Vol. 19, ss 150-155.
- Proverbio, D., Perego, P., Spada, E. & Ferro, E. (2010). Prevalence of adverse food reactions in 130 dogs in Italy with dermatological signs: a retrospective study. *Journal of Small Animal Practice*, Vol. 51, ss 370-374.
- Ricci, R., Hammerberg, B., Paps, J., Contiero, B. & Jackson, H. (2010). A comparison of the clinical manifestations of feeding whole and hydrolyzed chicken to dogs with hypersensitivity to the native protein. *Veterinary Dermatology*, Vol. 21, ss 358-366.
- Roudebush, P. (2013). Ingredients and foods associated with adverse reactions in dogs and cats. *Veterinary Dermatology*, Vol. 24, ss 292-294.
- Stokes, C. & Waly, N. (2006). Mucosal defence along the gastrointestinal tract of cats and dogs. *Veterinary Research*, Vol. 37, ss 281-293.
- Sun, H., Liu, X., Wang, Y-Z., Liu, J-X. & Feng, J. (2013a) Soybean glycinin- and β -conglycinin-induced intestinal immune responses in a murine model of allergy. *Food and Agricultural Immunology*, Vol. 24, No. 3, ss 357-369.
- Sun, H., Liu, X., Wang, Y-Z., Liu, J-X. & Feng, J. (2013b). Allergen-specific immunoglobulin, histamine and T-cell responses induced by soybean glycinin and β -conglycinin in BALB/c mice of oral sensitization. *Food and Agricultural Immunology*, Vol. 24, No. 4, ss 489-501.
- Sun, J-B., Xiang, Z., Smith, K.G.C. & Holmgren, J. (2013). Important role for Fc γ RIIB on B lymphocytes for mucosal antigen-induced tolerance and Foxp3 regulatory T-cells. *The Journal of Immunology*, Vol. 191, ss 4412-4422.
- Untersmayr, E., Schöll, I., Swoboda, I., Beil, W.J., Förster-Waldl, E., Walter, F., Riemer., A., Kraml, G., Kinaciyan, T., Spitzauer, S., Boltz-Nitulescu, G., Scheiner, O. & Jensen-Jarolim, E. (2003). *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, Vol. 112, ss 616-623.
- Veenhof, E.Z., Knol, E.F., Schlotter, Y.M., Vernooij, J.C, Rutten, V.P. & Willemse, T. (2011). Characterisation of T-cell phenotypes, cytokines and transcription factors in the skin of dogs with cutaneous adverse food reactions. *The Veterinary Journal*, Vol. 187, ss 320-324.
- Veenhof, E.Z., Knol, E.F., Willemse, T & Rutten, V.P.M.G. (2012). Immune responses in dogs with cutaneous adverse food reactions. *Veterinary Quarterly*, Vol. 32, No. 2, ss 87-98
- Veenhof, E.Z., Rutten, V.P., von Noort, R., Knol, E.F. & Willemse, T. (2010). Evaluation of T-cell activation in the duodenum of dogs with cutaneous food hypersensitivity. *American Journal of Veterinary Research*, Vol. 71, No. 4, ss 441-446.
- Viney, J.L., Mowat, A.M., O'Malley, J.M., Williamson, E. & Fanger, N.A. (1998). Expanding dendritic cells in vivo enhances the induction of oral tolerance. *The Journal of Immunology*, Vol. 160, ss 5815-5825.

- Vogelnest, L.J. & Cheng, K.Y. (2013). Cutaneous adverse food reactions in cats: retrospective evaluation of 17 cases in a dermatology referral population (2001-2011). *Australian Veterinary Journal*, Vol. 91, No. 11, ss 443-451.
- Walker, L.S.K. (2013). Treg and CTLA-4: Two intertwining pathways to immune tolerance. *Journal of Autoimmunity*, Vol. 45, ss 49-57.
- Waly, N., Gruffydd-Jones, T.J., Stokes, C.R. & Day, M.J. (2001). The distribution of leukocyte subsets in the small intestine of healthy cats. *Journal of Comparative Pathology*, Vol. 124, ss 172-182.
- Yamaguchi, N., Sugita, R., Miki, A., Takemura, N., Kawabata, J., Watanabe, J. & Sonoyama, K. (2006). Gastrointestinal *Candida* colonisation promotes sensitisation against food antigens by affecting the mucosal barrier in mice. *Gut*, Vol. 55, ss 954-960.
- Zemann, B., Schwaerzler, C., Griot-Wenk, M., Nefzger, M., Mayer, P., Schneider, H., de Weck, A., Carballido, J.M. & Liehl, E. (2003). Oral administration of specific antigens to allergy-prone infant dogs induce IL-10 and TGF- β expression and prevents allergy in adult life. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, Vol. 111, ss 1069-1075.
- Zimmer, A., Bexley, J., Halliwell, R.E.W. & Mueller, R.S. (2011). Food allergen-specific serum IgG and IgE before and after elimination diets in allergic dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Vol. 144, ss 442-447.