



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**

Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Valpens immunologiska skydd



Åsa Thurehult

*Uppsala
2016*

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2016:82

Valpens immunologiska skydd

The immunological protection of the puppy

Åsa Thurehult

Handledare: Elisabeth Persson, institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Examinator: Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: grund nivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2016

Omslagsbild: Lisa som valp, fotograf: Åsa Thurehult

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serie: 2016:82

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

Nyckelord: hund, immunsystem, placenta, colostrum, maternella immunoglobuliner, vaccination

Key words: canine, immune system, placenta, colostrum, maternal immunoglobulins, vaccination

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning.....	3
Material och metod.....	3
Litteraturoversikt.....	4
Utveckling av immunsystemet hos fostret	4
Immuncellsutvecklingen	4
Utvecklingen av lymfoid vävnad	4
Primär lymfoid vävnad.....	5
Sekundär lymfoid vävnad.....	5
Placentan	6
Placentans utformning.....	6
Överföring av näring och immunoglobuliner via placenta	7
Bildande av colostrum.....	8
Överföring av immunoglobuliner via colostrum.....	8
Vaccination.....	9
Immunbristsjukdom	11
Diskussion	11
Valpens immunsystem	11
Placentans roll gällandes den passiva immuniteten hos valpen	11
Passiv immunitet via colostrum	12
Vaccinationsrutiner	12
Litteraturförteckning	14

SAMMANFATTNING

Att kunna motstå infektioner och sjukdomar krävs tidigt i livet hos alla däggdjur, men hur denna immunokompetens erhålls skiljer sig åt. Hos vissa arter överförs antikroppar från modern via moderkakan (placantan) medan råmjölken (colostrum) är den huvudsakliga källan för andra.

Den nyfödda valpen har ett välutvecklat immunsystem där primära och sekundära lymfoida organ är med i utvecklingen och utmognaden av immunceller från hematopoetiska stamceller. Vid födseln är det medfödda immunförsvaret redo, där celler som makrofager kan agera, men utan minne. Ett färdigutvecklat förvärvat försvar saknas dock, vilket förutsätter antigenkontakt och kräver därmed tid innan det kan ge valpen ett skydd. Här skapas däremot ett minne och T- och B-celler är exempel på immunceller inom detta försvar.

I avsaknad av ett förvärvat immunförsvaret behöver valpen få skydd i form av maternella antikroppar, immunoglobuliner, för att klara av medfödda och kommande infektioner under den första tiden i livet. De maternella antikropparna överförs i viss mån via placantan men utsöndras i desto större mängd i colostrum.

Det är placantans utformning som bestämmer huruvida immunoglobuliner kan passera över från modern till fostret eller ej, och den endotheliochoriala placantan hos hund tillåter alltså viss passage av antikroppar. Mängden immunoglobuliner som valpen får via colostrum kommer att bestämmas av moderns näringsstatus, i vilken ordning valpen föds och vilken spene den får.

Att valpen skyddas av maternella immunoglobuliner den första tiden i livet har både för- och nackdelar. Det ger ett viktigt skydd för valpen men kan samtidigt hämma funktionen av vaccin. Vaccinering ska leda till att ett immunsvaret triggas där antikroppar mot antigen bildas. För att vaccinet ska skapa en immunreaktion hos valpen, krävs dock att antikropparna från modern har sjunkit i antal så att de inte tar hand om vaccinets antigen. Om moderns antikroppar är kvar i högt antal kommer inte valpens immunsvaret att kunna triggas, det innebär att valpen själv inte utvecklar ett immunförsvaret och att vaccineringen är som ogjord. Att vaccinera valpen i rätt tid i förhållande till maternella antikroppstitrar är därför viktigt.

Det är många faktorer som ska stämma in för att valpen ska klara av sin första tid i livet. Även om stor kunskap finns inom området behövs mer forskning eftersom immunförsvarets utveckling är komplex. En ökad förståelse för utvecklingen av immunsystemet skulle kunna ge bättre möjligheter att komma till rätta med de komplikationer som kan uppstå. Då många av de primära immunbristsjukdomarna hos hund har genetiskt ursprung, skulle vidare kartläggning av de genetiska orsakerna tillsammans med fler tillgängliga diagnostiska verktyg/tester underlätta vid diagnosticering och avelsarbete samt för utarbetande av ändamålsenliga och individuellt anpassade vaccinationsrutiner.

SUMMARY

Being able to resist infections and diseases is necessary early in life for all mammals, but how to get this immunocompetence differs. For some species, maternal antibodies are transferred through the placenta, whereas for others the first milk (colostrum) is the main source.

The newborn puppy has a well-developed immune system where primary and secondary lymphoid organs are involved in the development and maturation of immune cells from hematopoietic stem cells. At birth, the innate immune system is ready, and here cells such as macrophages can act, but without memory. A fully developed, acquired, defense system is however missing. It is obtained by antigen contact and thus requires time before it can give the pup protection. Here, however, a memory is created, and T and B cells are examples of immune cells within this defense.

In the absence of an acquired immune system, the puppy needs to get protection from maternal antibodies, immunoglobulins, to survive both congenital and later infections during the first period of life. These are available in a small amount through the placenta but in greater amount via colostrum.

The type of placenta determines whether immunoglobulins can pass from the mother to the fetus or not, and the endotheliochorial placenta in dogs allows certain transfer of antibodies. The amount of immunoglobulins obtained through the colostrum will be determined by the mother's nutritional status, the order in which the puppy is born and which teat the puppy gets. The fact that the puppy is protected by maternal immunoglobulins during the first time in life has both advantages and disadvantages. It provides an important protection for the puppy, but can also inhibit the function of vaccines. Vaccination will trigger an immune response that leads to the formation of antibodies against the antigen. However, for the vaccine to generate an immune response in the puppy, the antibodies from the mother have to decline in number, otherwise they will take care of the vaccine antigen. If maternal antibodies are still in high number, the puppy's immune response cannot be triggered, which means that the puppy itself does not develop an immune defense. To vaccinate the puppy at the right time in relation to maternal antibody titer is therefore important.

There are many factors that have to work, for the puppy to survive the first period in life. Although the knowledge within this field is extensive, more research is needed, as the development of immune functions is complex. A greater understanding of the development of the immune system could provide better opportunities to deal with the complications that can arise. Since many of the primary immunodeficiency diseases in dogs have a genetic origin, further mapping of the genetics together with more available diagnostic tools/tests would help in making diagnoses and designing breeding strategies as well as for the development of appropriate routines for vaccinations.

INLEDNING

Att kunna motstå infektioner och sjukdomar krävs tidigt i livet hos alla däggdjur. Ett grundläggande immunsystem är viktigt, men under den första tiden i livet behövs också hjälp i form av maternella antikroppar. Hos vissa djurslag överförs antikroppar från modern via placentan medan colostrum är den huvudsakliga källan för andra.

Typen av placenta bestämmer om överföring sker och i så fall i vilken mängd. Hos hund utvecklas en endotheliochorial placenta som tillåter en viss överföring medan det är colostrum som står för den största mängden maternella antikroppar (Day, 2007; Tizard, 2012; Dall'Ara *et al.*, 2015).

Närvaron av de maternella antikropparna överlappar med utvecklingen av valpens eget immunförsvar, vilket är en av de vanligaste anledningarna till att vaccinationer inte fungerar (Egenwall *et al.*, 2003).

De maternella antikropparna kan också dölja en eventuell immunbristsjukdom hos valpen, vilket ger en risk för att infektioner utvecklas när detta skydd försvinner (Day, 2011). Ursprunget för dessa sjukdomar är inte klarlagt men de antas ha en genetisk bakgrund.

I denna litteraturstudie kommer jag att gå igenom hur immunsystemet och placentan utvecklas hos hund och även hur colostrum bildas, samt hur vi tar hänsyn till immunoglobuliners ursprung och deras betydelse för effekten av vaccinationer.

MATERIAL OCH METOD

Detta är en litteraturstudie där grunden är artiklar och läroböcker samt vissa hemsidor. Litteratursökningarna har gjorts i databaser som Web of science, Scopus, PubMed och Google Scholar där jag använt mig av olika kombinationer av sökord. För alla områden i uppsatsen har jag kombinerat specifika sökord med ”dog, dogs, canine, puppy, pup, bitch”.

Till immunsystemets utveckling hos valpen har jag använt läroböcker av Hyttel *et al.* (2010) och Tizard (2012) som grund och sedan gjort litteratursökningar med sökord som ”immune system development” eller ”lymphatic development”. Till placentautvecklingen använde jag mig främst av läroboken Dellman & Eurell (1998), men även av Sjaastad *et al.*, (2010), Hyttel *et al.* (2010) och Dyce *et al.* (2010) och för att söka artiklar inom området använde jag sökord som ”placenta, endotheliochorial placenta” och för att få artiklar som täckte immunoglobulinöverföringen lade jag till sökord som ”immune transfer, immunoglobulins, IgG”. Gällande bildandet av colostrum och överföring av immunoglobuliner använde jag mig även här av läroboken Tizard (2012) som grund men fyllde på med fakta från artiklar som jag funnit via sökorden ”colostrum” och ”immune transfer, immunoglobulin transfer”. För information om vaccin och vaccinationsrutiner sökte jag i Fass hemsida, www.fass.se/djur och i SVAs hemsida (www.sva.se). Jag googlade även för att få en översikt över vilka råd som ges till djurägare gällande vaccination av dräktig tik.

LITTERATURÖVERSIKT

Utveckling av immunsystemet hos fostret

Från de tre groddbladen hos embryot, entodermet, mesodermet och ektodermet, utvecklas de inre epitelen så som tarmslemhinnan, det medfödda och förvärvade immunförsvaret och de yttre epitelen så som huden, vilka alla är med i skyddandet av kroppen på olika sätt. Fokus kommer att vara på immunsystemet inuti kroppen.

Immuncellsutvecklingen

Både det medfödda och det förvärvade immunförsvaret utvecklas från hematopoetiska stamceller från mesodermet. Hematopoesen, alltså då blodceller bildas, har olika händelseförlopp där olika organ står för blodbildningen. Den kan sägas bestå av tre överlappande perioder; mesoblastiska perioden, hepato-lienala perioden och medullära perioden. Under den mesoblastiska perioden, som är den första, utvecklas blodceller från stamceller i gulesäcken hos embryot. Därefter tar levern och mjälten över som primära blodbildande organ och det är denna period som kallas hepato-lienala perioden. Den sista, medullära, perioden är då benmärgen tar över funktionen som primärt blodbildande organ.

Tidigare har gulesäcken ansetts stå för en stor del av hematopoesen, men potentialen hos gulesäcken har visat sig vara begränsad och att det istället är aorta-gonad-mesonefros regionen (AGM-regionen) inuti fostret som står för den övergripande delen av hematopoesen. Det är AGM-regionen som förser levern, thymus, mjälten och till sist benmärgen med hematopoetiska stamceller och som därmed ligger till grund för den hepato-lienala- och medullära perioden (Hyttel *et al.*, 2010). Benmärgen, som är det primärt blodbildande organet under den medullära perioden, kommer att vara ”fylld” av hematopoetiska stamceller runt dag 45-52 hos hund enligt Felsburg (2002).

Från hematopoesen fås alltså myeloida och lymfoida cellinjer som kommer att utvecklas till immunceller som är med i immunförsvaret hos valpen. Det medfödda immunförsvaret kommer från myeloida cellinjer som blir till granulocyter respektive monocytter/makrofager, hit tillhör även natural-killer-cells (NK-celler) som istället utvecklas från lymfoida cellinjer. Det förvärvade immunförsvaret utvecklas från lymfoida cellinjer som blir till T- och B-lymfocyter. De skiljer sig åt i det faktum att det medfödda saknar minne men kan agera snabbt medan det förvärvade har minne men behöver vidareutvecklas postnatalt.

Utvecklingen av lymfoid vävnad

Lymfocyter behöver utvecklas och differentieras för att kunna fullfölja sin roll som immunceller i det förvärvade immunförsvaret och för detta behövs lymfatisk vävnad för dem att utvecklas i. Lymfatisk vävnad delas in i primär och sekundär. I den primära lymfoida vävnaden sker utvecklingen och mognaden av lymfocyter via negativ och positiv selektion. Från den primära vävnaden kommer sedan naiva lymfocyter att ta sig till sekundära lymfoida vävnader där reaktioner mot antigen kan ske. Thymus, benmärg och lymfoid vävnad i abdominalregionen (peyerska plack) räknas till primär lymfoid vävnad medan lymfknutor, mjälten, MALT (mukosa associated lymfoid tissue) och SALT (skin associated lymfoid tissue) räknas till sekundär lymfoid vävnad.

Primär lymfoid vävnad

I thymus, som är primär lymfoid vävnad, kommer utvecklingen av T-lymfocyter från hematopoetiska stamceller att ske. Dessa celler kommer antingen själva att kunna avdöda virusinfekterade celler eller via aktivering av fagocyter. Dräktighetstiden för en tik är 60-63 dagar och thymus utvecklas runt dag 30 hos karnivorer enligt Hyttel *et al.* (2010), men här råder delade meningar där Day (2007) anser att thymus börjar utvecklas på dag 27 och är färdigutvecklad på dag 45 medan Tizard (2012) anser att thymus utvecklas mellan dag 23 och 33. Lymfocyter ses i thymus på dag 35 enligt Day (2007). Efter födseln växer thymus och är som störst runt 6 månaders ålder enligt Felsburg (2002) men minskar sedan i storlek från 6 till 23 månaders ålder enligt Day (2007).

Enligt Hyttel *et al.* (2010) är benmärgen den primära lymfoida vävnad som utvecklar B-lymfocyterna via negativ och positiv selektion hos många djurarter. Hos hund anses dock peyerska plack vara den primära lymfoida vävnaden för B-celler (Day, 2011; Tizard, 2012). Peyerska plack består av tätt packade lymfoida folliklar som finns i tunntarmsväggen, framförallt i ileum men även i jejunum. B-lymfocyter utvecklas till plasmaceller som producerar antikroppar, vilket kallas det humoral immunsystemet. Antikropparna kommer att binda till antigen som kan leda till fagocytos, cellys eller neutralisering av virus och toxiner. Trots oenighet om huruvida benmärgen är en primär lymfoid vävnad så anses den sedan fungera som sekundär lymfoid vävnad (Hyttel *et al.*, 2010; Tizard, 2012).

Sekundär lymfoid vävnad

Till skillnad från de primära lymfoida organen utvecklas de sekundära lymfoida organen sent hos fostret. Här kommer antigen att presenteras för lymfocyterna som leder till en immunrespons. Dessa organ har koppling både till blod- och lymfkärnen som möjliggör uppfångandet av antigen från blodet.

Lymfkärlens utveckling sker samtidig som blodkärlens, men något långsammare. Enligt Oliver (2004) har lymfkärnen hos människa sitt ursprung från blodcirkulationen och en indikation på detta är att den lymfatiska vaskulariseringen sker efter att blodcirkulationen har börjat bildas. Här finns dock meningsskiljaktigheter mellan de som tror på den så kallade centrifugalteorin, att lymfkärnen mynnar från blodkärl, och de som tror på centripetalteorin, vilken innebär att de bildas direkt från mesenkymala celler och ursprunget är alltså inte klarlagt (Witte *et al.*, 2001).

Enligt centrifugalteorin anses endotelcellerna hos de lymfatiska kärlen komma från vener som knoppats av. Det bildas först sex primära lymfatiska säckar däribland cisterna chyli och från dessa knoppas sedan celler av som vidare bildar kapillärnätverk som omger organ och vävnader. Medan blodcirkulationen bildar ett kretslopp där artärer och vener går ihop, bildar lymfkärnsystemet istället ett system med öppna ändar. Det lymfatiska systemet består av vävnadskapillärer och samlingsrör som tömmer sig via vena jugularis eller vena cava cranialis till den venösa cirkulationen (Hyttel *et al.*, 2010).

Längs med lymfkärnen finns lymfknutor som filtrerar lymfan som strömmar igenom. Lymfknutorna räknas till de sekundära lymfoida organen. Hur lymfknutorna utvecklas är ännu inte klarlagt men lymfocyter har setts i lymfknutor hos hundfoster på dag 46 enligt Day (2007) och dag 45-52 enligt Felsburg (2002).

Mjälten är också ett sekundärt lymfatiskt organ och precis som lymfknutorna fungerar mjälten som ett filter, men till skillnad från lymfknutorna är det blodet som filtreras och inte lymfan. Här fångas antigen in och visas upp för lymfocyter vilket leder till immunrespons (Hyttel *et al.*, 2010; Tizard, 2012). Lymfocyter ses i mjälten runt dag 50-55 enligt Day (2007).

Även om immunsystemet är fullt utvecklat vid födelsen har det aldrig använts tidigare. Det medfödda försvaret kommer att kunna ge respons på infektion direkt medan det förvärvade immunförsvaret kräver lite tid innan det är fullt funktionellt och kan skydda individen. Det är därför viktigt för valpen att den har skydd från sin moder den första tiden i livet via maternella antikroppar. Antikroppar från modern kan den få via placentan och colostrum.

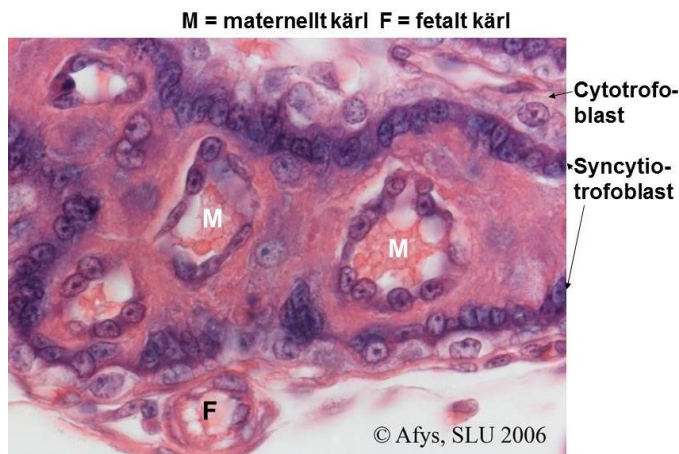
Placentan

Placentan kan ses som ett tillfälligt organ som bildas mellan foster och moder för att näringsämnen och slaggprodukter ska kunna transporteras till och från fostret under dess utveckling i livmodern.

Utvecklingen från ägg via befruktning resulterar i ett utvecklingsstadium kallat blastocyst. Blastocystens yttre lager av celler kallas trofoblaster, vilka bildar de två extrafetala membranen; amnion och chorion. Amnion ligger runt fostret och innesluts i sin tur av chorion, som även innesluter gulesäck och allantois. Gulesäcken har sitt ursprung i den tidiga blastocystens hålrum och när mesodermet delas upp i parietalt och visceralt kan den primitiva tarmen snöras av från blastocystens dorsala del. Allantois bildas som en utbuktning från bakre delen av den primitiva tarmen och dess hålrum fungerar som en reservoar för exkretionsprodukter från fostret. Allantoishinnan består av entoderm mot hålrummet och utanför det finns visceralt mesoderm, i vilket det bildas blodkärl. När allantois växer ut ansluter den till chorion och då bildas allantoichorion. Det är sedan kontakten mellan fostrets allantoichorion och endometriet hos modern som utgör det som ska komma att bli placentan, dvs interhemalbarriären, och utvecklingen av denna börjar runt dag 17 till 18 hos hund (Dellman & Eurell, 1998; Hyttel *et al.*, 2010).

Placentans utformning

Karnivorerna har en endotheliochorial placenta vilket innebär att det finns fyra ”barriärer” mellan moderns och fostrets cirkulation; det maternella endotelet, trofoblast, fostrets mesenkym och fostrets endotel. Livmoderns epitel och underliggande bindväv har alltså degenererats eftersom chorion hamnar i direkt kontakt med moderns kärlendotel. Det sker då trofoblasterna utvecklas till två olika cellpopulationer; basala och ytliga. De basala kallas cytotrofoblaster och de mest ytliga kallas syncytiotrofoblaster (sammansmälta trofoblaster) och det är syncytiotrofoblasterna som invaderar livmoderns epitel och bryter ner det och den underliggande bindväven. Det blir alltså ett minskat avstånd mellan fostrets och moderns cirkulation och därav bara fyra vävnadsskikt mellan dem, se fig. 1.



Figur 1. Placantan hos katt, med vävnadsskikt markerade. Källa Inst f afb, SLU.

För att få en ökad kontaktyta mellan fostret och modern bildas utbuktningar av allantochorion mot endometriet så att det bildas raka veck, så kallade lameller, och man kallar därför hundens placenta för lamelläer. Dessa strukturer kan vara mer eller mindre förgrenade, man talar ibland om en

labyrintlik placenta hos de karnivorerna där kontaktytorna är starkt förgrenade och vridna (Stoffel *et al.*, 2000; Hyttel *et al.*, 2010). Den placental zonen kommer alltså att bestå av tre områden (från fostret räknat); en inre lamelläer zon som består av de chorioallantoiska lamellerna, en "junctional zone" vilket kan ses som ett slags mellanskikt där de terminala delarna av lamellerna tillsammans med maternella blodkärl, celldebris och körtelsekret finns. Till sist finns ett yttre glandulärt skikt som innehåller dilaterade delar av livmoderkörtlarna (Dellman & Eurell, 1998).

Placentans makroskopiska utbredning, alltså där kontaktställena mellan fostret och modern finns, sträcker sig hos hund som ett bälte runt fostret varför man kallar placentan för zonär, se fig. 2.



Figur 2. Placantan hos karnivorerna, i detta fall katt, med den zonära utformningen. Kattungen är omsluten av amnion medan allantois är öppnad. Källa Inst f afb, SLU.

Under karnivorens placenta-utveckling kommer det att uppstå områden där nedbrytning av det maternella endotelet leder till hematombildning. Det är celler från fostret som bryter ner och fagocyterar innehåll från moderns blod (Chucrí *et al.*, 2010). Beroende på djurslag kommer de att ha olika placering – hos hund är de marginella och befinner sig i kanterna av

placantan, s.k. randhematom. Även färgen på hematomen skiljer sig då nedbrytningen av hemoglobinet sker olika, hos hund är det en grön färg. Blodet som ligger kvar i hematomen anses förse fostret med järn (Dellman & Eurell, 1998).

Överföring av näring och immunoglobuliner via placenta

Placentans huvudfunktion är att näring och syre överförs från de maternella kapillärerna till de fetala och de maternella kapillärerna tar sedan hand om fostrets avfall och värme.

Transporten av substanser över placentan kan ske passivt via diffusion eller via aktiv transport. Det är fettlösliga substanser som syre och koldioxid men också steroidhormoner som kan passera de epiteliala barriärerna av placentan via diffusion medan många andra

substanser som aminosyror, glukos, kalcium och vattenlösliga vitaminer måste bli aktivt transporterade, där glukos är den viktigaste källan till energi för fostret. Peptid- och proteinhormoner transporteras bara mellan moder och foster i begränsad mängd.

När det kommer till överföring av immunoglobuliner, är det placentans utformning som avgör i vilken omfattning överföringen kan ske. Överföringen av immunoglobuliner via placenta hos hund är inte helt klarlagd, men Stoffel *et al.* (2000) har visat att fostrets kapillärer innehåller IgG vilket tyder på att IgG är den primära antikroppen att transporteras över placenta. Baserat på äldre studier, anger Stoffel att immunoglobulinerna endast passerar placentan under den sista trimestern hos hund, dock i en begränsad mängd, och att detta sker i den labyrintiska/lamellära zonen visar studien av Stoffel *et al.* (2000).

En generell uppfattning är att det enbart är en viss del antikroppar som valpen får från modern via placentan, medan den största delen måste erhållas via colostrum. Det understöds av flera källor (Day, 2007; Tizard, 2012; Dall'Ara *et al.*, 2015), vilka alla menar att endast 5-10 % av de IgG-antikroppar valpen behöver kommer via placentan. Även om detta kan låta väldigt lite så kan, enligt Egenwall *et al.* (2003), överföringen av immunoglobuliner via placenta vara tillräcklig för att skydda valpen mot valpsjuka under neonatalperioden om tiken haft höga nivåer av IgG innan valpning.

Bildande av colostrum

Valpen har hypogammaglobulinemi vid födseln, den har alltså väldigt låga nivåer av IgG i blodet (Mila *et al.*, 2015). Under de sista veckorna av dräktigheten ansamlas sekretion från mjölkörtelcellerna tillsammans med immunoglobuliner, som genom stimulering av östrogener och progesteroner, transporteras via blodet till juvren hos tiken (Tizard, 2012). Det är alltså hormoner som ligger bakom att lymfocyter, tillsammans med producerade antikroppar, migrerar till mjölkörtlarna. Det är inte klarlagt hur, men man tror att mjölkörtelceller i respons till hormonstimulering producerar och utsöndrar kemokiner och cytokiner som kallar på cirkulerande lymfocyter (Hunziker & Kraehenbuhl, 1998). Det är denna ansamling av substanser som blir till colostrum och denna är alltså rik på IgG (65-90 %), men innehåller även IgA, lite IgM och IgE (Tizard, 2012). Enligt Mila *et al.* (2015) sågs i deras studie att IgG-koncentrationen var i genomsnitt 2,8 (0,89-6,3) gånger högre i colostrum än i serum.

Överföring av immunoglobuliner via colostrum

Antikroppar från modern till ungen ger skydd mot medfödda infektioner och under de första veckorna i livet. Ungarna föds till samma miljö som modern vilket innebär att antikroppsskyddet de får kommer att stämma överens med vad de kommer att behöva (Hunziker & Kraehenbuhl, 1998). Det är viktigt att valpen får i sig colostrum under de första 24 timmarna efter födseln för att få passiv immunitet från modern, därefter minskar permeabiliteten i tarmepitelet hos valpen då tarmepitelcellerna mognar och den intestinala tarmfloran tillkommer som bryter ner colostrums innehåll. Hur själva överföringen av immunoglobuliner via colostrum går till är inte helt klarlagt men överföringen tros ske på grund av låg koncentration av proteolytiska enzymer i tarmen som därmed inte kan bryta ner

immunoglobulinerna och att det i tarmkanalen finns uttryck av en viss receptor kallad Fc(gamma)Rn som är en globulinreceptor som tillåter absorption av IgG (Chappuis, 1998; Day, 2007, 2011). Överföringen sker främst i de duodenala och jejunala områdena där enterocyter uttrycker dessa membranreceptorer på ytan vilka kan binda till Fc-delen av IgG-molekylen och därmed inducera transcytos (Van de Perre, 2003). Immunoglobulinerna kommer sedan att transporteras via den lokala lymfatiska vävnaden och vidare via ductus thoracicus till den systemiska cirkulationen (Chucri *et al.*, 2010).

Den passiva immunitet som fås via colostrum kommer dock att skilja sig, både mellan kullar, men också mellan individer av samma kull (Chappuis, 1998). En studie gjord av Mila *et al.* (2015) visar att skillnaden i colostrums immunkvalitet är stor både mellan tikar och mellan juverdelar hos samma tik, där dessutom många små körteldelar har mynningar på samma spene. Däremot verkar det inte finnas någon viss juverdel, långt fram eller bak, som generellt har högre koncentration av IgG (Mila *et al.*, 2015). Innehållet av immunoglobuliner i colostrum påverkas av flera saker, bland annat tikens nutritionella status och genetisk selektion. Det är även så att koncentrationen av immunoglobuliner i colostrum sjunker med tiden, vilket kan förklaras av att mjölkbildningen är låg till en början och då blir IgG en stor del av mjölken medan mjölmängden med tiden ökar enormt efter förlossningen och på så sätt späder ut den grundläggande koncentrationen av IgG. Koncentrationen av IgG i colostrum har visats minska drastiskt hos djur som getter och grisar, vilket har börjat redan sex timmar efter förlossning. Födelseordning och förlossningstid kan därmed påverka tillgången på immunoglobulinrik colostrum och kan göra att det passiva skyddet varierar mellan individer (Mila *et al.*, 2015). Även en för tidig födsel kan leda till begränsad passiv immunitet via colostrum, då det kan innebära att tiken inte har hunnit bilda colostrum än (Day, 2011).

Det är i förhållande till det passiva skyddet från moderns antikroppar som vaccination av valpen görs. Via placentan får valpen en bråkdel av de antikroppar (5-10%) den behöver och som sedan ökar via colostrum vilket sammantaget ger ett fullgott passivt immunförsvar från modern. Det är när de maternella immunoglobulinerna sjunker till en för låg nivå för att ge valpen ett skydd mot infektion som läget blir kritiskt och det är då man vill vaccinera för att dra igång valpens eget immunförsvar innan den stöter på riktiga infektiösa agens.

Vaccination

Antikroppsskyddet från modern via placenta och colostrum anses vara livsviktigt för valpen men det hämmar i sin tur utvecklingen av valpens eget immunförsvar. Detta gör att det finns en stor problematik kring när man ska vaccinera i förhållande till när de maternella antikropparna klingar av. Det skapas ett glapp i immuniteten när nivån på moderns antikroppar börjar sjunka hos valpen innan denne kan ta hand om en infektion själv, samtidigt som antikropparna är i tillräckliga nivåer för att hämma den stimulerande effekten av en vaccination (Chappuis, 1998; Day, 2011). Tidpunkten för när de maternella antikropparna har sjunkit till en icke-detekterbar nivå och då valpens eget immunsystem är redo att börja agera kan skilja sig stort mellan individer, varför vaccinationsprogram är utformade med flera vaccinationstillfällen (Day, 2011). Enligt Day, (2011) ges vaccination vid 8, 12 och 16

veckors ålder eftersom runt en procent av valparna anses ha maternellt skydd även vid 12 veckor, vilket dock inte stämmer överens med det vaccinationsschema vi har idag i Sverige.

Dagens vaccinationsprogram för den unga hunden ser ut som följer (levande vaccin, som är det vanligaste):

- En vaccination vid 7-8 veckors ålder
- En vaccination vid ca 12 veckors ålder
- En vaccination vid ca ett års ålder

Den första vaccinationen som utförs vid vecka 7-8 görs för att ge immunitet till de valpar som redan har fått sjunkande nivåer av de maternella antikropparna och som därmed befinner sig i riskzonen vid en eventuell infektion. Den andra vaccinationen som görs vid 12 veckors ålder är viktig för de valpar som vid 7-8 veckors ålder fortfarande hade maternella antikroppar kvar som hämmade vaccinets verkan, men som nu har fått sjunkande nivåer och behöver vaccinering för att få ett långvarigt immunologiskt skydd (Chappuis, 1998; Windahl & Ingman, 2009). Vaccinationen vid ett års ålder är en boostervaccination.

Hur länge de maternella antikropparna stannar kvar hos valpen beror på vilken typ av antikropp det handlar om och vilken mängd valpen fått i sig, men även hur halveringstiden ser ut för dem (Tizard, 2012). Halveringstiden för maternella IgG ligger runt åtta dagar hos valpar och vanligen har de maternella antikropps-nivåerna sjunkit till tillräckligt låga nivåer vid 6-12 veckors ålder. Det kan dock variera beroende på koncentrationen immunoglobuliner valpen fått från colostrum och vaccinering görs därmed i flera doser för att säkert ge valpen ett skydd, då man inte kan veta exakt när alla valpar kommer att kunna svara på vaccinet (Day, 2007).

Förhoppningen är att vaccineringen sker när moderns antikroppar klingar av hos valpen och då valpen är mottaglig för en infektion (Chappuis, 1998). Tyvärr är de maternella antikropparna hos valpen den vanligaste orsaken till att vaccinationen inte får den effekt som var tänkt (Egenwall *et al.* 2003).

Grundvaccination för hund i Sverige gäller valpsjuka, parvovirus och smittsam leverinflammation (HCC, hepatit). Det är en så kallad trippelvaccination som ges i samma spruta (SKK, 2016). För att även ge skydd mot kennelhosta så kan man ge en spruta med alla fyra vaccinen i, detta gäller för alla de tre grundvaccinationerna, alltså upp till ett års ålder.

För de vaccin som finns på den svenska marknaden enligt Fass.se (Nobivac DHP som trippelvaccin samt Nobivac DHPPI och Eurican DHPPI2 som trippelvaccin tillsammans med vaccin mot kennelhosta) anges att de kan ges till dräktiga djur och att det inte finns några kontraindikationer. Alltså kan även dräktig tik utan tidigare vaccinering, vaccineras under dräktighet och att antikropparna mot vaccinet kommer att övergå i colostrum vilket ger skydd till valpen (Evidensia, 2016).

Eftersom valpens immunförsvar skiljer sig från den vuxna hundens är det värt att tänka på att vi utsätter det ej fullbordade immunförsvaret för en belastning när vi vaccinerar den unga

valpen. Däremot är vaccination livsviktig i syfte att ge den individuella valpen ett immunologiskt skydd men också för att skydda hela populationen från sjukdomar (Day, 2007).

Immunbristsjukdom

I dagsläget är ett flertal primära immunbristsjukdomar hos djur kända, de är dock ganska ovanliga och de anses ha genetiskt ursprung. För vissa av dessa har man funnit den genetiska bakgrunden, så som 'Severe combined immunodeficiency' (SCID) bland vissa hundraser, men för många saknas kunskap om etiologin. Det finns omkring 30 immunbristsjukdomar hos hund där bara tre av dem är helt definierade. Vanligen upptäcks de primära immunbristsjukdomarna när de maternella antikropps nivåerna sjunker och ungen inte är kapabel att utveckla ett fungerande immunförsvar (Day, 2011).

DISKUSSION

Den övergripande utvecklingen av valpens immunsystem och överföringen av antikroppar från modern är klarlagd men fortfarande verkar kunskap saknas och oklarheter finnas inom vissa områden, till exempel verkar det vara stora individuella skillnader när det gäller enskilda valpars erhållande av immunoglobuliner från colostrum vilket får konsekvenser för effekten vid vaccination.

Valpens immunsystem

Fortfarande saknas fakta bland annat om lymfkärlens utveckling hos både människa och hund, där en ökad kunskap skulle vara en fördel för att få en större förståelse för hur patologiska tillstånd så som lymfödem och lymfangiektasi kan uppkomma (Oliver, 2004). Det råder också delade meningar gällande vilka dagar som de lymfoida organen utvecklas på vilket kanske skulle kunna förklaras genom att det hos hund är svårt att veta när dräktighet inträffar, detta för att parning oftast sker innan ovulation och att spermier inväntar ägget, ibland flera dagar (Hyttel *et al.*, 2010; Concannon, 2011).

Gällande de primära immunbristsjukdomarna saknas genetisk kartläggning för många av dem och problematiken kring diagnosticeringen av denna typ av sjukdomar är avsaknaden av diagnostiska test. De tester som finns är ofta tyvärr inte allmänt tillgängliga enligt Day (2011).

Placentans roll gällandes den passiva immuniteten hos valpen

Vi vet att maternella antikroppar överförs från moder till foster via placentan (Stoffel *et al.*, 2000), däremot saknas kunskap om mekanismerna bakom denna överföring hos hund. En ökad kunskap om hur immunoglobulinerna passerar placentan samt vilken mängd som överförs borde, inte bara för saken i sig, även vara viktig för vidare kunskap om behovet av colostrum och vaccinationsrutiner i förhållande till detta, t.ex. om det har betydelse när under dräktigheten som en tik vaccineras. Det är alltså ett till område som skulle behöva utforskas mer. Enligt Borghesi *et al.* (2014) så är immunoglobuliner hydrofila molekyler som är ganska stora och som därmed inte kan passera placentan via diffusion utan måste passera via aktiv transport via en specifik receptor. Hos människa och andra arter med hemochorial placenta

sker överföring genom så kallade FcRn (neonatal Fc-receptor) som kan binda till Fc-delen på IgG-molekylen. Kanske finns dessa receptorer även hos hund i placentan?

Det är ju bara 5-10% av immunoglobulinerna som valpen får som erhålls via placentan hos hund vilket kan låta nästintill obefintligt, men enligt Egenwall *et al.* (2003) så kan detta vara tillräcklig för att skydda valpen mot valpsjuka under neonatalperioden om tiken haft höga nivåer av IgG innan valpning. Det skulle därmed vara intressant att se studier på hur stor betydelse immunoglobulinerna medierade via placenta har. Enligt en review av Simister (2003) så har det mesta av IgG hos humana foster maternellt ursprung, vilket innebär att man via mätningar kan ana när överföringen från modern börjar och när den är som störst, efter hur mycket IgG fostret har i sitt blod. Det har visat sig att nivåerna av IgG hos fostret är låga fram till sista delen av andra trimestern och de fortsätter sedan att öka under sista trimestern. Kanske skulle vidare forskning på hund kunna leda till möjligheten att mäta immunoglobulinnivåerna, vid födseln, och därifrån se vilket behov av colostrum valpen har? Det vore även intressant med mer kunskap om betydelsen av tikens närings- och hälsotillstånd i förhållande till överföring av passiv immunitet via placentan.

Passiv immunitet via colostrum

Gällandes den passiva immuniteten via colostrum kommer den att skilja sig mellan individer av samma kull och även mellan kullar (Chappuis, 1998). Det har sin bakgrund i att colostrums innehåll av immunoglobuliner skiljer sig åt i olika juverdelar (Mila *et al.*, 2015). Även födelseordning och förlossningstid kan påverka tillgången på immunoglobulinrik colostrum och kan göra att det passiva skyddet varierar mellan individer. Enligt Mila *et al.* (2015) finns idag ingen vetskap om huruvida valparna ”väljer spene”, vilket skulle vara en intressant aspekt, om de därmed enbart får colostrum från samma spene och om detta i sådana fall också skapar skillnader i intag av immunoglobuliner? Enligt Egenwall *et al.* (2003) innehåller colostrum och mjölk även makrofager och lymfocyter men betydelsen av dessa är inte klarlagd. Önskvärt skulle vara om flera parametrar i colostrum och mjölken blev utvärderade. Enligt Mila *et al.* (2015) används refraktometer för löpande kvalitetskontroll vid infrysning av colostrum från kor. Kanske skulle något liknande kunna utformas till hund? Skulle man då kunna utvärdera varje spenes immunoglobulininnehåll och sedan försöka få alla valpar att dia från de med mest innehåll, eller mjölka ur dessa för att ge till de senast födda valparna?

Vaccinationsrutiner

Vaccinationsrutinerna vi har är anpassade för att alla valpar har maternellt antikroppsskydd och utvecklar ett eget immunologiskt försvar vid ungefär samma tidsperiod efter födseln och i de flesta fall kommer valparna att ha tillräckligt låga maternella immunoglobulinnivåer för att vaccineringen ska ge resultat, antingen vid 7-8 veckors ålder eller runt 12 veckors ålder. Men som Day (2007) menar så kan man inte förutsäga när alla valpar är mottagliga för vaccin eftersom det beror på koncentrationen av antikroppar valparna har fått i sig. Det anses att problemet är löst genom att vi vaccinerar vid både 7-8 veckors ålder men också vid 12 veckors ålder, och sedan även vid ett år, men kan ett skydd för varje individ verkligen garanteras? För de valpar som fortfarande har hög maternell antikropptiter vid 12 veckors ålder kommer vaccineringen inte att ge något skydd och det dröjer till ett års ålder innan en ny vaccination

ges. Enligt Day (2011) är det runt en procent av valparna som vid 16 veckors ålder fortfarande har maternellt skydd, det skulle därmed vara intressant att se studier av hur många valpar som vid 12 veckors ålder har det. Eftersom vi i Sverige inte vaccinerar vid 16 veckors ålder borde de maternellt skyddade valparna vid 12 veckors ålder vara fler. Enligt Egenwall *et al.* (2003) är de maternella antikropparna hos valpen den vanligaste orsaken till att vaccinationen inte får den effekt som var tänkt. Skulle det finnas något alternativ till denna vaccinationsplan?

Det är många faktorer som ska stämma in för att valpen ska klara av sin första tid i livet. Även om stor kunskap finns inom området behövs mer forskning eftersom immunförsvarets utveckling är komplex. En ökad förståelse för utvecklingen av immunsystemet skulle kunna ge bättre möjligheter att komma till rätta med de komplikationer som kan uppstå. Då många av de primära immunbristsjukdomarna hos hund har genetiskt ursprung, skulle vidare kartläggning av de genetiska orsakerna tillsammans med fler tillgängliga diagnostiska verktyg/tester underlätta vid diagnosticering och avelsarbete samt för utarbetande av ändamålsenliga och individuellt anpassade vaccinationsrutiner.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Borghesi, J., Mario, L. C., Nogueira, M. R., Favaron, P. O. & Miglino, M. A. (2014). Immunoglobulin transport during gestation in domestic animals and humans - a review. *Open Journal of Animal Sciences*, 4(5), pp 323–336.
- Chappuis, G. (1998). Neonatal immunity and immunisation in early age: lessons from veterinary medicine. *Vaccine*, 16(14–15), pp 1468–1472 (Immunity in Early Life).
- Chucuri, T. M., Monteiro, J. M., Lima, A. R., Salvadori, M. L. B., Junior, J. R. K. & Miglino, M. A. (2010). A review of immune transfer by the placenta. *Journal of Reproductive Immunology*, 87(1–2), pp 14–20.
- Concannon, P. W. (2011). Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal Reproduction Science*, 124(3–4), pp 200–210 (Special Issue: Reproductive Cycles of Animals).
- Dall'Ara, P., Meloni, T., Rota, A., Servida, F., Filipe, J. & Veronesi, M. C. (2015). Immunoglobulins G and lysozyme concentrations in canine fetal fluids at term of pregnancy. *Theriogenology*, 83(4), pp 766–771.
- Day, M. J. (2007). Immune system development in the dog and cat. *Journal of Comparative Pathology*, 137, Supplement 1, pp S10–S15 (Proceedings from The Merial European Vaccinology Symposium (MEVS) Athens, Greece, 2–4 November 2006.).
- Day, M. J. (2011). *Veterinary immunology : principles and practice*. London: Manson Pub/The Veterinary Press. ISBN 978-1-84076-143-6.
- Dellman, H. Dieter & Eurell, J. (1998). *Textbook of veterinary histology*. 5. ed. Baltimore: Williams & Wilkins. ISBN 0-683-30168-3.
- Dyce, Keith M., Sack, W. O. & Wensing, C. J.G (2010). *Textbook of veterinary anatomy*. 4. ed. StLouis, MO: Saunders Elsevier. ISBN 978-1-4160-6607-1.
- Evidensia. *Vaccination hund*. <http://www.evidensia.se/djurkliniken-farsta/vara-tjanster/vaccination-hund> [2016-03-15].
- Egenwall, A., Hedhammar, Å., Krönlein, M., Möller, L., Grönvik, K-O., Klingeborn, B., Ström Holst, B. (2003). Vaccination av hund och katt i Sverige. SVS-SVA vaccinrapport 22 juli 2003. (SVAs hemsida – Sveriges veterinärmedicinska sällskap i samarbete med SVA) [2016-02-25].
- Felsburg, P. J. (2002). Overview of immune system development in the dog: comparison with humans. *Human & Experimental Toxicology*, 21(9-10), pp 487–492.
- Hunziker, W. & Kraehenbuhl, J.-P. (1998). Epithelial transcytosis of immunoglobulins. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 3(3), pp 287–302.
- Hyttel, P., Sinowatz, F., Vejlsted, M. & Betteridge, K. (2010). *Essentials of domestic animal embryology*. Edinburgh ; New York: Saunders Elsevier. ISBN 978-0-7020-2899-1.
- Mila, H., Feugier, A., Grellet, A., Anne, J., Gonnier, M., Martin, M., Rossig, L. & Chastant-Maillard, S. (2015). Immunoglobulin G concentration in canine colostrum: Evaluation and variability. *Journal of Reproductive Immunology*, 112, pp 24–28.
- Oliver, G. (2004). Lymphatic vasculature development. *Nature Reviews Immunology*, 4(1), pp 35–45.
- Simister, N. E. (2003). Placental transport of immunoglobulin G. *Vaccine*, 21(24), pp 3365–3369 (Protection of Newborns through Maternal Immunization).
- Sjaastad, Øystein V., Hove, K. & Sand, O. (2010). *Physiology of domestic animals*. 2. ed. Oslo: Scandinavian Veterinary Press. ISBN 978-82-91743-07-3.

- Stoffel, M. H., Friess, A. E. & Hartmann, S. H. (2000). Ultrastructural evidence of transplacental transport of immunoglobulin G in bitches. *Journal of Reproduction and Fertility*, 118(2), pp 315–326.
- Svenska kennelklubben. *Vaccination & avmaskning*. <http://www.skk.se/hundagande/tips-och-rad/skotsel/vaccination/> [2016-02-24].
- Tizard, I. R. (2012). *Veterinary immunology : an introduction*. 9. ed. StLouis, Mo: Saunders Elsevier. ISBN 978-1-4557-0362-3.
- Van de Perre, P. (2003). Transfer of antibody via mother's milk. *Vaccine*, 21(24), pp 3374–3376 (Protection of Newborns through Maternal Immunization).
- Witte, M. H., Bernas, M. J., Martin, C. P. & Witte, C. L. (2001). Lymphangiogenesis and lymphangiodysplasia: from molecular to clinical lymphology. *Microscopy Research and Technique*, 55(2), pp 122–145.
- Windahl, U. & Ingman, J. (2009) Grundvaccination av hund och katt. Konferenstryck: Veterinärkongressen 2009, pp 51-54