Univerza *v Ljubljani*
Veterinarska fakulteta

VREDNOTENJE UČINKA SPECIFIČNE IMUNOTERAPIJE PRI PSIH Z ATOPIČNIM DERMATITISOM S POMOČJO EVALVACIJSKEGA TESTA CADESI-03

EVALUATION OF THE EFFECT OF ALLERGEN-SPECIFIC IMMUNOTHERAPY IN ATOPIC DOGS USING THE CADESI-03 SCORING SYSTEM

Martin Kovše

Ljubljana, 2009

Univerza *v Ljubljani*
Veterinarska fakulteta

UDK 636.7.09:616.5-002:57.083.32:615.015.4(043.2)

VREDNOTENJE UČINKA SPECIFIČNE IMUNOTERAPIJE PRI PSIH Z ATOPIČNIM DERMATITISOM S POMOČJO EVALVACIJSKEGA TESTA CADESI-03

EVALUATION OF THE EFFECT OF ALLERGEN-SPECIFIC IMMUNOTHERAPY IN ATOPIC DOGS USING THE CADESI-03 SCORING SYSTEM

Martin Kovše

Delo je pripravljeno v skladu s Pravilnikom o podeljevanju Prešernovih nagrad študentom, pod mentorstvom doc. dr. Tine Kotnik na Kliniki za kirurgijo in male živali. Statistična obdelava rezultatov je bila opravljena na Kliniki za reprodukcijo in konje.

Ljubljana, 2009

POVZETEK

Ključne besede: Psi, bolezni; atopija; dermatitis, atopični – zdravljenje z zdravili; imunoterapija – učinki zdravil; zdravilo, ocenjevanje; CADESI-03; psi

Atopični dermatitis je pogosto alergijsko kožno obolenje psov z visoko pojavnostjo v Evropi in ostalih industrializiranih državah. Zdravimo ga lahko simptomatsko ali kavzalno. Specifična imunoterapija je metoda vzročnega (kavzalnega) zdravljenja te bolezni, podatki o njeni dejanski učinkovitosti pa so precej različni. Večina avtorjev sicer navaja, da je imunoterapija pri zdravljenju atopičnega dermatitisa psov bolj ali manj učinkovita v ≈70% primerov, medtem ko v 30% primerov nima učinka. Doslej so študije o učinkovitosti specifične imunoterapije temeljile predvsem na subjektivni oceni stanja psov s strani njihovih lastnikov, oceni jakosti srbeža in splošni oceni veterinarjev o izboljšanju kliničnega stanja pacientov. CADESI-03 (Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index) je najnovejša, tretja različica točkovnega sistema za vrednotenje atopičnega dermatitisa pri psih, ki ga je razvila Mednarodna delovna skupina za atopični dermatitis psov (International Task Force on Canine Atopic Dermatitis, ITFCAD). Trenutno velja za edini strokovno priporočen, objektiven in ustrezno validiran evalvacijski sistem za določanje stopnje in obsega bolezni ter za vrednotenje uspeha določene metode zdravljenja atopičnega dermatitisa pri psih. Učinkovitost specifične imunoterapije pri psih z atopičnim dermatitisom do danes s pomočjo evalvacijskega sistema CADESI-03 še ni bila vrednotena.

Namen naše raziskave je bil primerjati učinek osemmesečne specifične imunoterapije z učinkom dvomesečnega simptomatskega zdravljenja z metilprednizolonom. Ob tem smo na podlagi splošnega počutja, kožnih sprememb in sprememb osnovnih biokemijskih krvnih parametrov (sečnina, kreatinin, AP, ALT) spremljali in vrednotili tudi neželene stranske učinke obeh načinov zdravljenja. V raziskavo je bilo vključenih 11 psov, starejših od 6 mesecev, različnih pasem in spola, ki so jih lastniki zaradi kožnih težav pripeljali v dermatološko ambulanto Klinike za kirurgijo in male živali (KKMŽ) Veterinarske fakultete v Ljubljani in pri katerih je bila na podlagi veljavnih kriterijev postavljena diagnoza atopičnega dermatitisa. Laboratorij Alergovet S.L. (Madrid, Španija) je opravil serološke alergijske teste z metodo ELISA, na podlagi katerih je bilo za vsakega psa v laboratoriju Stallergenes S.A. (Antony Cedex, Francija) izdelano cepivo Allervet™-Ca. Psi so bili po vključitvi v raziskavo 2 meseca zdravljeni z metilprednizolonom v odmerku 0,5 mg/kg PO, pri čemer so zdravilo

prvih pet dni po vključitvi dobivali vsak dan, nato pa vsak drugi dan. Po dveh mesecih je sledilo enomesečno obdobje čiščenja (t.i.»washout« perioda), potrebno za eliminacijo vplivov metilprednizolona. Po tem obdobju smo pri psih pričeli izvajati alergensko-specifično, konvencionalno imunoterapijo s subkutanim apliciranjem alergenov po priporočeni shemi proizvajalca cepiva. Ob rednih mesečnih kontrolnih pregledih smo bolezen vrednotili z uporabo evalvacijskega sistema CADESI-03.

Osemmesečna imunoterapija se je izkazala za učinkovito v 7 od 11 primerov (63,6%), medtem ko je bila pri ostalih psih (36,4%) slabo učinkovita oz. sploh ni imela učinka. Statistično značilen učinek specifične imunoterapije je bil opazen po 6 mesecih zdravljenja (parni t-test; P=0,032), zato smo to obdobje določili za najkrajše obdobje, po katerem naj bi ocenjevali učinek imunoterapije. Specifična imunoterapija je imela že po treh mesecih primerljiv učinek kot dvomesečna terapija z metilprednizolonom, saj po tem času med skupinama ni bilo več statistično značilne razlike glede na zmanjšanje vrednosti CADESI-03 (parni t-test; P=0,492). Tako z enim kot drugim načinom zdravljenja smo pri 4 od 11 psov (36,4%) dosegli ≥50% zmanjšanje CADESI-03 (in s tem jakosti simptomov), kar velja za uveljavljen kriterij ocenjevanja uspešnosti terapije. Pri nobenem od načinov zdravljenja nismo ugotovili bistvenih odstopanj preiskovanih biokemijskih parametrov krvi od referenčnih vrednosti. Rezultati naše raziskave kažejo na to, da je učinek osemmesečne specifične imunoterapije pri atopičnih psih primerljiv z učinkom dvomesečnega simptomatskega zdravljenja z metilprednizolonom. Ugotovljena varnost dolgotrajnega zdravljenja z imunoterapijo pa še dodatno govori v prid pogostejši uporabi tega načina zdravljenja atopičnega dermatitisa psov.

SUMMARY

Keywords: Dog diseases; atopy; dermatitis, atopic – drug therapy; immunotherapy – drug effects; drug evaluation; CADESI-03; dogs

Atopic dermatitis (AD) is a common allergic skin disease of dogs with high incidence in Europe and other industrialised countries. It can be treated either symptomatically or causally. Allergen-specific immunotherapy (ASIT) is a method of specific (causal) treatment of the disease, but its effectiveness seems quite controversial. The majority of multiple open studies and a large body of clinical observations suggest that ASIT is effective in controlling the clinical signs of dogs with AD in approx. 70% of patients, whereas its ineffectiveness has been documented in approx. 30% of patients with AD. Up to now, numerous studies evaluating the efficacy of ASIT in dogs with AD have been based either upon a subjective dog owner's perception of health improvement, measurement of pruritus scores or upon a global measure of veterinarian's perception of patient's improvement at the end of the study. A third version of the Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI-03) is the latest scale for scoring skin lesions in dogs with AD designed by a committee of the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis (ITFCAD). It is currently recommended as the only properly validated and objective assessment tool for the use in clinical trials involving dogs with AD. Until now, CADESI-03 has not been used in a clinical trial evaluating the effectiveness of ASIT.

The purpose of this research was to compare the results of an 8-month treatment with ASIT with a 2-month symptomatic treatment with methylprednisolone in dogs with AD. The adverse effects of both treatments, based upon general clinical observations, skin lesions and measurements of biochemical blood parameters, were also evaluated. 11 dogs, older than 6 months, of various breeds and either sex were enrolled in the study. All dogs had been brought to the Clinic for Small Animal Medicine and Surgery of the Veterinary faculty of Ljubljana due to skin problems and were diagnosed with atopic dermatitis considering the valid diagnostic criteria. Serologic allergy tests (ELISA) were performed by the Alergovet S.L. laboratory (Madrid, Spain) and Allervet™-Ca immunotherapeutic vaccines were manufactured by the Stallergenes S.A. laboratory (Antony Cedex, France). Each dog was initially treated with methylprednisolone (0.5 mg/kg PO SID for 5 days, followed by the same dose QOD) over a period of 2 months. A washout period of 1 month was essential to achieve

complete elimination of the methylprednisolone influence. A conventional ASIT with subcutaneous allergen injections was then initiated and continued for the next 8 months according to recommended therapy schedule provided by the manufacturer of Allervet™-Ca. CADESI-03 scores were evaluated at regular monthly control visits.

8-month ASIT proved to be effective in 7/11 atopic dogs (63.6%), whereas it was either ineffective or poorly effective in 4/11 dogs (36.4%). Statistically significant effect of ASIT was recorded after 6 months of therapy (paired t-test; P=0.032). Thus, at least a period of 6 months has been recommended before assessing treatment efficacy of ASIT. The effect of ASIT was comparable to that of 2-month methylprednisolone therapy after 3 months of therapy, as there was no significant difference between improvements in total CADESI-03 scores caused by both therapies at that time (paired t-test; P=0.492). In both groups, a reduction of ≥50% from baseline of the total CADESI-03 score (which had been accepted as a clinically relevant outcome measure of treatment efficacy) was recorded in 4/11 dogs (36.4%). No remarkable changes in blood biochemical parameters were seen in either group. Results of our study suggest that the effect of 8-month ASIT in dogs with AD is comparable to that of 2-month therapy with methylprednisolone. The obvious safety of long-term ASIT additionally supports the more frequent use of this specific therapy in the future treatment of canine AD.

RAZLAGA KRATIC

ALT	alanin aminotransferaza
AP	alkalna fosfazata
CADESI	Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index
CADESI-02	druga različica točkovnega sistema CADESI
CADESI-03	tretja različica točkovnega sistema CADESI
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1
ID	intradermalno
IE	internacionalne enote
IFN-γ	interferon gama
IgE	imunoglobulini E
IgG	imunoglobulini G
IgG1	podrazred 1 imunoglobulinov G
IgG4	podrazred 4 imunoglobulinov G
IL-3	interlevkin 3
IL-4	interlevkin 4
IL-5	interlevkin 5
IL-6	interlevkin 6
IL-10	interlevkin 10
ITFCAD	International Task Force on Canine Atopic Dermatitis
KKMŽ	Klinika za kirurgijo in male živali Veterinarske fakultete v Ljubljani
OIF	Oil Immersion Field
PNU	Protein Nitrogen Units
PO	peroralno
PVAS	Pruritus Visual Analog Scale
RAST	Radioallergosorbent Test
Th1	subpopulacija 1 T-celic pomagalk
Th2	subpopulacija 2 T-celic pomagalk
VARL	Veterinary Allergy Reference Laboratory

KAZALO

1 UVOD 1
1.1 Pomen alergij v sodobnem svetu 1
1.2 Alergijske bolezni psov 1
1.3 Atopija in atopični dermatitis pri psih 2
1.4 Zgodovina atopije 3
1.5 Pasemska predispozicija 3
1.6 Klinični znaki 4
1.7 Diagnostika 5
1.8 Intradermalni in serološki alergijski testi 7
1.9 Alergeni 10
1.10 Zdravljenje 10
1.10.1 Specifično zdravljenje atopičnega dermatitisa 11
1.10.1.1 Izogibanje alergenom 11
1.10.1.2 Specifična imunoterapija 12
1.10.2 Nespecifično (simptomatsko) zdravljenje atopičnega dermatitisa 17
1.10.2.1 Glukokortikoidi 17
1.10.2.2 Ciklosporin 19
1.10.2.3 Antihistaminiki 20
1.10.2.4 Esencialne maščobne kisline 21
1.10.2.5 Lokalno zdravljenje 22
1.10.2.6 Druge oblike zdravljenja 22
1.11 Vrednotenje uspešnosti zdravljenja atopičnega dermatitisa pri psih 23
1.11.1 Ocena intenzivnosti srbeža 23
1.11.2 Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI) 23
2 NAMEN IN HIPOTEZA 27
3 MATERIALI IN METODE 29
3.1 Živali 29
3.2 Vključitveni in izključitveni kriteriji 29
3.3 Organizacijsko-kronološka shema raziskave in uporabljena zdravila 31
3.4 Statistična obdelava rezultatov 32
4 REZULTATI 36
5 RAZPRAVA 51
6 ZAKLJUČKI 68
7 ZAHVALA 71
8 LITERATURA 72

1 UVOD

1.1 Pomen alergij v sodobnem svetu

Alergije se omenjajo kot bolezni današnjega časa in sodobnega sveta, katerega na svojevrsten način tudi simbolizirajo. Navsezadnje gre pri vsaki alergiji za anomalijo v adaptaciji (1) – nastane zaradi napake imunskega sistema, ki se je v evoluciji razvil zato, da nas brani pred negativnimi vplivi iz okolja. Alergije so odraz nezmožnosti prilagoditve živega bitja na njegovo okolje, pri čemer so različni faktorji neposrednega okolja tisti, ki ovirajo normalno bivanje človeka ali živali v danem življenjskem sistemu in ki jih organizem napačno prepoznava kot tuje ter nanje odreagira s pretirano imunsko reakcijo, škodljivo za njegovo zdravje. Iz tega splošnega patofiziološkega principa alergijskih obolenj izhaja tudi bolj simboličen način interpretacije alergij, ki je v svojem bistvu lahko alegorična interpretacija vsake bolezni: določen segment okolja je tisti tujek, ki živo bitje ovira pri procesu normalne adaptacije na okolje, v katerem biva. Glede na vse večjo pojavnost alergij, predvsem v industrializiranih visoko razvitih državah (2,3), je moč sklepati, da postaja naše okolje uganka, ki je vse težje rešljiva, z razmerami, ki se jim vse težje prilagajamo, in dilemami, ki od nas terjajo vedno nove in celovitejše rešitve – tako za zdravje nas samih kot za zdravje naših hišnih ljubljencev (4).

1.2 Alergijske bolezni psov

V veterinarski medicini predstavljajo alergijska obolenja psov edinstven izziv pri sprejemanju odločitev glede diagnostike in učinkovite terapije (5,6). V razvitih državah za različnimi oblikami alergij oboleva vsak deseti pes, v veterinarski dermatologiji pa predstavljajo alergijska obolenja kože skoraj četrtino vseh kliničnih primerov (7). Najpogosteje se pojavljajo alergija na pike bolh, atopija oziroma atopični dermatitis in alergija na hrano, nato pa še kontaktni alergijski dermatitis, urtikarija, alergije na insekte in druge, manj pogoste vrste alergij (8). Veterinarska alergologija je v zadnjih 25 letih doživela izjemen napredek, od prvih, najenostavnejših kožnih testov za diagnostiko atopičnega dermatitisa pri psih v 70. letih prejšnjega stoletja do sodobnih diagnostičnih metod (9).

1.3 Atopija in atopični dermatitis pri psih

Atopija je definirana kot genetsko pogojena sposobnost organizma, da razvije protitelesa tipa IgE na alergene iz okolja, kar se pokaže v kombinaciji takojšnjih in zapoznelih alergijskih kliničnih znakov (8,9). Najpogostejša klinična znaka atopije pri psih sta vnetje in srbež kože in odtod izvira definicija *atopičnega dermatitisa* kot dedne, kronične, multifaktorielne alergijske, vnetne in srbeče kožne bolezni, pri kateri je pacient preobčutljiv na antigene iz okolja, ki sicer pri zdravi živali ne povzročijo alergijske reakcije. Pri atopiji gre za razvoj preobčutljivostne reakcije tipa I (8). Perkutana absorpcija, inhalacija in tudi zaužitje različnih alergenov spodbudi pri genetsko predisponiranih psih nastajanje alergensko-specifičnih protiteles IgE in IgG (8,10). Patogeneza atopičnega dermatitisa v prvi fazi zajema senzibilizacijo, v drugi pa pojav kliničnih znakov kot posledico reakcije med alergenom in alergen-specifičnim IgE ali IgG na površini mastocitov. V fazi senzibilizacije se alergeni absorbirajo v kožo, kjer se vežejo na specifične, visoko specializirane Langerhansove dendritične celice v spodnjem sloju epidermisa. Te celice nato potujejo do regionalnih bezgavk, kjer posredujejo informacijo o antigenskem proteinu T-celicam pomagalkam. Ob tem pride tudi do stimulacije in proliferacije ostalih limfocitov T, ki nato reagirajo z limfociti B in tako spodbujajo produkcijo alergensko-specifičnih protiteles. Ob vsaki naslednji izpostavitvi senzibiliziranega osebka istemu alergenu pride zaradi predstavitve alergena spominskim T-celicam do sproščanja citokinov (v največji meri IL-4), ki stimulirajo nadaljnjo produkcijo alergensko-specifičnih protiteles IgE. Protitelesa se vežejo na mastocite v koži, ti ob vezavi alergena na specifičen IgE degranulirajo in posledično pride do sproščanja mediatorjev vnetja, aktivacije vnetnih celic in burnega kliničnega odziva (11).

Ker antigen v organizem pogosto vstopi z vdihavanjem, se za atopični dermatitis uporablja tudi sinonim *inhalacijski alergijski dermatitis*, ki pa zaradi drugih možnih vstopov antigena (preko kože ali prebavnega trakta) ni najbolj primeren (8,12). Atopični dermatitis se pogosto omenja kot drugo najpogostejše alergijsko obolenje psov, za alergijo na bolšji pik (8,13,14), vendar nekatere novejše študije dokazujejo nasprotno in atopični dermatitis omenjajo kot 2-3-krat pogostejše obolenje od alergije na bolšji pik in kot najpogostejši vzrok srbeža pri psih (15,16,17). Atopični dermatitis se pojavlja pri približno 10% pasje populacije (8), dejanska pojavnost bolezni pa je verjetno še večja in ima tendenco naraščanja, vendar jo je težko določiti, saj se veliko lastnikov psov zaradi blažjih ali kratkotrajnih simptomov ne odloči za

obisk veterinarja oziroma se za to odločijo na podlagi bolezenskih težav, kot je npr. vnetje zunanjega sluhovoda, ki pa jih tudi strokovnjaki pogosto ne povežejo s primarno alergijsko boleznijo (18).

1.4 Zgodovina atopije

Atopija je v humani medicini znana že več stoletij. Opisano je, da so za spontanimi alergijami bolehale nekatere zgodovinske osebnosti, kot sta npr. rimski cesar Britannicus, ki je bil alergičen na konjski prhljaj, in angleški kralj Richard III. z alergijo na jagode (19). Izraz atopija, ki izvira iz grške besede *atopia* (tuj, neznan), sta prvič uporabila Coca in Cooke leta 1921. V tem času se je vedelo o astmi in senenem nahodu pri ljudeh le to, da sta preobčutljivostni motnji in da imata tendenco dedovanja. Kasneje so prišteli k senenemu nahodu in astmi tudi atopični dermatitis in vsi trije so bili klasificirani kot *atopično obolenje* (12). Prvi opisan klinični primer atopije pri psu sega v leto 1941, ko je Wittich bolezen opisal pri psici Lacy (20). Psica je živela z lastnikoma, alergičnima na njivski plevel ambrozijo. Lastnika sta opazovala sezonsko in karakteristično podobnost kliničnih znakov pri psici s tistimi pri njiju ter prosila zdravnika, da opravi alergijske teste tudi na psici. Zdravnik je ugotovil pozitivno alergijsko reakcijo, ko je v kožo psice apliciral ekstrakt ambrozije. To je bil prvi uradno ugotovljen primer spontane alergijske reakcije na katerega izmed aeroalergenov pri psu, prav tako pa tudi prvi alergijski kožni test, izveden z rastlinskim ekstraktom pri psu (19). Leta 1960 je bil opisan še en primer psa z alergijskim konjunktivitisom, povečano produkcijo solz in srbežem (21), šele leta 1971 pa so bili prvič podrobno opisani klinični znaki atopičnega dermatitisa pri psih (22).

1.5 Pasemska predispozicija

Med pasmami psov, pri katerih je atopični dermatitis genetsko predisponirana bolezen, se najpogosteje omenjajo: bokser, chihuahua, yorkshirski terier, shar-pei, beli višavski terier, škotski terier, shih tzu, dalmatinec, irski seter, bostonski terier, fox terier, zlati prinašalec, angleški seter, labradorec, bullterierji, koker španjel, lhasa apso, pritlikavi šnavcer in bauceron (8). Genetska predispozicija je verjetno povezana z multiplimi aleli. Raziskave so

pokazale, da so alergensko-specifičen imunski odgovor, skupna koncentracija IgE in klinična slika atopičnega dermatitisa odvisni od različnih genov (10). Po nekaterih študijah naj bi bil atopični dermatitis pogostejši pri samicah (8).

1.6 Klinični znaki

Klinični znaki se pri atopičnih psih prvič pojavijo med 4. mesecem in 7. letom starosti, vendar kar pri 70% psov prvič nastopijo v obdobju med 1. in 3. letom starosti (23). Pri nekaterih pasmah (chow-chow, zlati prinašalec, shar-pei) lahko klinični znaki nastopijo že pri 2 mesecih starosti. Klinični znaki so v začetku lahko sezonski ali nesezonski, odvisno od vpletenih alergenov. Približno 80% psov ima nesezonske klinične znake, pri prav takšnem odstotku psov se klinični znaki prvič pojavijo v obdobju od spomladi do jeseni, medtem ko se pri 20% psov prvič pojavijo pozimi (8).

Prvi klinični znak je običajno srbež brez vidnih poškodb kože, z rahlo eritematoznimi makulami ali z difuzno rdečino kože. Kasnejše kožne spremembe so pri obolelih psih najpogosteje posledica avtotravmatizacije zaradi praskanja, grizenja ali lizanja, sekundarnih bakterijskih in glivičnih infekcij (zlasti s kvasovkami iz rodu *Malassezia*) in sekundarne seboreje. Kronični dermatitis lahko vodi do popolne ali delne alopecije, obarvanja zaradi sline, papul, pustul, hiperpigmentacije in lihenifikacije. Srbež praviloma zajame obraz, šape, distalne dele okončin, komolce in trebuh. Pri precejšnjem deležu (40%) atopičnih psov gre za generalizirano prizadetost kože, medtem ko se pri še večjem deležu psov pojavljajo vnetje zunanjega sluhovoda, konjunktivitis, sekundarna bakterijska vnetja, piotravmatski dermatitis ali t.i. »acral lick dermatitis« in prhljaj (8).

Med ostalimi kliničnimi znaki, ki se tudi pojavljajo pri atopičnih psih in ki ne zajamejo kože, so najpogostejši rinitis, astma, katarakta, urinarne in gastrointestinalne motnje ter hormonalna preobčutljivost. Pri obolelih psicah se lahko pojavijo nenormalni spolni ciklusi, slabša oploditvena sposobnost in visok odstotek lažnih brejosti (8).

1.7 Diagnostika

Seznam diferencialnih diagnoz je obsežen, predvsem zaradi raznovrstnosti kliničnih znakov in sekundarnih komplikacij. Najpogostejše diferencialne diagnoze so: preobčutljivost na bolšji pik, preobčutljivost na hrano, garjavost, demodikoza, kontaktni dermatitis, preobčutljivost na insekte ali črevesne zajedavce, bakterijski folikulitis in Malasezijski dermatitis (8). Veliko atopičnih psov je hkrati preobčutljivih na bolšji pik ali na hrano (24,25).

Diagnozo postavimo na podlagi natančne anamneze, fizikalnega pregleda, izključevanja diferencialnih diagnoz in na podlagi rezultatov alergijskih testov (8,13). Zaradi težavne diagnostike in v želji po zagotavljanju čim večje konsistentnosti na tem področju je bil predstavljen koncept t.i. *major* (poglavitnih) in *minor* (stranskih) kriterijev za postavitev diagnoze atopičnega dermatitisa, ki jih po avtorju imenujemo Willemsejevi kriteriji. Willemse je leta 1986 za potrebe veterinarske dermatologije prilagodil diagnostične kriterije, ki sta jih v humani dermatologiji vpeljala Hanifin in Rajka (26). Med *major* kriterije so bili uvrščeni:

- prisotnost srbeža,
- spremembe na obrazu in/ali stopalih,
- lihenifikacija upogibne strani tarzusa ali iztezne strani karpusa,
- kronični ali ponavljajoči se dermatitis,
- znana družinska predispozicija,
- znana pasemska predispozicija.

Med *minor* kriterije pa so bili uvrščeni:

- pojav kliničnih znakov pred 3 leti starosti,
- eritem obraza,
- bakterijski konjunktivitis,
- površinska piodermija,
- hiperhidroza,
- pozitivni kožni alergijski testi,
- pozitivni serološki alergijski testi.

Za postavitev diagnoze atopičnega dermatitisa moramo pri pacientu potrditi vsaj tri *major* in vsaj tri *minor* kriterije. Pozitivni rezultati alergijskih testov spadajo med *minor* kriterije in niso ključni za potrditev diagnoze atopičnega dermatitisa ter nikakor ne prevladajo pomembnosti anamneze in dermatološkega pregleda. Atopični dermatitis torej lahko potrdimo

kljub negativnim rezultatom alergijskih testov, kar se včasih tudi zgodi, vzroki pa so lahko različni: vpliv nekaterih zdravil (antihistaminikov, glukokortikoidov, ciklosporina in nekaterih sedativov), neprava sezona za testiranje, odsotnost pomembnih antigenov v asortimanu testa in t.i. »pojav trajno negativnega odziva na alergijsko testiranje«. Rezultati alergijskih testov služijo kot dobro vodilo pri izbiri antigenov za pripravo imunoterapevtskega cepiva in to je tudi edina prava indikacija za opravljanje alergijskih testov (27,28,29,30).

Leta 1998 je Prelaud s sodelavci redefiniral poglavitne diagnostične kriterije za atopični dermatitis psov (31). Mednje je uvrstil naslednjih pet kriterijev:

- na glukokortikoide odziven srbež,
- prvi pojav kliničnih znakov med 6. mesecem in 3. letom starosti,
- prisotnost kožnih sprememb na področju ob ustih,
- obojestransko vnetje zunanjih sluhovodov,
- obojestransko eritematozno vnetje stopal.

Tabela 1: Občutljivost in specifičnost poglavitnih diagnostičnih kriterijev za atopični dermatitis psov po Prelaudu (19,31)

KRITERIJ	OBČUTLJIVOST	SPECIFIČNOST
Na glukokortikoide odziven srbež	95%	33%
Pojav kl. znakov med 6. mesecem in 3. letom starosti	78%	59%
Kožne spremembe na področju ob ustih	42%	80%
Obojestransko vnetje zunanjih sluhovodov	48%	83%
Obojestransko eritematozno vnetje stopal	54%	85%

V tabeli 1 so predstavljeni podatki o občutljivosti in specifičnosti Prelaudovih poglavitnih diagnostičnih kriterijev. Občutljivost posameznega kriterija pomeni delež atopičnih živali, pri katerih je ta kriterij prisoten. Visoko občutljiv kriterij je tisti, ki zelo redko daje lažno negativne rezultate. Srbež, ki je neodziven na terapijo z glukokortikoidi, zato z veliko verjetnostjo nakazuje, da imamo v danem primeru opravka z neko drugo kožno boleznijo in ne z atopičnim dermatitisom. Po drugi strani pa je specifičnost tega kriterija relativno majhna (33%), kar pomeni, da se odzivnost srbeža na glukokortikoide ugotavlja tudi pri drugih kožnih boleznih. Visoko specifični so tisti kriteriji, ki so v veliki meri značilni za določeno bolezen in se redkeje pojavljajo pri drugih boleznih, torej redkeje dajejo lažno pozitivne rezultate. Prisotnost obojestranskega vnetja stopal, vnetja sluhovodov in vnetnih sprememb ob ustih torej z veliko verjetnostjo (>80%) nakazuje diagnozo atopičnega dermatitisa.

Potrditev vsaj treh poglavitnih kriterijev predstavlja enostaven diagnostični pristop k atopičnemu dermatitisu in zagotavlja 79% občutljivost in 81% specifičnost (10), vendar je potrebno posebno pozornost posvetiti izključevanju diferencialno diagnostično pomembnih ektoparazitoz (demodikoza, garjavost) (19,28).

Zaradi podobnih kliničnih znakov ne moremo razlikovati atopičnega dermatitisa od preobčutljivosti na hrano (32). Nekateri avtorji zato predlagajo, da bi atopični dermatitis psov obravnavali kot *klinično entiteto*, torej *sindrom imunološko pogojenega srbeža*, pri čemer je lahko tudi preobčutljivost na hrano vzrok atopičnega obolenja (10,19). Ta koncept diagnostičnega razmišljanja je že v veliki meri sprejet v humani medicini. Znani so na primer podatki o navzkrižnih reakcijah med rastlinskimi in prehranskimi alergeni pri ljudeh, medtem ko je bil v veterinarski alergologiji že opisan primer navzkrižne senzibilizacije na paradižnik pri psu, alergičnem na pelod japonske srpovke (*Cryptomeria japonica*) (33).

1.8 Intradermalni in serološki alergijski testi

Na voljo sta dva tipa alergijskih testov: intradermalni (kožni) in serumski (*in vitro*) testi. Kot smo že poudarili, noben od testov atopičnega dermatitisa dokončno ne potrjuje niti ne izključuje. Alergijski test uporabimo za demonstracijo antigenov, na katere je žival preobčutljiva in ki bi lahko povzročali klinične znake atopičnega dermatitisa. Kateri od teh so dejansko pomembni, pa je potrebno presoditi v skladu z anamnezo in potekom bolezni (27).

Cilj intradermalnega (ID) alergijskega testiranja je s pomočjo intradermalnih aplikacij alergenskih ekstraktov izzvati preobčutljivostne reakcije v koži (10). Patogeneza pozitivne reakcije alergijskega testa je reakcija med alergeni in specifičnimi protitelesi IgE, vezanimi na mastocite v koži, ki ob vezavi degranulirajo, pri čemer pride do sproščanja številnih farmakološko učinkovitih substanc in posledične poškodbe tkiva (8). Pred izvedbo ID testa psa pomirimo z uporabo sedativov (medetomidin ali ksilazin) (28). Na lateralni strani prsnega koša temeljito, vendar previdno postrižemo dlako, da ne razdražimo kože. Velikost delovnega polja je odvisna od števila testiranih alergenov, ponavadi zadostuje delovno polje v velikosti 20×15 cm. Kože ne umivamo in ne razkužujemo. Na koži s primernim pisalom označimo mesta aplikacij posameznih alergenov, ki morajo biti med seboj oddaljena najmanj 3 cm. Na

označenih mestih intradermalno injiciramo 0,05 ml posameznega alergenskega ekstrakta. Rezultate interpretiramo 15 minut po aplikaciji. Za pravilno interpretacijo rezultatov je potrebno uporabiti pozitivno (histamin) in negativno kontrolo (fiziološka raztopina). Reakcija na mestu aplikacije negativne kontrole ne sme biti eritematozna in v premeru ne sme meriti več kot 5 mm. Reakcija na mestu aplikacije pozitivne kontrole mora biti eritematozna in imeti premer več kot 10 mm. Če ta pogoja nista izpolnjena, je relevantnost rezultatov kožnih testov vprašljiva. Vsako eritematozno kožno reakcijo na alergenski ekstrakt je potrebno oceniti kot pozitiven rezultat testa, ne glede na velikost kožne reakcije. Za bolj objektivno vrednotenje kožnih reakcij uporabimo natančno merilo in kot pozitiven rezultat testa upoštevamo vse eritematozne kožne reakcije, katerih premer je večji od polovične vrednosti seštevka premerov obeh kontrolnih reakcij (10).

Serološke alergijske teste opravljajo specializirani laboratoriji, ki z različnimi biokemijskimi metodami ugotavljajo prisotnost alergensko-specifičnih protiteles IgE ali IgG v serumu testiranih psov.

Še vedno med strokovnjaki prevladuje mnenje, da so intradermalni testi t.i. zlati standard v diagnostiki atopije (8), po drugi strani pa so serološki testi lažje dostopni in enostavnejši in ravno zato je njihova uporaba v precejšnjem porastu. Avtorji so pravilnost rezultatov serološkega testiranja velikokrat ocenjevali na podlagi primerjalne analize z rezultati intradermalnega testiranja. Ta način vrednotenja rezultatov serološkega alergijskega testiranja ni povsem upravičen, saj z intradermalnim testiranjem posredno dokazujemo prisotnost specifičnih IgE v koži, s serološkim testiranjem pa neposredno dokazujemo specifične IgE v serumu, kar ni nujno vedno ekvivalentno. Poleg tega alergenski ekstrakti, metodologije testiranja ter interpretacija rezultatov v veterinarski medicini še niso standardizirani za nobenega od načinov testiranja, zato sodbe o superiornosti katerega od obeh niso na mestu (27). V rokah izkušenega veterinarja, ki jih kritično interpretira, so lahko serološki testi enako uporabni kot intradermalni, vendar je potrebna pozornost pri izbiri laboratorija, ki teste opravi. Ti se med seboj zelo razlikujejo po metodi testiranja, asortimanu antigenov, kvaliteti in učinkovitosti (30). Pri izbiri laboratorija bi bilo potrebno upoštevati znanstveno podlago metode, ki jo laboratorij uporablja, objavljene rezultate študij, pri katerih je bila metoda uporabljena, ter vključenost laboratorija v znanstvene raziskave (27). Ob tem upoštevamo dejstvo, da je, ob sicer visoki občutljivosti, specifičnost seroloških testov manjša kot specifičnost intradermalnih testov. Posledično serološki testi torej pogosteje dajejo lažno

pozitivne rezultate (34). Prednosti seroloških alergijskih testov v primerjavi z intradermalnimi pa so predvsem: manjše tveganje za pacienta (sedacija ni potrebna, anafilaktične reakcije niso možne), nezahtevna izvedba, manjša možnost vplivanja morebitne predhodne ali sočasne uporabe zdravil in možnost uporabe pri pacientih z močnim generaliziranim dermatitisom (8). Takim pacientom namreč ne moremo za potrebni čas (najmanj 3 tedne pred intradermalnim testiranjem) ukiniti simptomatskih zdravil (glukokortikoidov in antihistaminikov), ki negativno vplivajo na rezultate intradermalnega testiranja, medtem ko manj vplivajo na rezultate serološkega testiranja.

Metode, ki se najpogosteje uporabljajo pri seroloških alergijskih testih, so ELISA, RAST in VARL (8). Medtem ko je pri metodah ELISA in RAST alergen v začetni fazi vezan na trden substrat (polistirensko mikrotitrsko ploščo), je za metodo VARL značilno, da se označen alergen najprej doda v pacientov serum (t.i. test s tekočo fazo oz. »liquid-phase immunoenzymatic assay«), nato pa se na trden substrat vežejo označeni kompleksi alergen-protitelo. Metode s tekočo fazo se zaradi nizke pojavnosti lažno pozitivnih rezultatov vse pogosteje uporabljajo v humani alergologiji (8), v serološki diagnostiki atopičnega dermatitisa psov pa se še vedno najpogosteje uporablja metoda ELISA z monoklonalnimi ali poliklonalnimi protitelesi proti specifičnim IgE (35,36,37,38).

Pred nekaj leti se je pojavil tudi t.i. »in-clinic screening test« (Allercept E-Screen©, Heska Corp.), ki naj bi služil kot vodič, ali so potrebni popolnejši alergijski testi ali ne, nikakor pa ga ne moremo uporabiti kot dokončno diagnostično sredstvo ali kot sredstvo, s katerim bi postavili diagnozo brez upoštevanja ostalih dejavnikov. Pomaga lahko prepričati lastnika živali v nadaljnje testiranje in izbrati pravi čas za testiranje, ki traja na splošno od viška pa do konca sezone antigenov (27,39). Na Kliniki za kirurgijo in male živali (KKMŽ) Veterinarske fakultete v Ljubljani smo z izvajanjem intradermalnih alergijskih testov pričeli leta 1993 (40), v zadnjem času pa se vse bolj poslužujemo tudi seroloških alergijskih testov, ki jih opravlja laboratorij Alergovet S.L. iz Madrida.

1.9 Alergeni

Alergeni, ki so najpogostejši povzročitelji atopičnega dermatitisa pri psih, so hišne pršice iz rodu *Dermatophagoides*, prehranske pršice iz rodov *Tyrophagus, Lepidoglyphus* in *Acarus*, hišni prah, perje in prhljaj drugih živali, plesni iz rodov *Penicillium, Aspergillus, Rhizopus, Mucor, Alternaria* in *Cladosporium* ter pelod plevelov, trav in dreves. Na splošno lahko alergene razdelimo na nesezonske (hišne in prehranske pršice, hišne plesni in prah), ter sezonske, ki jih nadalje delimo v spomladanske (pelod dreves), poletne (pelod trav in spore zunanjih plesni) in jesenske (pelod plevelov in spore zunanjih plesni) (27).

Rezultati retrospektivne študije intradermalnega alergijskega testiranja psov na KKMŽ (41) so pokazali, da so psi v naši regiji najpogosteje alergični na prehranske pršice vrst *Acarus siro* (pozitivna reakcija na alergenski ekstrakt pri 71,7% testiranih psov), *Tyrophagus putrescentiae* (50%) in *Lepidoglyphus destructor* (50%), plesen *Penicillium chrysogenum* (78,3%), hrčkov epitel (52,2%), hišno pršico *Dermatophagoides farinae* (47,8%), in razne plevele. Relativno pogoste so bile pozitivne reakcije še na bolšjo slino, pelod nekaterih trav (trpežna ljulka) in dreves (lipa). Hišne in prehranske pršice kot najpogostejše alergene v etiologiji atopičnega dermatitisa pri psih in pri ljudeh omenjajo tudi tuji avtorji (42,43,44,45).

Pri izbiri asortimana antigenov, ki jih uporabimo pri intradermalnem alergijskem testiranju, moramo upoštevati ugotovitve strokovnjakov o pogostnosti pozitivnih reakcij na posamezne antigene ter specifične značilnosti geografskega področja, predvsem glede rastlinja, prisotnega v določenem klimatskem pasu (27).

1.10 Zdravljenje

Zdravljenje atopičnega dermatitisa pri psih predstavlja poseben izziv veterinarjem. Čeprav je tudi pri nekaterih drugih boleznih potrebno doživljenjsko zdravljenje, se redko zgodi, da je za posamezno bolezen na voljo toliko različnih terapevtskih možnosti in postopkov kot prav za zdravljenje te bolezni. Množica različnih kombinacij zdravljenja, ki se med seboj razlikujejo glede na učinkovitost, stopnjo tveganja za pojav neželenih stranskih učinkov ter glede na stroške, otežuje postopek po postavitvi diagnoze ter zahteva individualno obravnavo vsakega

pacienta. Za določen način zdravljenja se odločimo po podrobni preučitvi zdravstvenega stanja živali, intenzivnosti bolezni, analizi pozitivnih in negativnih lastnosti terapevtskih možnosti ter po podrobnem pogovoru z lastnikom živali (6,46).

Lastniki atopičnih psov so zaradi nerealnih pričakovanj lahko nezadovoljni z rezultati zdravljenja, če jim pred zdravljenjem podrobno ne pojasnimo same narave bolezni in terapevtskih možnosti, ki so na voljo. Še posebej pomembno je seznaniti lastnika živali z informacijo, da je atopični dermatitis v veliki večini primerov neozdravljiva bolezen, ki zahteva neprekinjeno in doživljenjsko zdravljenje, kar pomeni tudi določene stroške. Prav tako mu moramo razložiti, da nobena od do sedaj znanih metod zdravljenja ni popolna; vsaka ima določene prednosti in slabosti. Za paciente z atopičnim dermatitisom so značilna izmenjujoča se obdobja izboljšanja in poslabšanja zdravstvenega stanja, zato se morajo lastniki atopičnih psov najpogosteje sprijazniti z rednimi obiski veterinarja (6).

Metode zdravljenja atopičnega dermatitisa pri psih lahko razdelimo na tiste s specifičnim in tiste z nespecifičnim (simptomatskim) učinkom (6).

1.10.1 Specifično zdravljenje atopičnega dermatitisa

1.10.1.1 Izogibanje alergenom

Večina alergenov, ki povzročajo atopični dermatitits pri psih, je pogostih in splošno razširjenih v našem življenjskem okolju, zato se jim je nemogoče popolnoma izogniti (6). Metoda zdravljenja z izogibanjem alergenu je zato redko učinkovita sama po sebi. Priporočljivo jo je uporabljati v kombinaciji z drugimi metodami zdravljenja. Med priporočljive ukrepe v primeru senzibilizacije na hišne pršice sodijo npr. pranje tkanin iz ležišča živali pri temperaturah nad 70°C, uporaba plastičnih prevlek za pasje ležišče, izogibanje uporabi plišastih igrač, preprečevanje stika s preprogami itd.. V primeru alergij na hišne plesni psu čim bolj omejimo zadrževanje v prostorih z visoko vlažnostjo, v primeru alergij na cvetni prah pa omejimo sprehode po travnikih ali gozdu in ne kosimo trave v prisotnosti psa (6,27,46).

1.10.1.2 Specifična imunoterapija

Začetki specifične imunoterapije pri ljudeh segajo v leto 1911, ko je Leonard Noon predpostavil, da bo pri pacientih s senenim nahodom injekcijsko vbrizgavanje ekstrakta travnih pelodov povzročilo razvoj aktivne imunosti in imelo za daljše obdobje ugoden učinek na njihovo zdravje (47). Pacientom je v 7-14-dnevnih intervalih vbrizgaval naraščajoče odmerke pelodovega ekstrakta ter pri tem spremljal konjunktivalno občutljivost na ekstrakt. Po nekaj mesecih je ugotovil občutno zmanjšanje občutljivosti. O Noonovem delu je istega leta poročal in ga klinično ovrednotil John Freeman (48).
Specifična imunoterapija je torej metoda, pri kateri apliciramo postopno naraščajoče odmerke alergenskega ekstrakta alergičnemu osebku z namenom zmanjšanja simptomov, do katerih pride ob ponovnem stiku s tem alergenom (49). Gre za edino vzročno (kavzalno) terapijo alergije, pri kateri je naš osnovni namen, da pri alergičnem pacientu dosežemo toleranco alergena. V uporabi sta tudi izraza *hiposenzibilizacija* in *desenzibilizacija*, ki se nanašata na pozitiven klinični rezultat imunoterapije – zmanjšanje občutljivosti pacientov na določen alergen oz. skupino alergenov (50). To je torej metoda, katere učinke smo v naši raziskovalni nalogi primerjali z učinki nespecifičnega zdravljenja z metilprednizolonom.

Pri ljudeh, zdravljenih s specifično imunoterapijo, so po zdravljenju ugotavljali številne spremembe v imunskem odzivu na alergen in posledično spremembe vnetnega odgovora organizma. Te so bile naslednje (50):

- zmanjšano število efektorskih vnetnih celic (zmanjšana aktivnost mastocitov in bazofilcev) in sproščanje vnetnih mediatorjev v manjši količini,
- spremembe v koncentraciji alergensko-specifičnih imunoglobulinov (postopno zniževanje koncentracije IgE, šibkejši sezonski porast IgE in močno povečanje koncentracije IgG1 in IgG4),
- modulacija funkcije T-celic in proizvodnje citokinov: preusmerjanje imunskega odgovora s preobčutljivostne reakcije tipa I (anafilaktične reakcije) v prid preobčutljivostne reakcije tipa II (citotoksične reakcije).

V humani medicini se je specifična imunoterapija izkazala za učinkovito pri zdravljenju alergijskih obolenj, povzročenih z okoljskimi alergeni, npr. pri senenem nahodu, alergijskem konjunktivitisu in alergijskem bronhitisu ter pri preobčutljivosti na pike insektov (51). Pozitivni učinki specifične imunoterapije v zgodnji fazi obolenja vključujejo preprečitev

nastanka kroničnih vnetnih sprememb, preprečitev nadaljnjega razvoja hude alergijske bolezni in preprečitev razvoja novih preobčutljivosti (50,52).

Izmed možnih načinov vnašanja alergenov v telo z namenom specifične imunoterapije pri ljudeh je najbolj uveljavljen in klinično ovrednoten vnos alergenov s subkutanim injiciranjem (50,51), obstajajo pa tudi dokazi o učinkovitosti sublingvalne oz. peroralne (53), intranazalne (pri alergijskem rinitisu) in intrabronhialne (pri astmi) specifične imunoterapije (51).

Pri psih je bila specifična imunoterapija prvič uporabljena leta 1941, in sicer kot uspešna metoda zdravljenja psa s sezonskim senenim nahodom (20). Mehanizem delovanja specifične imunoterapije pri atopičnih psih še ni natančno poznan, kljub temu, da se veliko raziskuje. Predvidevamo, da je mehanizem podoben kot pri ljudeh (50). Opisane so namreč občutno povišane koncentracije alergensko-specifičnih IgG v krvi psov po 6-mesečnem zdravljenju s pomočjo specifične imunoterapije (54) ter zmanjšanje števila takojšnjih alergijskih reakcij na antigene pri intradermalnem alergijskem testiranju (55). Že leta 1935 je Cooke poročal, da je imunoterapija pri pacientih, alergičnih na ambrozijo, spodbudila nastajanje posebne skupine protiteles, ki preprečujejo razvoj takojšnje (anafilaktične) preobčutljivostne reakcije, posledico reakcije med antigenom in specifičnim IgE na površini mastocitov. Ta protitelesa je poimenoval zavirajoča protitelesa (»blocking antibodies«), šlo pa je za alergensko-specifična protitelesa IgG. S pomočjo sodobnih laboratorijskih metod je bilo ugotovljeno, da ta protitelesa pripadajo podrazredoma IgG1 in IgG4 (51).

V telesu atopičnega pacienta je burna reakcija na alergen znana kot posledica povečane aktivnosti subpopulacije limfocitov Th2, ki proizvajajo mediatorje vnetja IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, kar se kaže v povečani proizvodnji alergensko-specifičnih protiteles tipa IgE (ki jih stimulira predvsem IL-4) (8,56). O povečanem sproščanju IL-4 pri atopičnih psih je poročal Nuttall s sodelavci leta 2002 (57). Istega leta je Hayashiya s sodelavci potrdil nizke koncentracije IFN-γ v krvi atopičnih psov (58). IFN- γ je citokinski imunomodulator, ki ima v primerjavi z IL-4 antagonistično funkcijo in zavira proizvodnjo alergensko-specifičnih IgE. Za sproščanje IFN-γ je odgovorna subpopulacija limfocitov Th1. Pri psih z atopičnim dermatitisom je torej (podobno kot pri ljudeh) značilna neuravnotežena aktivnost celic Th2 in Th1, in sicer v korist prvih (t.i. Th2 polariziran citokinski profil), kar se kaže v povečani proizvodnji specifičnih IgE s strani limfocitov B (8,59). Medtem ko je koncentracija IFN-γ pri atopičnih psih nizka, pa so pri atopičnih psih, zdravljenih s specifično imunoterapijo,

ugotovili signifikantno večjo koncentracijo IFN-γ ob nespremenjeni koncentraciji IL-4. Razmerje med IFN-γ in IL-4 je bilo po imunoterapiji občutno višje kot pred zdravljenjem. Na podlagi teh izsledkov so interpretacije, da specifična imunoterapija, podobno kot pri ljudeh tudi pri atopičnih psih, modulira odziv limfocitov T (in posledično tudi limfocitov B) s povečanjem aktivnosti Th1 (ki vzdržujejo imunsko ravnotežje v tkivih), dobile znanstveno podlago. S specifično imunoterapijo torej dosežemo premik citokinskega profila v prid Th1 (59).

Cepivo za specifično imunoterapijo je pri vsakem posamezniku izdelano iz izbranih alergenov, ki jih določimo na podlagi pozitivnih rezultatov alergijskega testiranja. Danes že razpolagamo z optimalno čistimi alergeni v različnih oblikah pripravkov in v določenih koncentracijah. Po shemi, ki jo predpiše proizvajalec cepiva in jo veterinar lahko individualno prilagaja posameznemu pacientu, alergene vnašamo v telo od najmanjših, začetnih, do vzdrževalnih koncentracij v določenih časovnih razmakih. Odmerek alergena, način vnosa, interval med posameznimi vnosi in število vnosov so torej odvisni od koncentracije alergenov in oblike posameznih alergenov ter jih predpiše proizvajalec zdravila (12). Alergeni so na tržišču v obliki vodnih raztopin, precipitata v aluminiju in v obliki emulzij (vodni alergeni v propilen glikolu, glicerinu ali mineralnem olju) (8,51). Učinki imunoterapije so najhitrejši z emulzijsko obliko alergenov, ki se počasneje absorbirajo in tako omogočajo večje odmerke alergenov ob redkejših vnosih (8). Subkutane aplikacije alergenov predstavljajo standardni način vnosa alergenov v telo pri specifični imunoterapiji psov z atopičnim dermatitisom. Nekateri avtorji so poročali o drugih možnih aplikacijah alergenov, in sicer intradermalni (60) in peroralni (61), vendar so dokazi o njihovi učinkovitosti in varnosti še pomanjkljivi (50).

Glede optimalne sheme vnosa, odmerkov in intervala med posameznimi aplikacijami alergenov se mnenja strokovnjakov razlikujejo, vendar v grobem ločimo dva osnovna načina specifične imunoterapije: konvencionalno in hitro (62). Po konvencionalni metodi se specifična imunoterapija prične z nizkim odmerkom alergenov, ki jih postopoma, najprej v dvodnevnih ali tedenskih, nato pa tritedenskih ali mesečnih intervalih povečujemo (obdobje indukcije oz. začetnega zdravljenja), dokler ne dosežemo visokega vzdrževalnega odmerka alergenov, ki ga apliciramo v rednih (običajno mesečnih) intervalih, kar imenujemo vzdrževalno obdobje. Slabost konvencionalne metode je, da pacienti redko pokažejo zaznavno izboljšanje simptomov bolezni že v prvih mesecih začetnega zdravljenja (62). Občutno skrajšanje obdobja začetnega zdravljenja pa je značilno za t.i. RUSH ali hitro

metodo specifične imunoterapije, pri kateri traja indukcija vsega 6-8 ur z aplikacijami naraščajočih koncentracij alergenov vsakih 20-30 minut (11). RUSH specifična imunoterapija se mora izvajati izključno pod strogim nadzorom veterinarja zaradi možnih anafilaktičnih reakcij, čeprav so te redke (11). Hitra metoda specifične imunoterapije je primerna predvsem za pse vodiče, za pse s starejšimi lastniki in pse, pri katerih je iz drugih razlogov (npr. agresivnost) dlje časa trajajoča indukcija konvencionalne imunoterapije težje izvedljiva ali je zaželen hitrejši klinični odziv (11). Končna učinka konvencionalne in hitre metode specifične imunoterapije sta primerljiva (62).

Pri izvajanju specifične imunoterapije upoštevamo navodila proizvajalca cepiva, kljub temu pa je včasih za dosego optimalnega odziva potrebno prilagajati shemo aplikacij in odmerek cepiva posameznemu pacientu tako, da preizkušamo različne odmerke in interval med njimi. Maksimalni odmerek je lahko odvisen tudi od velikosti psa, saj lahko npr. nekateri manjši psi prenesejo le desetino priporočenega največjega odmerka, medtem ko večji psi včasih potrebujejo povečanje le-tega. V nekaterih primerih se namesto vzdrževalnih mesečnih aplikacij v odmerku 1 ml priporočajo tedenske aplikacije v odmerku 0,35-0,5 ml (11). Maksimalni učinek terapije zato zahteva natančno in pogosto spremljanje pacienta ter eventualno modifikacijo priporočene sheme zdravljenja. Ob rednih kontrolnih pregledih psa vedno povprašamo lastnika o njegovih opažanjih v preteklem obdobju. Če je predhodna aplikacija cepiva najprej znižala intenziteto srbeža in se je ta postopoma ponovno povečala v času do naslednje aplikacije, je interval med aplikacijami prevelik in ga je potrebno zmanjšati. V takem primeru so dodatne aplikacije alergena potrebne pred pričakovanim poslabšanjem kliničnih znakov (27). V primeru, da se je intenziteta srbeža po predhodni aplikaciji najprej povečala, temu pa je sledilo postopno izboljšanje pred naslednjo aplikacijo, moramo zmanjšati odmerek alergena. Odmerek reguliramo (znižujemo ali povišujemo) postopoma, običajno za 25% prejšnjega odmerka (27).

Specifično imunoterapijo običajno pričnemo z začetno koncentracijo alergenskega ekstrakta, ki predstavlja 1%, in nadaljujemo s koncentracijo, ki predstavlja 10% končne vzdrževalne koncentracije. Koncentracije alergenov so standardizirane in izražene v enotah PNU (protein nitrogen units), pri čemer 1 mg proteinov znaša 100.000 PNU. Za določanje alergenskih koncentracij se lahko uporabi tudi razmerje med težo in volumnom koncentracije, pri čemer predstavlja 10% koncentracija 1 g osnovnega alergenskega ekstrakta v 10 ml raztopine (11). Večina vzdrževalnih alergenskih raztopin je pripravljena v koncentraciji 15.000-20.000

PNU/ml (11), koncentracije začetnih alergenskih raztopin pa se gibljejo med 200 in 2000 PNU/ml (27). Ker so psi velikokrat preobčutljivi na več snovi hkrati, vsebujejo tudi cepiva ponavadi več različnih alergenov v isti raztopini. Glede optimalnega števila alergenov v eni vakcini si veterinarski alergologi niso enotni, čeprav prevladuje mnenje, da je za dosego specifičnega odziva na določen alergen zaželeno omejiti število alergenov v raztopini. Cepiva lahko vsebujejo 10-15 različnih alergenov, izbranih na podlagi klinične relevantnosti, intenzivnosti povzročene reakcije med testiranjem, dejavnikov izpostavljenosti in interakcij med posameznimi alergeni (11). Laboratorij Alergovet S.L. (Madrid, Španija) omejuje število alergenov v cepivu na največ 8 hkrati. Navzkrižna reaktivnost alergenov v alergenskih mešanicah je običajna za alergene, ki pripadajo isti družini ali rodu (8,50). Nekateri alergologi ne priporočajo kombinacije alergenov plesni v isti raztopini z rastlinskimi alergeni, saj lahko encimi plesni povzročijo degradacijo rastlinskih proteinov (8,11,63,64), kar lahko naredi cepivo neučinkovito. Sicer pa se alergeni plesni lahko injicirajo neodvisno in sočasno z rastlinskimi alergeni (11). Cepiva Allervet™-Ca, ki jih na podlagi predhodnega serološkega alergijskega testiranja za vsakega pacienta individualno izdelajo v laboratoriju Stallergenes S.A. (Antony Cedex, Francija) in ki so bila uporabljena tudi v naši raziskavi, sestojijo iz izbranih alergenov, kalcijevega fosfata, natrijevega klorida, glicerola, fenola in vode. Injiciranja cepiva lahko naučimo tudi lastnike psov, ki cepivo nato dajejo sami doma. V primeru, da je učinek zdravljenja s specifično imunoterapijo ugoden, je zdravljenje praviloma doživljenjsko (50).

Delež psov, ki lahko po daljšem obdobju specifične imunoterapije trajno ozdravijo, se giblje med 10 in 20% (19). Specifična imunoterapija pri psih je po doslej znanih podatkih učinkovita v 65-85% primerov in pri tem lahko v 25% primerov bolezen nadzorujemo zgolj z imunoterapijo, pri 40% psov pa z imunoterapijo ob ustrezni podporni simptomatski terapiji. Pri preostalih 15-35% pacientov imunoterapija nima učinka (6). Pri velikem deležu obolelih psov je torej poglavitni cilj zmanjšanje intenzivnosti alergijske reakcije in potrebe po simptomatski terapiji (6,8,50). Poleg tega je ugoden odziv na imunoterapijo zelo redko takojšen in se lahko pojavi šele po 2-9 mesecih, zato lahko o učinkovitosti terapije zanesljivo in dokončno sodimo (po do sedaj znanih podatkih) šele po 10 mesecih zdravljenja (6). Če tudi po tem obdobju ni vidnega učinka, z imunoterapijo prenehamo in v nadaljevanju izberemo enega ali več načinov simptomatskega zdravljenja (19).

Neželeni stranski učinki specifične imunoterapije so redki. Nekateri psi se praskajo na mestu aplikacije vakcine oziroma lahko nekaj dni po aplikaciji opažamo povečano intenziteto srbeža. Ostale možne sistemske reakcije so redke, vendar opisane kot slabost, depresija, bruhanje, diareja in urtikarija (50). Anafilaktične reakcije so tudi možne, vendar izjemno redke (6,8,50). V takih primerih je potrebna takojšnja aplikacija adrenalina, antihistaminikov in glukokortikoidov (11). Proizvajalec imunoterapevtske vakcine Allervet™-Ca v navodilih za uporabo v primeru anafilaktične reakcije svetuje takojšnjo podkožno aplikacijo 0,1% adrenalina na mestu aplikacije cepiva v odmerku 0,2-0,3 ml. Izvajanje imunoterapije je kontraindicirano ob hudih sistemskih boleznih (avtoimune bolezni, hiperadrenokorticizem, sistemske infekcije idr.) in visoki starosti pacienta. Imunoterapevtsko cepivo se ne sme aplicirati hkrati z drugimi cepivi, med aplikacijama mora biti najmanj enotedenski razmik. Imunoterapija je ob ugodnem odzivu pacienta glede na redke neželene stranske učinke in zmerno ceno zagotovo najboljši način zdravljenja atopičnega dermatitisa pri psih, posebej pri tistih, pri katerih trajajo simptomi celo leto ali dlje časa v sezoni (6). Opisana terapija je specifična, kar pomeni, da z njeno pomočjo neposredno zdravimo alergijo oz. preprečujemo ali blažimo razvoj alergijske reakcije in na ta način lahko celo dosežemo trajno ozdravitev pacienta. Indicirana je pri vsakem pacientu z atopičnim dermatitisom, pri katerem smo z intradermalnimi ali serološkimi alergijskimi testi identificirali alergene, ki so najverjetnejši povzročitelji obolenja in katerim kontaktu se po naravni poti ni mogoče izogniti. Prav tako je specifična imunoterapija indicirana v primerih, ko se simptomatska protivnetna terapija izkaže za neučinkovito ali je povezana z nesprejemljivimi stranskimi učinki, čeprav trajajo simptomi bolezni le krajše obdobje v letu (8).

1.10.2 Nespecifično (simptomatsko) zdravljenje atopičnega dermatitisa

1.10.2.1 Glukokortikoidi

Zdravljenje z glukokortikoidi je najučinkovitejše simptomatsko zdravljenje atopičnega dermatitisa. Njihov protivnetni učinek je hiter in dobro delujejo pri veliki večini psov z atopičnim dermatitisom (6). Glukokortikoidi zmanjšajo sintezo proinflamatornih molekul, kot so citokini, interlevkini in proteaze, vplivajo na delitev in gibanje vnetnih celic in tako povzročajo nevtrofilno levkocitozo, limfocitopenijo, eozinopenijo in monocitozo (stresni levkogram). Povečujejo sintezo lipokortina-1 in posledično zavirajo aktivnost encima fosfolipaze A_2 in cikel arahidonske kisline (19). Zavirajo proliferacijo fibroblastov in celični

odgovor na mediatorje vnetja. Izmed vseh zdravil za zdravljenje atopičnega dermatitisa pa imajo glukokortikoidi tudi največ neželenih stranskih učinkov. Ti se v začetni fazi zdravljenja lahko kažejo kot prekomerno pitje vode (polidipsija), pogosto uriniranje (poliurija), tudi pogosto nočno uriniranje (nokturija) in prekomerno zauživanje hrane (polifagija), v primeru daljšega dajanja pa se lahko pojavijo jetrna obolenja, iatrogeni hiperadrenokorticizem (Cushingov sindrom), infekcije sečnega mehurja, diabetes mellitus, mišična oslabelost, želodčne razjede, pankreatitis, katarakta, izpadanje dlake, tanjšanje kože in piodermije (6,65). Povečujejo dovzetnost organizma za infekcije. Glukokortikoidi so pri atopičnih psih manj učinkoviti, če je pri njih hkrati prisotna bakterijska piodermija ali Malasezijski dermatitis. Prav zaradi velikega tveganja pojava neželenih stranskih učinkov se zdravljenje z glukokortikoidi omejeno priporoča v naslednjih primerih (6):

- kratkotrajno zdravljenje v obdobjih z intenzivnejšim srbežem,
- v zgodnji fazi imunoterapije v primeru hudega srbeža, čeprav nekateri avtorji to odsvetujejo (66),
- v primerih neodzivnosti na ostala zdravljenja,
- pri psih s kratkotrajnimi sezonskimi simptomi,
- ko finančne omejitve lastnikov ne dovoljujejo drugih oblik zdravljenja.

Vedno priporočamo peroralno dajanje sistemskih glukokortikoidov, ker na ta način najlažje reguliramo odmerek in ker je to edini varen način aplikacije glukokortikoidov v primeru dolgotrajnega zdravljenja. Režimi dajanja glukokortikoidov se razlikujejo glede na naravo bolezni, vrsto uporabljenega glukokortikoida in glede na razmerje med indukcijskim in vzdrževalnim terapevtskim obdobjem. Strokovnjaki ponavadi razlikujejo med protivnetnimi in imunosupresivnimi odmerki glukokortikoidov. Na splošno je indukcijska terapija z vsakodnevnim peroralnim dajanjem glukokortikoidov, s katero dosežemo remisijo kliničnih znakov, daljša pri dermatozah, ki potrebujejo višje, imunosupresivne odmerke. Protivnetni indukcijski odmerki glukokortikoidov se ponavadi dajejo 2-6 dni, medtem ko traja začetno zdravljenje z imunosupresivnimi odmerki 4-10 dni. Priporoča se zdravljenje s srednjedolgo-delujočimu glukokortikoidi, kot sta prednizolon in metilprednizolon (65). Metilprednizolon smo uporabili tudi v naši študiji.

Metilprednizolon je sintetični glukokortikoid, ki ima pri alergičnih psih dokazano visoko stopnjo učinkovitosti v odmerku 0,4-0,8 mg/kg na dan prvih 5-7 dni, nato pa v enakem odmerku vsak drugi dan (67). Je 4-5-krat bolj učinkovit od hidrokortizona in za 25% bolj učinkovit od prednizolona (tabela 2) (65,68). Dolgodelujoči glukokortikoidi za parenteralno

dajanje (npr. metilprednizolon acetat) se uporabljajo večinoma samo v primerih, ko peroralno dajanje zdravila ni možno. Za dermatoze, ki zahtevajo dolgotrajno zdravljenje, se parenteralno dajanje glukokortikoidov ne priporoča, ker zelo hitro zavrejo fiziološko delovanje osi hipotalamus-hipofiza-nadledvična žleza. Kadarkoli se odločimo za daljše obdobje zdravljenja s glukokortikoidi, dajemo peroralno najnižji predpisan oz. učinkovit odmerek vsak drugi dan. V nekaterih primerih zadostuje tudi dajanje glukokortikoidov vsak tretji ali četrti dan. Redko se dogaja, da je protivnetna terapija s prednizolonom ali metilprednizolonom po priporočeni shemi neučinkovita. V tem primeru ima veterinar, če predpostavimo, da je terapija z glukokortikoidi edina možna, na razpolago naslednje možnosti (65):

- dnevno dajanje prednizolona ali metilprednizolona in informiranje lastnika živali o neizogibnosti razvoja iatrogenega hiperadrenokorticizma,
- prehod na dajanje učinkovitejšega glukokortikoida za peroralno dajanje vsak 2. dan,
- prehod na parenteralno dajanje glukokortikoidov.

Tabela 2: Relativna učinkovitost in aktivnost glukokortikoidov za peroralno dajanje (65)

Glukokortikoid	**Ekvivalentni odmerek (mg)**	**Trajanje učinka (h)**
Kratko-delujoči		
Kortizon	25	8-12
Hidrokortizon	20	8-12
Srednjedolgo-delujoči		
Prednizon	5	24-36
Prednizolon	5	24-36
Metilprednizolon	4	24-36
Dolgo-delujoči		
Flumetazon	1,3	36-48
Triamcinolon	0,5	36-48
Deksamtazon	0,5	36-54
Betametazon	0,4	36-54

Topikalne glukokortikoide apliciramo 1-2-krat dnevno. Ko se z začetno terapijo izboljšajo klinični znaki dermatoze, se ti glukokortikoidi prav tako lahko uporabljajo vsak drug dan, po možnosti pa tudi redkeje (69).

1.10.2.2 Ciklosporin

Ciklosporin je zelo učinkovit ciklični oligopeptidni makrolid z imunomodulatornimi lastnostmi in kalcinevrinski inhibitor, ki blokira transkripcijo citokinskih genov v aktiviranih

T limfocitih ter s tem preprečuje razvoj alergijske reakcije (70,71,72,73,74). V zadnjih dveh desetletjih se je uveljavil tudi kot učinkovito preventivno zdravilo v humani transplantacijski medicini (75). O njegovi učinkovitosti pri zdravljenju atopičnega dermatitisa psov sta prva poročala Fontaine in Olivry leta 2001 (76). Primeren začetni odmerek za obvladovanje kliničnih znakov atopičnega dermatitisa pri psih je 5 mg/kg/dan (70,73). Maksimalni učinek se običajno pojavi 4 tedne oz. 30 dni po začetku zdravljenja (27,72). Ko dosežemo največji možni odziv, lahko zmanjšamo dnevni odmerek ali povečamo interval dajanja ciklosporina. Dokazano je, da nekatera zdravila (ketokonazol, eritromicin idr.) zvišujejo koncentracijo ciklosporina v krvi in posledično znižujejo potreben dnevni odmerek ciklosporina, vendar sočasna uporaba teh zdravil pri psih z atopičnih dermatitisom še ni ustrezno ovrednotena (72). Ciklosporin se metabolizira s pomočjo encimskega sistema citokrom P450, zato je potrebna previdnost ob sočasni uporabi zdravil, ki vplivajo na ta encimski sistem (doksiciklin, flukonazol, ketokonazol, itrakonazol, prednizolon, metilprednizolon, furosemid idr.) (19,27). Ciklosporin je učinkovit pri približno 80% pacientov, pri katerih srbež lahko tudi popolnoma preneha (6). Njegova učinkovitost pri zdravljenju atopičnega dermatitisa pri psih je primerljiva z učinkovitostjo prednizolona in metilprednizolona, primerljiva pa je tudi stopnja tveganja za razvoj stranskih učinkov pri obeh načinih zdravljenja (70,73). Pogost neželen stranski učinek je bruhanje v začetku zdravljenja, ki pa se običajno postopoma umiri. Ostali opisani neželeni stranski učinki so povečana dovzetnost za bakterijske infekcije, driske, inapetenca in letargija, poročajo pa tudi o hiperplaziji dlesni, razvoju papilomatoznih vzbrsti v ustni votlini in prekomerni rasti dlak (70,71,72,73,74). Morebitni neželeni stranski učinki dolgotrajnega zdravljenja pri psih še niso ugotovljeni, medtem ko pri ljudeh njegova dolgotrajnejša uporaba predstavlja povečano tveganje za razvoj jetrnih in ledvičnih obolenj (77) ter novotvorb (6). Najbolj pa zaenkrat omejuje uporabo ciklosporina pri zdravljenju atopičnega dermatitisa psov njegova visoka cena.

1.10.2.3 Antihistaminiki

Antihistaminiki blokirajo sproščanje histamina s kompetitivno inhibicijo receptorjev H1 na vnetnih celicah (19). Njihova učinkovitost pri psih z atopičnim dermatitisom je relativno majhna, saj so kot samostojno zdravilo učinkoviti le pri 20% obolelih psov in tudi pri teh je učinek lahko samo delni (6). Delimo jih na antihistaminike prve (klorfeniramin, difenhidramin, hidroksizin idr.) in druge generacije (terfenadin, feksofenadin, astemizol, loratadin idr.) (12). Neželeni stranski učinki antihistaminikov I. generacije so posledica

njihovega delovanja na holinergične receptorje in njihove sposobnosti prehajanja skozi krvno-možgansko bariero. Delujejo sedativno in lahko zavirajo apetit ter povzročajo drisko ali zaprtje. Antihistaminiki II. generacije v terapevtskih odmerkih nimajo učinkov na centralni živčni sistem in ne delujejo na holinergične receptorje. Visoke koncentracije in interakcije terfenadina in astemizola z nekaterimi drugimi zdravili (ketokonazol, itrakonazol, eritromicin) imajo lahko neželene učinke na srce (12,78). Antihistaminiki dokazano delujejo sinergistično z esencialnimi maščobnimi kislinami in glukokortikoidi. Pri sočasnem dajanju antihistaminika in glukokortikoida se lahko znižajo odmerki uporabljenega glukokortikoida tudi do 30% (12). Možna je individualna neodzivnost na določen antihistaminik, žival pa se lahko popolnoma preneha praskati ob uporabi drugega antihistaminika. Določen antihistaminik lahko ocenimo kot neučinkovit šele po 14-dnevnem zdravljenju brez zadovoljivega oz. pričakovanega učinka (79).

Vendarle pa je potrebno uporabo antihistaminikov druge generacije pri zdravljenju atopičnih psov v klinični praksi natančneje ovrednotiti, saj so avtorji raziskave, ki je bila opravljena na Veterinarski fakulteti v Ljubljani, ugotovili dobro učinkovitost feksofenadina pri zdravljenju 15 atopičnih psov z odmerkom 18 mg/kg/24ur PO. V primerjavi z metilprednizolonom je feksofenadin pokazal enako dobro učinkovitost in varnost v obdobju 6-tedenskega zdravljenja, saj se je intenzivnost kliničnih znakov zmanjšala za >50%, spremljani laboratorijski (ALT, AP, sečnina, kreatinin) in elektrokardiografski parametri pa niso pokazali odstopanj od normale (12).

1.10.2.4 Esencialne maščobne kisline

Esencialne maščobne kisline (omega-3 in omega-6 maščobne kisline) imajo pomembno vlogo kot sestavine celičnih membran in sebuma. Dokazani so njihovi antiinflamatorni in imunomodulatorni učinki pri kožnih boleznih (6,19). S kompetitivno vezavo na ciklo-oksigenazo in lipoksigenazo preusmerjajo produkcijo levkotrienov s proinflamatornimi lastnostmi na tiste z antiinflamatornimi. Prav tako inhibirajo proliferacijo in aktivacijo limfocitov ter zmanjšujejo sintezo proinflamatornih citokinov (80). Nadomeščanje esencialnih maščobnih kislin v prehrani služi kot dobra podporna terapija ostalim načinom zdravljenja atopičnega dermatitisa pri psih, čeprav ima samostojno majhen učinek (6). Dokazano je, da dodatki esencialnih maščobnih kislin znižajo odmerek glukokortikoidov, potreben za obvladovanje kliničnih znakov atopičnega dermatitisa pri psih. Bogati viri esencialnih

maščobnih kislin so olja, ki jih pridobivajo iz določenih vrst živali, rastlin, plesni in mikroorganizmov. V praksi se uporabljajo predvsem ribje olje, sončnično olje, koruzno olje, laneno olje, olje črnega ribeza, olja drugih rastlin in olje iz glive *Mucor javanicus* (12). Priporočeno razmerje med omega-6 (gama-linolenska kislina) in omega-3 (eikozapentanoična in dokozaheksanoična kislina) maščobnimi kislinami v prehrani psov je 5,5:1 (80).

1.10.2.5 Lokalno zdravljenje

Ostali (v večini primerov podporni) načini zdravljenja atopičnega dermatitisa pri psih zajemajo predvsem topikalna antiinflamatorna in antipruritična sredstva (šamponi, pršila, emulzije, geli itd.) ter protimikrobne pripravke za zdravljenje sekundarnih bakterijskih in glivičnih infekcij kože (19). Redna kopanja pomirjajo srbež v primerih, ko je le-ta blag in ni prisotnih sekundarnih infekcij. Praviloma naj bi se psi z atopičnim dermatitisom kopali vsakih 7-14 dni (12). V te namene se uporabljajo nežni hipoalergenski šamponi, koloidni pripravki iz ovsene kaše, antibakterijska sredstva in vlažilci kože. Pri zdravljenju lokaliziranih področij srbeža se lahko uporabijo kreme, mazila in losjoni, ki pomirjajo srbež in ponavadi vsebujejo (samostojno ali v kombinaciji) kortikosteroide (največkrat betametazon ali deksametazon) in antibiotike (19).

1.10.2.6 Druge oblike zdravljenja

Nekatere novejše študije kot možna zdravila za zdravljenje atopičnega dermatitisa pri psih omenjajo tudi inhibitorje fosfodiesteraze (pentoksifilin, arofilin, papaverin), inhibitorje levkotrienov, inhibitorje prostaglandinov (mizoprostol), imunomodulatorne antibiotike (eritromicin, doksiciklin), pripravke iz kitajskih zelišč (rastlinski ekstrakt PYM00217), triciklične antidepresive (doksepin, amitriptilin), vitamina E in C, rekombinantni omega interferon (rFeIFN-ω) ter imunosupresiv azatioprin (78,81,82,83). O učinkovitosti večine omenjenih substanc pri zdravljenju atopičnega dermatitisa pa je zaenkrat premalo zanesljivih informacij in dokazov (78) oz. je njihova uporaba povezana z mnogimi neželenimi stranskimi učinki, kot so npr. z antidepresivi povezane aritmije, antiholinergični učinki, bruhanje, driska, letargija in anoreksija (8).

1.11 Vrednotenje uspešnosti zdravljenja atopičnega dermatitisa pri psih

1.11.1 Ocena intenzivnosti srbeža

Srbež (pruritus) je pomemben in običajno prvi klinični znak atopičnega dermatitisa. Jakost srbeža služi tudi kot merilo kvalitete življenja ter uspešnosti določene terapije v veterinarski dermatologiji, čeprav je njegovo intenzivnost težko objektivno oceniti. Običajno ga ocenijo lastniki obolelih psov na podlagi lastnih opažanj, ko jih o tem povprašamo med obiskom v ambulanti. Pri tem so nam lahko v pomoč različne vizualne analogne skale (t.i. Pruritus Visual Analog Scales ali PVAS) z merilom (ponavadi od 0 do 10 oz. 100 enot), ki lastnikom omogočijo vizualizacijsko predstavo meritve, vendar se subjektivnosti ocene vseeno ne moremo izogniti (84). Srbež se pri psih odraža kompleksneje kot pri ljudeh in se kaže s praskanjem, lizanjem, grizenjem in drgnjenjem.

1.11.2 Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI)

Vzpostavitev ustreznega, objektivnega in zanesljivega sistema za oceno intenzivnosti obolenja ter uspešnosti posameznih terapevtskih postopkov pri psih z atopičnim dermatitisom je bila dolgo cilj številnih strokovnjakov na področju veterinarske dermatologije, vendar so bili številni poskusi neuspešni. Tako se je vse do leta 1997 kot edino tovrstno merilo uporabljala subjektivna ocena srbeža s strani lastnikov (85). Takrat pa je Olivry s sodelavci v okviru Mednarodne delovne skupine za atopični dermatitis psov (ITFCAD) predstavil prvo različico sistema za vrednotenje obsega in stopnje atopičnega dermatitisa pri psih, t.i. Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI) (86). Šlo je za shemo ocenjevanja treh kliničnih znakov atopičnega dermatitisa (eritema, ekskoriacije in lihenifikacije) z ocenami od 0 do 3 (0-nič, 1-blago, 2-zmerno, 3-močno) na 23 različnih telesnih področjih. Maksimalni seštevek prve različice sistema CADESI je bil 207. Našteti trije simptomi so bili izbrani kot objektivna kombinacija pokazateljev akutnosti oz. subakutnosti (eritem), kroničnosti (lihenifikacija) in posledic srbeža (ekskoriacija). Sistem CADESI je bil zasnovan na podlagi sistema SCORAD (SCORing Atopic Dermatitis), ki se v enake namene uporablja v humani medicini in je prav tako rezultat dolgoletnih in raznovrstnih poskusov kliničnega vrednotenja atopičnega dermatitisa pri ljudeh (87).

Leta 2002 je ista skupina strokovnjakov predstavila drugo različico sistema CADESI (73), ki se je od prejšnje razlikovala po številu zajetih telesnih področij, ki jih je bilo po novem 40. Maksimalni seštevek sistema CADESI-02 je bil 360. Ta različica sistema je bila uspešno uporabljena na Veterinarski fakulteti v Ljubljani v študiji o učinkovitosti feksofenadina pri zdravljenju atopičnega dermatitisa pri psih (12).

Nekateri strokovnjaki kot največje pomanjkljivosti evalvacijskega testa CADESI omenjajo zamudnost, relativno neusklajenost ocenjevanih telesnih področij glede na pomembnost in površino, slabo definirane ocenjevalne stopnje kožnih sprememb ter dejstvo, da je pravilna uporaba tega ocenjevalnega sistema odvisna od izkušenosti ocenjevalca (87). Mueller in sodelavci so leta 2004 v svoji študiji primerjave konvencionalne in hitre metode specifične imunoterapije pri psih z atopičnim dermatitisom (62) predstavili kombiniran sistem ocenjevanja učinkovitosti terapije atopičnega dermatitisa, ki je temeljil na podlagi ocene srbeža, ocene kožnih sprememb in ocene potreb po dodatni terapiji. Oceno srbeža so podali lastniki ob kontrolnih pregledih s pomočjo vizualne analogne skale z razponom 0-30. Ob vsakem kontrolnem pregledu je veterinar ocenjeval naslednje kožne spremembe: alopecijo, eritem, papule, kraste, hiperpigmentacijo in mastnost kože. Vsaka kožna sprememba je bila ocenjena kot blaga (ugotovljena samo pri podrobnem dermatološkem pregledu; vredna 1,5 točke), zmerna (z njo je prizadetih <20% telesa; vredna 3 točke), in huda (z njo je prizadetih >20% telesa; vredna 4,5 točke). Ocena potrebne podporne terapije v času zdravljenja z imunoterapijo je bila podana po sledečem principu: topikalna terapija je bila ocenjena s 5 točkami, uporaba antihistaminikov in/ali nadomestkov esencialnih maščobnih kislin z 10 točkami, morebitna uporaba glukokortikoidov pa je bila ovrednotena na podlagi povprečnega dnevnega odmerka glukokortikoida: odmerek prednizolona >1mg/kg je bil ocenjen s 40 točkami, odmerek 0,5-1mg/kg s 30 točkami, odmerek 0,2-0,5mg/kg z 20 točkami in odmerek <0,2mg/kg z 10 točkami. Končna ocena uspešnosti terapije je bila podana s seštevkom ocen srbeža, kožnih sprememb in različne uporabljene terapije.

Pri preučevanju zanesljivosti prvih dveh različic evalvacijskega sistema CADESI se je izkazalo, da je zajetih premalo specifičnih telesnih področij. Prav tako je bila ugotovljena nezadostna reprezentativnost akutnih kožnih poškodb in prisotnega srbeža. Na podlagi teh ugotovitev je bila leta 2007 uvedena tretja različica sistema CADESI, ki je zajela nov ocenjevani simptom – avtotravmatsko alopecijo in novo ocenjevalno lestvico kožnih sprememb z razponom od 0 do 5 (0-nič, 1-blago, 2 in 3-zmerno, 4 in 5-močno), ob tem pa se

je povečalo tudi število vključenih telesnih področij, na katerih se ocenjuje prisotnost in stopnja sprememb – nov sistem vključuje 62 telesnih področij (85). Maksimalni seštevek sistema CADESI-03 je tako 1240. Pri tem pa je potrebno poudariti, da so vrednosti CADESI-03 nad dvema tretjinama maksimalnega možnega seštevka izredno redke, saj tako visoke vrednosti zaznamujejo pacienta s stopnjo atopičnega dermatitisa, ki je nesprejemljiva za večino lastnikov obolelih psov. ITFCAD je leta 2008 vrednosti CADESI-03 kategorizirala v štiri jakostne razrede. Po tej kategorizaciji, ki služi nazornejšemu opisnemu ovrednotenju kliničnega stanja pacienta, predstavljajo vrednosti CADESI-03 0-15 odsotnost oz. remisijo atopičnega dermatitisa, vrednosti 16-59 blago stopnjo, vrednosti 60-119 zmerno stopnjo, vrednosti, višje od 120 pa hudo stopnjo atopičnega dermatitisa (88). Najnovejšo, tretjo različico sistema CADESI smo uporabili tudi v naši raziskavi.

V želji po vpeljavi minimalnih standardov za vrednotenje učinkovitosti zdravljenja atopičnega dermatitisa pri psih v nadaljnjih kliničnih raziskavah in v skladu s podobnimi trendi v humani medicini je ITFCAD kot osnovo za ocenjevanje uspešnosti zdravljenja predlagala upoštevanje naslednjih štirih parametrov (85):

1. Redno ocenjevanje intenzivnosti bolezenskih simptomov s sistemoma CADESI-03 in PVAS od začetka do konca zdravljenja z namenom ugotavljanja remisije kliničnih znakov. Delež pacientov, pri katerih je v času raziskave dosežena vsaj 50-odstotna redukcija CADESI ($CADESI_{50}$) lahko služi kot relevantno merilo za oceno uspešnosti terapije (delna remisija). Podatek o deležu pacientov s popolno ali skoraj popolno remisijo kliničnih znakov dobimo z izračunom deleža pacientov, pri katerih je bila v času raziskave dosežena vsaj 90-odstotna redukcija CADESI ($CADESI_{90}$);

2. Ovrednotenje celostnega mišljenja lastnika o izboljšanju zdravstvenega stanja živali ob koncu zdravljenja;

3. Ovrednotenje celostnega mišljenja veterinarja o izboljšanju zdravstvenega stanja živali ob koncu zdravljenja. Pri tem ITFCAD predlaga uporabo petstopenjske ocenjevalne lestvice z naslednjimi vrednostmi: ni izboljšanja (0), rahlo izboljšanje (1), zadovoljivo izboljšanje (2), močno izboljšanje (3) in odlično izboljšanje (4);

4. Ocena splošne kvalitete pacientovega življenja, pri čemer se lahko upoštevajo naslednji parametri: obnašanje, kvaliteta spanca, apetit in stopnja interakcije pacienta z njegovimi lastniki.

CADESI-03 danes velja kot edini strokovno priporočen in ustrezno validiran evalvacijski sistem za določanje stopnje in obsega bolezni ter za vrednotenje uspeha določene metode zdravljenja atopičnega dermatitisa pri psih. Pri ITFCAD pa vseeno opozarjajo, da gre za trenutno priporočeno metodo vrednotenja atopičnega dermatitisa pri psih, nikakor pa ne za dokončno. Možno je, da jo bo v prihodnosti nadomestila kvalitetnejša metoda, ki pa bo morala temeljiti na najvišjih standardih validacije, optimizaciji znanih pomanjkljivosti predhodnih evalvacijskih sistemov in komparativni analizi, ki bi pokazala nedvomno in specifično prednost nove metode v primerjavi s testom CADESI-03 (85).

2 NAMEN IN HIPOTEZA

Namen raziskovalne naloge je bil primerjati učinek 8 mesecev trajajoče specifične imunoterapije z učinkom 2 meseca trajajočega zdravljenja z metilprednizolonom. Učinka obeh zdravljenj smo primerjali in vrednotili na vzorcu 11 psov z atopičnim dermatitisom s pomočjo tretje in hkrati najnovejše različice testa CADESI, ki ga je vpeljal in znanstveno validiral komite skupine ITFCAD. Ob tem smo na podlagi splošnega počutja, ocene intenzivnosti srbeža, sprememb na koži, in sprememb osnovnih hematoloških biokemijskih parametrov (sečnina, kreatinin, AP, ALT) spremljali in vrednotili tudi neželene stranske učinke obeh zdravljenj.

Atopični dermatitis psov je aktualna bolezen v svetu veterinarske medicine, ki s svojo naravo ter zahtevnim, večinoma doživljenjskim zdravljenjem in z raznovrstnostjo terapevtskih možnosti predstavlja predmet mnogih strokovnih razprav, deljenih in nasprotujočih si mnenj znotraj veterinarske stroke, kakor tudi poseben izziv za lastnike atopičnih psov, ki se morajo pogosto soočiti s težko obvladljivo boleznijo. Ob najnovejšem razvoju diagnostičnih seroloških laboratorijskih metod je veterinarska alergologija dosegla znanstveni nivo svoje sestrske discipline v humani medicini, istočasno z novimi znanstvenimi dognanji pa naraščata tudi znanje in zavest lastnikov živali, ki so pripravljeni vedno več žrtvovati za kvalitetno, učinkovito in optimalno zdravljenje svojih ljubljencev in takega tudi zahtevajo. Imunoterapija je zaenkrat edini specifični način zdravljenja atopičnega dermatitisa psov. Upoštevajoč vsa omenjena dejstva in podatek, da učinek imunoterapije še ni bil ovrednoten z različico evalvacijskega testa CADESI-03, je bila potreba za tovrstno raziskavo indicirana. Učinek specifične imunoterapije so doslej v znanstvenih raziskavah vrednotili večinoma s pomočjo opisnega načina, poročanja lastnikov o počutju pacientov, na podlagi subjektivne ocene prisotnega srbeža (35,55,63) ter s pomočjo starejših različic sistema CADESI (89). Sistem CADESI-03 predstavlja pomembno, znanstveno validirano orodje za objektivno spremljanje poteka alergijske bolezni in učinkov njenega zdravljenja.

1. Po do zdaj znanih podatkih strokovne literature in na podlagi izkušenj iz klinične prakse lahko v času trajanja specifične imunoterapije pričakujemo ugodne učinke pri ≈70% atopičnih psov, medtem ko pri 30% psov ne pričakujemo zadovoljivega učinka. Odličen oz. dober učinek imunoterapije pričakujemo v ≈25% pacientov, pri katerih bomo atopični

dermatitis obvladovali zgolj z imunoterapijo, medtem ko pri ≈40% psov pričakujemo zmeren učinek, pri čemer bo za obvladovanje bolezni poleg imunoterapije potrebna še podporna simptomatska terapija.

2. Pričakujemo, da bomo s specifično imunoterapijo pri 30-40% psov dosegli vsaj 50% izboljšanje vrednosti CADESI-03, ki je uveljavljen kriterij za vrednotenje uspešnosti zdravljenja atopičnega dermatitisa psov.

3. Pričakujemo, da bo metilprednizolon služil kot dobro kontrolno zdravilo, saj ima običajno hitre in močne učinke na srbež in ostale simptome alergije, zato tudi pričakujemo, da bomo z dvomesečno uporabo metilprednizolona pri večini psov dosegli vsaj 50% redukcijo vrednosti CADESI-03.

4. Pričakujemo, da bo metilprednizolon pri obvladovanju srbeža učinkovitejši kot specifična imunoterapija.

5. Pomembnih neželenih stranskih učinkov zdravljenja z imunoterapijo ne pričakujemo, saj so opisani kot zelo redki. Možen je pojav intenzivnejšega srbeža in rdečine na mestu aplikacije cepiva, redkeje pa pojav intenzivnega generaliziranega srbeža. Anafilaktične reakcije so sicer možne, vendar izjemno redke.

6. V času dvomesečnega zdravljenja z metilprednizolonom lahko v nekaterih primerih pričakujemo predvsem pojav poliurije, polidipsije in polifagije, neželenih stranskih učinkov, ki so povezani z dolgotrajnejšo uporabo glukokortikoidov (npr. piodermije, jetrna obolenja, iatrogeni hiperadrenokorticizem idr.), pa ne pričakujemo.

7. V času trajanja imunoterapije ne pričakujemo pomembnih odstopanj krvnih parametrov od fizioloških vrednosti, prav tako ne v času dvomesečnega zdravljenja z metilprednizolonom.

8. Pričakujemo, da bo, upoštevajoč vse omenjene kriterije, učinek osemmesečne specifične imunoterapije pri zdravljenju atopičnega dermatitisa psov primerljiv z učinkom dvomesečnega zdravljenja z metilprednizolonom.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 Živali

V raziskavo je bilo vključenih 11 psov, starejših od 6 mesecev, različnih pasem in spola, ki so jih lastniki zaradi kožnih težav pripeljali v dermatološko ambulanto KKMŽ in pri katerih je bila na podlagi veljavnih kriterijev postavljena diagnoza atopičnega dermatitisa (tabela 6). Lastniki psov so ob vključitvi v raziskavo podpisali pisno privolitev v sodelovanje. Pred vključitvijo so bile izključene diferencialno diagnostično pomembne bolezni. Možnost infestacije z ektoparaziti smo v času raziskave pri psih preprečevali z redno uporabo primernih učinkovin, kot sta fipronil (Frontline Spot-on; Merial, Francija) in selamektin (Stronghold; Pfizer Luxembourg SARL, Luksemburg). Možnost vpliva hkrati prisotne preobčutljivosti na hrano smo v času raziskave preprečili z eliminacijsko dieto, sestavljeno iz sestavin hrane, ki jih psi v svojem življenju še niso zaužili (tabela 8). Pri vsakem pacientu so bili opravljeni serološki alergijski testi, ki jih je opravil laboratorij Alergovet (Madrid, Španija) (tabela 9).

3.2 Vključitveni in izključitveni kriteriji

Diagnoza atopičnega dermatitisa je bila postavljena na podlagi t.i. *major* in *minor* kriterijev za določanje atopičnega dermatitisa pri psih po Willemseju in z izključitvijo diferencialnih diagnoz. Vsak pes je moral ob vključitvi izpolnjevati vsaj 3 *major* in 3 *minor* kriterije.

Major kriteriji so bili naslednji:

1. prisotnost srbeža,
2. spremembe na obrazu ali stopalih,
3. spremembe na upogibnem delu tarzusa in/ali izteznem delu karpalnega sklepa,
4. kronični ali ponavljajoči se dermatitis,
5. znana pasemska predispozicija,
6. znana družinska predispozicija.

Minor kriteriji so bili naslednji:

1. pozitivni serološki alergijski testi,
2. pozitivni intradermalni alergijski testi,
3. pojav prvih znakov med 6. mesecem in 3. letom starosti,
4. bakterijski konjunktivitis,
5. površinsko gnojno vnetje kože,
6. eritem obraza,
7. hiperhidroza.

V raziskavo ni bilo mogoče vključiti:

1. psov, pri katerih zgodovina bolezni, predhodne terapije in njihov izid niso bili dovolj dobro dokumentirani,
2. psov z zdravstvenim stanjem, ki bi lahko oviralo ocenjevanje bolezni,
3. psov z resno oslabelostjo delovanja jeter ali ledvic,
4. psic s predvideno ali slučajno brejostjo,
5. psov s simptomi alergije na bolšji pik,
6. psov, pri katerih alergija na hrano ni bila izključena ali kontrolirana z ustrezno dieto,
7. psov z ektoparaziti,
8. psov, zdravljenih z naslednjimi zdravili:

- glukokortikoidi: manj kot 4 tedne pred vključitvijo,
- antihistaminiki: manj kot 14 dni pred vključitvijo,
- ciklosporini: manj kot 30 dni pred vključitvijo,
- nadomestki esencialnih maščobnih kislin: manj kot 14 dni pred vključitvijo,
- nadomestki vitamina E: manj kot 14 dni pred vključitvijo,
- snovi, ki pomirjajo srbež, kot so SRI (Serotonin Reuptake Inhibitor) in SSRI (Selective Serotonin Reuptake Inhibitor): manj kot 14 dni pred vključitvijo,
- imunoterapevtiki.

Pse, pri katerih se je v času raziskave pojavil kateri od zgoraj naštetih kriterijev, smo iz raziskave izključili, pri statistični obdelavi rezultatov pa smo upoštevali njihove rezultate v času do izključitve. Upoštevani izključitveni kriteriji temeljijo na podlagi kriterijev, ki so jih upoštevali avtorji primerljive raziskave, opravljene na Veterinarski fakulteti v Ljubljani (90).

3.3 Organizacijsko-kronološka shema raziskave in uporabljena zdravila

Psi so bili po vključitvi v raziskavo 2 meseca zdravljeni z metilprednizolonom (Medrol; Pfizer Luxembourg SARL, Luksemburg) v odmerku 0,5 mg/kg PO, pri čemer so zdravilo prvih pet dni po vključitvi dobivali vsak dan, nato pa vsak drugi dan. Po dveh mesecih je sledilo enomesečno obdobje čiščenja (t.i. *washout* perioda), potrebno za eliminacijo vplivov metilprednizolona (slika 1). Po tem obdobju smo pri psih začeli izvajati alergensko-specifično, konvencionalno imunoterapijo s subkutanim apliciranjem alergenov po priporočeni shemi laboratorija Alergovet (tabela 3), ki je za vsakega psa opravil serološke teste na prisotnost protiteles IgE. Testiran je bil izbor 32 okoljskih alergenov s komercialnima testoma SAT ELISA® in PET ELISA®. Test SAT ELISA® je t.i. »screening« test in predstavlja prvi korak v serološki diagnostiki alergij španskega laboratorija Alergovet, služi pa kot splošni indikator, kadar so v krvi živali prisotna protitelesa IgE ali IgG proti okoljskim ali prehranskim alergenom, katerih pa ne specificira. Test PET ELISA® nato identificira alergene, ki so povzročili dvig nivoja protiteles in služi kot vodilo pri izdelavi cepiva za specifično imunoterapijo. Na podlagi rezultatov testiranja je francoski biomedicinski laboratorij Stallergenes S.A. za vsakega psa izdelal individualno imunoterapevtsko cepivo Allervet™-Ca, sestavljeno iz identificiranih alergenov, kalcijevega fosfata, natrijevega klorida, glicerola, fenola in vode.

Raziskava je temeljila na enotni skupini 11 psov, ki je služila kot kontrolna skupina (zdravljena z metilprednizolonom – skupina M) in kot preiskovana skupina (zdravljena s specifično imunoterapijo – skupina I). Ob vključitvi in mesečnih kontrolnih pregledih je bil pri vsakem psu opravljen dermatološki pregled s točkovanjem kožnih sprememb po sistemu CADESI-03 (tabela 4). Da bi zagotovili zanesljivost in objektivnost točkovanja, smo iz arhiva fotografij pacientov dermatološke ambulante KKMŽ izdelali t.i. fototabelo, ki je služila kot umeritvena tabela pri točkovanju kožnih sprememb po sistemu CADESI-03 (tabela 5). Kot osnovno merilo učinkovitosti terapije smo upoštevali zmanjšanje vrednosti seštevka CADESI-03 za 50%.

Ob vsakem pregledu smo prosili lastnika psa, da je s pomočjo vizualne analogne skale (slika 2) z oceno od 0 do 100 ocenil povprečno jakost srbeža pri svojem psu v zadnjem mesecu. Ocena lastnika je temeljila na njegovem opažanju intenzivnosti, pogostnosti in trajanja

znakov srbeža. Lastniki so ob vključitvi dobili navodilo, naj med raziskavo opazujejo lizanje šap in ingvinalnega področja, grizenje šap in telesa, praskanje po glavi in telesu ter drgnjenje glave in telesa ob predmete. Prav tako smo vsak mesec, v času trajanja specifične imunoterapije pa vsak drugi mesec (ob 6., 8. in 10. kontrolnem pregledu), vključenim pacientom odvzeli kri za ugotavljanje osnovnih biokemijskih parametrov (sečnina, kreatinin, AP, ALT), opravili citološke preiskave razmazov kožnih brisov z vsaj dveh najbolj prizadetih telesnih področij ter parazitološko preiskavo kožnega ostružka. Biokemijske preiskave seruma so bile opravljene z biokemijskim analizatorjem Technicon RA-XT (Bayer Technicon, Nemčija). Barvanje preparatov za citološko preiskavo je bilo opravljeno z metodo Diff-Quik, medtem ko smo parazitološko preiskavo opravili na neobarvanih preparatih. Predzadnji in zadnji kontrolni pregled sta bila opravljena v razmiku dveh mesecev, pri čemer je zadnji kontrolni pregled sovpadal z dopolnjenim osmim mesecem od pričetka zdravljenja s specifično imunoterapijo. Ob zadnjem kontrolnem pregledu smo lastnike psov pozvali, da po predlagani ocenjevalni lestvici ITFCAD (85) ovrednotijo svoje zadovoljstvo z učinkom osemmesečne imunoterapije z ocenami 0-4. Kot končno merilo za oceno učinka osemmesečne imunoterapije smo pri vsakem pacientu upoštevali: doseženo redukcijo seštevka CADESI-03 ob koncu raziskave, zmanjšanje intenzivnosti srbeža, zadovoljstvo lastnikov z učinkom terapije, naše splošno mišljenje o izboljšanju zdravstvenega stanja pacienta ter primerjavo učinka imunoterapije z učinkom terapije z metilprednizolonom.

3.4 Statistična obdelava rezultatov

Rezultati so bili statistično obdelani s programom SigmaStat (Systat Software Inc., San Jose, Kalifornija). Za primerjalno analizo učinkovitosti terapije na podlagi vrednosti CADESI-03 znotraj posamezne skupine ter med obema skupinama smo uporabili parni t-test (v primeru normalne porazdelitve rezultatov) in Mann-Whitneyev U test (v primeru, ko porazdelitev rezultatov ni bila normalna). Za ugotavljanje povezave med oceno jakosti srbeža in vrednostjo CADESI-03 smo uporabili Pearsonov test korelacije. Tega smo uporabili tudi pri primerjavi izhodiščnih vrednosti CADESI-03 med obema skupinama. Za statistično analizo sprememb vrednosti biokemijskih krvnih parametrov (sečnine, kreatinina, AP in ALT) smo uporabili Fisherjev eksaktni test. Kot statistično značilne vrednosti smo upoštevali vrednosti $P<0,05$.

Slika 1: Organizacijsko-kronološka shema raziskave

Tabela 3: Shema specifične imunoterapije z uporabo vakcine Allervet™-Ca (Alergovet S.L., Španija, v sodelovanju s Stallergenes S.A., Francija)

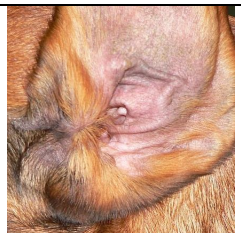
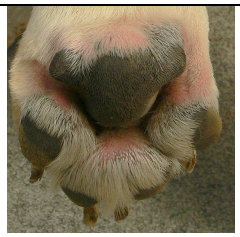
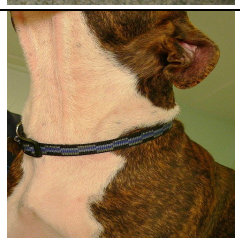
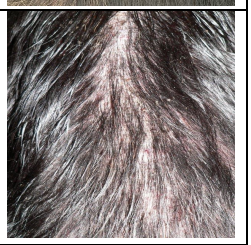
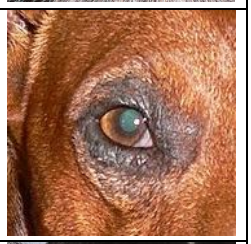
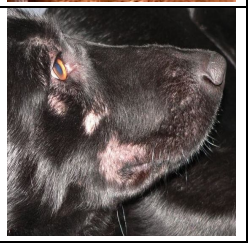
OBDOBJE ZAČETNEGA ZDRAVLJENJA		
Koncentracija alergenov	**Teden**	**Odmerek (ml)**
0,1 IE/ml	1	0,2
	2	0,4
	3	0,8
	4	1,0
1 IE/ml	5	0,2
	6	0,4
	7	0,8
	8	1,0
10 IE/ml	9	0,2
	10	0,4
	11	0,8
	13	1,0
	16	1,0
	20	1,0
OBDOBJE VZDRŽEVALNEGA ZDRAVLJENJA		
10 IE/ml	Vzdrževalni odmerek 1,0 ml vsake 4 tedne	

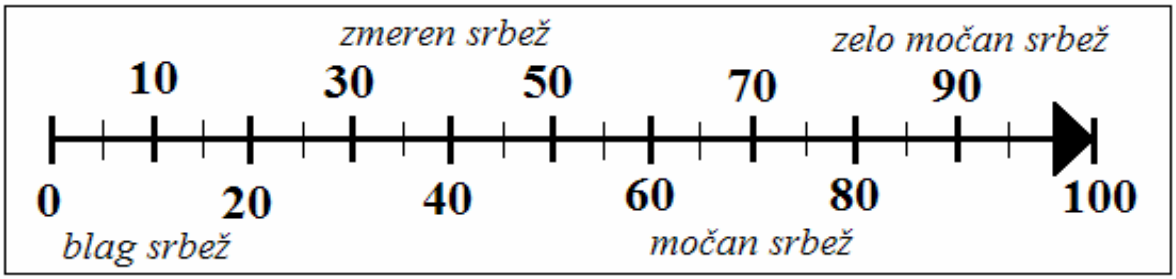
Tabela 4: CADESI-03© (ITFCAD, 2006), slovenski prevod izvirnika (85)

CADESI-03 © ITFCAD 2006 **TELESNA PODROČJA**				**Eritem**	**Lihenifikacija**	**Ekskoriacija**	**Avtotravmatska alopecija**	**SKUPAJ**
Obraz	Predušesno		1					
	Obočesno		2					
	Obustnično		3					
	Gobec		4					
	Brada		5					
Glava	Dorzalno		6					
Uhelj	Levi	Konveksna stran	7					
		Konkavna stran	8					
	Desni	Konveksna stran	9					
		Konkavna stran	10					
Vrat	Dorzalno		11					
	Ventralno		12					
	Lateralno	Levo	13					
		Desno	14					
Pazduha	Leva		15					
	Desna		16					
Prsnica			17					
Prsni koš	Dorzalno		18					
	Lateralno	Levo	19					
		Desno	20					
Ingvinalno	Levo		21					
	Desno		22					
Trebuh			23					
Ledveno	Dorzalno		24					
Bok	Levo		25					
	Desno		26					
Sprednja noga	Leva	Medialno	27					
		Lateralno	28					
		Komolec-fleksorno	29					
		Karpus-fleksorno	30					
	Desna	Medialno	31					
		Lateralno	32					
		Komolec-fleksorno	33					
		Karpus-fleksorno	34					
Sprednja šapa	Leva	Palm. metakarpalno	35					
		Dorz. metakarpalno	36					
		Palm. falangealno	37					
		Dorz. interdigitalno	38					
	Desna	Palm. metakarpalno	39					
		Dorz. metakarpalno	40					
		Palm. falangealno	41					
		Dorz. interdigitalno	42					
Zadnja noga	Leva	Medialno	43					
		Lateralno	44					
		Koleno-fleksorno	45					
		Tarzus-fleksorno	46					
	Desna	Medialno	47					
		Lateralno	48					
		Koleno-fleksorno	49					
		Tarzus-fleksorno	50					
Zadnja šapa	Leva	Plant. metatarzalno	51					
		Dorz. metatarzalno	52					
		Plant. falangealno	53					
		Dorz. interdigitalno	54					
	Desna	Plant. metatarzalno	55					
		Dorz. metatarzalno	56					
		Plant. falangealno	57					
		Dorz. interdigitalno	58					
Perianalno			59					
Perigenitalno			60					
Rep	Ventralno		61					
	Dorzalno		62					
SKUPNO (največ 1240)								

Sistem ocenjevanja: brez spremembe (0), blaga spr. (1), zmerna spr. (2, 3), močna spr. (4, 5)

Tabela 5: Umeritvena fototabela za ocenjevanje kožnih sprememb po sistemu CADESI-03

Sprememba / Stopnja	**Eritem**	**Lihenifikacija**	**Ekskoriacija**	**Avtotravmatska alopecija**
1				
2				
3				
4				
5				



Slika 2: Vizualna analogna skala za oceno srbeža

4 REZULTATI

Rezultati raziskave so zbrani v tabelah 6-21 in predstavljeni v grafih 1-4.

Tabela 6: Splošni podatki o psih, vključenih v raziskavo

PACIENT	STAROST (meseci)	SPOL	PASMA	Tel. teža (kg)
1	57	M	X	30
2	62	Ž	WHT	8
3	81	M	GR	37
4	12	Ž	X	25
5	28	Ž	GR	33
6	50	Ž	KOS	6
7	29	Ž	LR	27
8	21	M	FOR	9
9	25	M	B	47
10	18	Ž	AST	22
11	12	M	ČT	12

LEGENDA: X-mešanec, WHT-beli višavski terier, GR-zlati prinašalec, KOS-srednji koder, LR-labrador, FOR-fox terier, B-bernardinec, AST-ameriški staffordshirski terier, ČT- češki terier; M-moški spol, Ž-ženski spol

Tabela 7: Anamnestični podatki pred vključitvijo v raziskavo

	Oznaka pacienta / Anamnestični podatki	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	BIVALNO OKOLJE	R/U	R/U	U/R	U/R	U/R	U	U/R	U	R/U	U	U
2	ŽIVI V STANOVANJU / ZUNAJ	St/Z	St	St	St/Z	St	St	St	St	Z	St	St
3	STERILIZACIJA / KASTRACIJA	DA	NE	NE	DA	DA	DA	DA	NE	NE	DA	NE
4	POJAV PRVIH KLINIČNIH ZNAKOV (MESECI)	36	36	12	10	16	7	7	8	18	12	12
5	DRUŽINSKA PREDISPOZICIJA	?	?	?	DA	DA	?	?	?	DA	?	?
6	DRUGE ŽIVALI DOMA	NE	P	Pes	NE	NE	NE	M,Ž	NE	NE	NE	NE
7	OBOLELOST DRUGIH ŽIVALI ALI LJUDI	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
8	PREDHODNA ZDRAVLJENJA	G	G,T	T	NE	T	G,T	G	D	A,T	NE	D
9	MOTNJE V GONITVI / LIBIDU	/	NE	NE	/	/	/	/	NE	NE	/	NE
10	VAKCINACIJE / DEHELMINTIZACIJE	r/nr	r/nr	r/r	r/r	r/r	r/r	r/r	r/r	r/r	r/nr	r/r
11	APETIT / ŽEJA	N/N	↓/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/N	N/↑	N/↓	N/N
12	GASTROINTESTINALNE MOTNJE	DA	DA	DA	NE	DA	DA	NE	DA	NE	DA	NE
13	RESPIRATORNE MOTNJE	DA	NE	DA	NE	DA	NE	NE	DA	NE	NE	NE
14	SEZONSKI / NESEZON. SIMPTOMI	S	NS	S	S	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

LEGENDA: ?-neznano, R-ruralno okolje, U-urbano okolje, R/U-večino časa v ruralnem okolju, U/R-večino časa v urbanem okolju, P-papiga, M-mačka, Ž-želva, G-glukokortikoidi, T-topikalna terapija, A-antibiotiki, D-dieta, St-stanovanje, Z-zunaj, r-redno, nr-neredno, N- normalen, ↑-povišan, ↓-zmanjšan, S-sezonski, NS- nesezonski;

Tabela 8: Prehrana psov pred vključitvijo in v času trajanja raziskave

	Oznaka pacienta	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**
PREHRANA PRED ELIMINACIJSKO DIETO												
1	SADJE	●	●	●	●	●		●	●		●	
2	BRIKETI	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
3	PRIBOLJŠKI	●		●	●	●	●		●			
4	TESTENINE	●		●		●			●	●		
5	RIŽ	●	●	●		●	●		●	●		
6	PURANJE MESO		●			●		●	●			
7	PIŠČANČJE MESO	●	●	●	●	●	●	●	●	●		●
8	GOVEJE MESO	●	●	●	●	●	●	●	●	●		●
9	ZELENJAVA	●	●	●	●	●		●	●	●	●	
10	SIR			●	●	●	●	●	●			
11	JAJCA			●		●		●	●			
12	MESNE KONZERVE		●	●	●	●		●	●	●		
13	MLEKO				●				●			●
14	POLENTA		●			●			●			
15	SVINJSKO MESO	●		●			●	●	●	●		●
16	RIBE							●	●			
17	DIVJAČINA											
18	KRUH	●		●		●			●			
19	RACA											
ELIMINACIJSKA DIETA												
1	OVČETINA	●			●			●	●			
2	GOVEDINA											
3	SVINJINA											
4	PIŠČANEC											
5	PURAN			●	●		●			●	●	●
6	SVEŽE RIBE	●	●	●	●	●	●		●	●		●
7	KONJSKO MESO		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
8	KUNEC		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
9	DIVJAČINA	●	●	●	●	●	●	●	●	●		●
10	KOZLIČEK							●				
11	RIŽ											
12	TESTENINE											
13	POLENTA											
14	OVSENI KOSMIČI	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
15	KROMPIR	●	●		●	●		●	●	●		
16	KORUZNI ŽGANCI											
17	JEŠPRENJ	●		●		●	●	●	●	●	●	
18	RŽENA MOKA											
19	PROSENA KAŠA	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
20	AJDOVA KAŠA	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
21	AJDOVI ŽGANCI											
22	EUCANUBA DERMATOSIS FP	●		●	●	●			●	●		
23	HILL´S PRESCRIPTION DIET D/D			●			●	●				
24	HILL´S PRESCRIPTION DIET Z/D			●	●				●		●	
25	ROYAL CANIN SENSITIVITY CONTR.			●	●							

Tabela 9: Rezultati seroloških alergijskih testov (Alergovet S.L., Španija)

Oznaka pacienta / Alergeni	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
MEŠANICE PELODOV TRAV											
Travna mešanica I (*Lolium, Phleum, Dactylis, Poa, Festuca*)					++			+		+	++
Travna mešanica II (*Cynodon, Agrostis, Agropyron, Holcus*)					+		+	+		+	+
Travna mešanica III (*Zea, Triticum, Avena, Hordeum, Secale*)					++			+		+	++
PLEVELI											
Plantago lanceolata						+					
Artemisia vulgaris						+					+
Chaenopodium album						+				+	++
Taraxacum vulgare	+										
Urtica dioica											
Chrysanthemum leucanthemum											
Ambrosia elatior					+	+	+				+
DREVESA											
Drevesna mešanica					++			+			+
Pinus sylvestris	+										
Ligustrum vulgare					mejna						mejna
Cupressus sempervirens											
Platanus vulgaris											
Populus alba											mejna
Quercus robur					++						+
Robinia pseudoacacia											
Tilia platyphyllos											
Salix caprea											
GLIVE											
Alternaria spp.											
Aspergillus spp.											
Penicillium spp.											
Cladosporium spp.											
Mucor racemosus											
Pullularia pullulans											
EPITELIJ IN PRHLJAJ											
Pasji in mačji prhljaj											
Perje											
PRŠICE											
Dermatophagoides pteronyssinus	mejna								+		
Dermatophagoides farinae	+	+	++	+	++	+			+		
Prehranske pršice	+	+	+	+	+	+			+		
BOLHE											
Bolhe											

LEGENDA: +-pozitivna reakcija, ++-visoko pozitivna reakcija, mejna-mejna vrednost; *Lolium sp.*-ljulka, *Phleum sp.*-mačji rep, *Dactylis sp.*-pasja trava, *Poa sp.*-latovka, *Festuca sp.*-bilnica, *Cynodon sp.*-pesjak, *Agrostis sp.*-šopulja, *Agropyron sp.*-pirnica, *Holcus sp.*-medena trava, *Zea sp.*-koruza, *Triticum sp.*-pšenica, *Avena sp.*-oves, *Hordeum sp.*-ječmen, *Secale sp.*-rž, *Plantago lanceolata*-ozkolistni trpotec, *Artemisia vulgaris*-navadni pelin, *Chaenopodium album*-bela metlika, *Taraxacum vulgare*-navadni regrat, *Urtica dioica*-velika kopriva, *Chrysanthemum leucanthemum*-navadna ivanjščica, *Ambrosia elatior*-navadna ambrozija, *Pinus sylvestris*-rdeči bor, *Ligustrum vulgare*-navadna kalina, *Cupressus sempervirens*-cipresa, *Platanus vulgaris*-navadna platana, *Populus alba*-beli topol, *Quercus robur*-poletni hrast (dob), *Robinia pseudoacacia*-navadna robinija (neprava akacija), *Tilia platyphyllos*-lipa (velikolistna), *Salix caprea*-vrba iva.

Tabela 10: Izpolnjevanje vključitvenih kriterijev

	Oznaka pacienta										
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**
***MAJOR* KRITERIJI**											
Prisotnost srbeža	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Spremembe na obrazu/stopalih	●	●	●	●		●		●	●	●	●
Lihenifikacija na tarzusu/karpusu		●	●								
Kronični dermatitis	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Znana pasemska predispozicija		●	●		●	●	●	●		●	●
Znana družinska predispozicija				●	●				●		
***MINOR* KRITERIJI**											
Pozitivni serološki alerg. Testi	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Pozitivni intraderm. alerg. Testi											
Prvi znaki med 6. mes. in 3. letom	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Bakterijski konjunktivitis	●		●					●			
Površinsko gnojno vnetje kože		●	●	●					●		
Eritem obraza		●			●	●	●	●		●	●
Hiperhidroza						●					

Tabela 11: Vzporedni pojavi in neželeni stranski učinki pri zdravljenju z metilprednizolonom

Oznaka pacienta / Pojav	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**
OTITIS EXTERNA		●			●						
POVRŠINSKA PIODERMIJA						●					
MALASEZIJSKI DERMATITIS			●				●				
RESPIRATORNE TEŽAVE					●			●			
GASTROINTESTINALNE TEŽAVE					●						
DEMODIKOZA											
POLIURIJA/POLIDIPSIJA				●			●			●	

Vzporedni pojavi in neželeni stranski učinki v času zdravljenja z metilprednizolonom

Po enem mesecu zdravljenja z metilprednizolonom je citološka preiskava brisa iz desnega sluhovoda pri **psu št. 2** pokazala prisotnost paličastih bakterij. Predpisana je bila 14-dnevna terapija s kombinacijo betametazona, gentamicina in klotrimazola v obliki kapljic za uho (Otomax; Shering-Plough Animal Health, Francija).

Citološka preiskava kožnega brisa karpusa in stopala pri **psu št. 3** je pokazala prisotnost večjega števila kvasovk *Malassezia pachydermatis* (3-15/OIF). Predpisana je bila terapija z oblivki enilkonazola (Zoniton; Krka, Slovenija, v sodelovanju z Janssen Pharmaceutica N.V., Belgija) 2-krat tedensko.

Po enem mesecu dajanja metilprednizolona so lastniki **psa št. 4** poročali o intenzivni poliuriji in nočni inkontinenci. Dovolili smo prehod na dajanje zdravila na 72 ur, vendar je lastnik po enem tednu sporočil, da se je srbež močno povečal, po trebuhu in stegnih pa so se pojavili papulokrustozni izpuščaji. Pojavila se je tudi kratkotrajna, delno krvava driska. Svetovali smo ponoven prehod na 48-urno dajanje zdravila. O inkontinenci kasneje lastniki niso več poročali.

Respiratorne in gastrointestinalne težave so bile opisane pri **psu št. 5**. Ko se je psica zvečer umirila, ji je postalo slabo, začela je hlastati za zrakom, jedla je travo in pogosto bruhala. Istočasno se je pojavila tudi tekoča driska. To vedenje, ki je pri psici trajalo že kakšno leto pred vključitvijo v raziskavo in se je v povprečju pojavljalo približno 2-krat mesečno, so lastniki označili kot *napade*, ki so bili pred začetkom raziskave pogostejši. Zaradi teh težav je psica že bila pri lokalnem veterinarju, kjer je bil ugotovljen nekoliko zožen lumen sapnika. Pregled brisa levega zunanjega sluhovoda je razkril prisotnost številnih kokov. Predpisali smo terapijo s suspenzijo ušesne raztopine, ki je vsebovala propilen glikol, mlečno kislino, salicilno kislino, paraklorometaksilenol, hitozanid in dokuzit natrij (Epi-Otic, Virbac Animal Health, Francija) in 5% raztopine enrofloksacina (Enroxil; Krka, Slovenija) v razmerju 6:1 (106).

Pri **psu št. 6** so se v prvem mesecu zdravljenja z metilprednizolonom pojavljale drobne pustule, predvsem po trebuhu. Citološka preiskava odtisa vsebine pustule je pokazala prisotnost nevtrofilnih granulocitov s fagocitozo kokov. Predpisali smo terapijo z neomicinom in bacitracinom v obliki mazila (Bivacyn; Lek, Slovenija). Ob kontrolnem pregledu čez 1 mesec je bila težava sanirana.

Pri **psu št. 7** je bila opisana poliurija, vendar nadzorovana. Po dveh mesecih zdravljenja z metilprednizolonom je bila opazna nekoliko večja prhljajavost kože. Citološka preiskava kožnega brisa s hrbta je razkrila prisotnost kvasovke *M. pachydermatis* (4-5/OIF). Predpisani so bili oblivki z raztopino enilkonazola (Zoniton; Krka, Slovenija, v sodelovanju z Janssen Pharmaceutica N.V., Belgija) 2-krat tedensko. Citološka preiskava ob naslednjem pregledu je pokazala epitelne celice in odsotnost *M. pachydermatis*.

Pri **psu št. 9** se je pozitiven učinek metilprednizolona pojavil razmeroma pozno, proti koncu drugega meseca zdravljenja.

Tabela 12: Vzporedni pojavi med obdobjem čiščenja

Pojav \ **Oznaka pacienta**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**
OTITIS EXTERNA	●	●									
POVRŠINSKA PIODERMIJA											
MALASEZIJSKI DERMATITIS		●									
DEMODIKOZA											
GENERALIZIRAN SRBEŽ	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

Vzporedni pojavi med obdobjem čiščenja

Pes št. 1 se je približno 1 teden po prenehanju zdravljenja z metilprednizolonom začel intenzivneje praskati. Ob kontrolnem pregledu po 1 mesecu brez antipruritične terapije je bilo ugotovljeno obojestransko močno vnetje zunanjih sluhovodov. Citološka preiskava razmaza brisov iz obeh sluhovodov je pokazala prisotnost kvasovke *Malassezia pachydermatis* (0-2/OIF). Predpisana je bila 10-dnevna terapija s kombinacijo mikonazola, polimiksina B in prednizolona v obliki kapljic za uho (Otonazol; Krka, Slovenija, v sodelovanju z Janssen Pharmaceutica N.V., Belgija).

Citološka preiskava kožnega brisa s pete in upogibnega dela komolca je pri **psu št. 2** pokazala prisotnost kvasovke *M. pachydermatis* (0-2/OIF). Po koncu obdobja čiščenja smo svetovali uporabo ušesnih kapljic Otonazol po potrebi, uporabo kombinacije heksetidina, prednizolon acetata in benzokaina v obliki spreja (Hexiderm; Fort Dodge Veterinaria SA, Španija), ki se ga 1-2-krat dnevno nanese na avtotravmatizirana mesta. Svetovali smo uporabo šampona na osnovi alfa ketoglutarne kisline, mlečne kisline in žajbljevega glikolnega ekstrakta (Save Derm; Industria Chimica Fine, Italija) 1-2-krat tedensko.

Tabela 13: Vzporedni pojavi in neželeni stranski učinki med zdravljenjem s specifično imunoterapijo

Pojav \ **Oznaka pacienta**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**
OTITIS EXTERNA	●	●	●		●						
POVRŠINSKA PIODERMIJA			●	●		●					
MALASEZIJSKI DERMATITIS											
RESPIRATORNE TEŽAVE					●						
GASTROINTESTINALNE TEŽAVE	●			●	●					●	
DEMODIKOZA											
LOKALIZIRAN SRBEŽ/ERITEM	●			●		●	●	●	●	●	●
GENERALIZIRAN SRBEŽ/ERITEM		●			●						
KONJUNKTIVITIS						●	●	●		●	●
DRUGO											●

Vzporedni pojavi in neželeni stranski učinki v obdobju zdravljenja s specifično imunoterapijo

Pri **psu št. 1** so lastniki 2 meseca po pričetku specifične imunoterapije poročali o otresanju z glavo in intenzivnejšem izpadanju dlake. Ugotovljena je bila močna rdečina zunanjih sluhodov in predpisano zdravljenje s kapljicami Otonazol vsak 2. dan. S citološko preiskavo brisa obeh sluhovodov je bila ugotovljena prisotnost kvasovke *M. pachydermatis* (0-2/OIF) v obeh sluhovodih. Lastniki so po aplikaciji 1 ml cepiva v koncentraciji 10 IE/ml (13. teden imunoterapije) poročali o prehodni driski, zato smo svetovali vrnitev na predhodni odmerek 0,8 ml in ponovitev postopka od 11. tedna naprej. Ob aplikacijah cepiva je pes kazal znake srbeža na mestu aplikacije in je bil dan po aplikaciji precej umirjen.

Lastniki **psa št. 2** so po enem mesecu imunoterapije poročali, da se stanje slabša kljub podporni terapiji z glukokortikoidi za lokalno zdravljenje in antipruritičnim šamponom in podvomili v nadaljevanje zdravljenja, ki bi moralo v skladu z raziskavo potekati brez sistemske uporabe glukokortikoidov. Iz etičnih razlogov je psica pričela dobivati metilprednozolon po shemi in je bila zato izključena iz raziskave. Z imunoterapijo je kljub vsemu nadaljevala, vendar po prilagojeni shemi, kar je bilo potrebno zaradi intenzivnih pruritičnih reakcij po aplikaciji zdravila. Po 14 dneh so lastniki sporočili, da je dajanje metilprednizolona 1-krat dnevno zadostovalo za obvladovanje srbeža, dajanje vsakih 48 ur pa ne več. Odredili smo nadaljevanje zdravljenja z aplikacijami metilprednizolona vsakih 48 ur in dodatno zdravljenje z antihistaminikom feksofenadinom (Telfast; Sanofi-Aventis, Francija) v odmerku 20 mg/kg/24h PO. Citološka preiskava brisa levega sluhovoda po 2 mesecih je pokazala prisotnost kvasovke *M. pachydermatis*. Ob že obstoječi terapiji smo predpisali še ušesne kapljice Otonazol. Ob 9. kontrolnem obisku so lastniki poročali o težkem dihanju, sopenju in pogostejšem uriniranju. Predpisana je bila inhalacijska terapija s salbutamolom (Ventolin; GlaxoSmithKline, Velika Britanija) po potrebi. Medtem smo zdravljenje s feksofenadinom ukinili, zdravljenje z metilprednizolonom pa nadaljevali. Ob naslednjem kontrolnem obisku so lastniki povedali, da je bila psica pri lokalnem veterinarju zaradi uroinfekta zdravljena s trimetoprim/sulfametoksazolom (Primotren; Lek, Slovenija) v odmerku 30 mg/kg/12h PO 10 dni. Težko dihanje je bilo še zmeraj prisotno. Lastniki so povedali, da so medtem kljub našim predhodnim opozorilom pričeli dajati metilprednizolon vsak dan. Biokemijska preiskava seruma je pokazala povišane vrednosti sečnine (13,5 mmol/l), kreatinina (166,0 µmol/l) in alkalne fosfataze (350,0 U/l), medtem ko je bila vrednost serumske ALT (76,0 U/l) v fizioloških mejah. Psica se je od vključitve tudi zredila

za 1,3 kg. Zaradi zaznavne tendence razvoja iatrogenega hiperadrenokorticizma smo predpisali alternativni, dolgodelujoči glukokortikoid betametazon (Bentelan; Glaxo Welcome, Italija) v odmerku 0,025 mg/kg/72 ur PO (65).

Pri **psu št. 3** je bila po enem mesecu imunoterapije ugotovljena ekskoriacija s seroznim eksudatom na dorzalni strani karpalnega sklepa leve šape. Mikroskopski pregled odtisa s predmetnim stekelcem je pokazal številne eozinofilne granulocite. Predpisana je bila topikalna terapija z betametazonom in gentamicinom v obliki mazila (Kuterid G; Krka, Slovenija) 2-krat dnevno. Čez en mesec je preiskava kožnega brisa istega mesta pokazala številne nevtrofilne granulocite in maloštevilne koke. Predpisana je bila terapija z mazilom Bivacyn. Ob 10. kontrolnem pregledu je bilo ugotovljeno močno eksudativno vnetje desnega zunanjega sluhovoda. Citološka preiskava brisa sluhovoda je pokazala številne kvasovke *M. pachydermatis.* Predpisana je bila terapija z kapljicami za uho Otonazol. Dlaka je bila videti precej bolj lesketajoča in na splošno bolj kvalitetna kot na začetku terapije.

Pri **psu št. 4** smo občasno pojavljanje papulokrustoznih kožnih eflorescenc po potrebi tretirali z mazilom Kuterid G. Lastniki so poročali o blago povečani rdečini kože po aplikaciji cepiva. Občasno se je pojavljala kratkotrajna driska. Kljub temu pa so lastniki poročali o bolj živahnem vedenju psice. 2 tedna pred zadnjim kontrolnim obiskom se je ponovno pojavil intenzivnejši srbež in papulokrustozni izpuščaji po celem telesu. Nekaj dni pred tem je psico napadel drug pes, od takrat je bila precej bolj plašna. Glede na intenziteto srbeža smo psici ob zaključku raziskave predpisali 14-dnevno dajanje metilprednizolona po shemi.

Po treh mesecih imunoterapije se je **pri psu št. 5** še vedno pojavljalo nočno hlastanje za zrakom v kombinaciji z driskami. Ker se srbež ni umiril niti po uporabi topikalnega antipruritičnega šampona z izvlečkom ovsa, glicerinom in hitozanidom (Allercalm; Virbac Animal Health, Francija), je začela psica ob imunoterapiji dobivati še sistemski antihistaminik Telfast v odmerku 10 mg/kg/24h in je bila zato po 3 mesecih imunoterapije izključena iz raziskave. Zaradi nevzdržnega srbeža in eritematoznih reakcij smo shemo imunoterapije prilagodili na tedensko apliciranje nižjih odmerkov vakcine. Bris zunanjega sluhovoda je pokazal prisotnost večjega števila kvasovk *M. pachydermatis*, zato smo predpisali tudi kapljice za uho Otonazol. Pri psici je bil vseskozi opazen močnejši eritem na levi strani telesa kot na desni. Ker se je bolezen na koncu raziskave izkazala za slabo odzivno tako na

sistemsko simptomatsko terapijo kot tudi na specifično imunoterapijo, so se lastniki odločili za alternativno bioresonančno metodo zdravljenja.

Pri **psu št. 6** se je po poročanju lastnikov 24 ur po aplikaciji odmerka 0,8 ml zdravila koncentracije 0,1 IE/ml (3. teden imunoterapije) pojavil blefaritis in izpuščaji okrog vulve ter intenziven srbež telesa. Uporabili so mazilo Kuterid G. Svetovali smo, naj naslednji teden ponovijo odmerek 0,8 ml nato pa z imunoterapijo nadaljujejo po predpisani shemi. Sčasoma se je stanje ob imunoterapiji in občasni topikalni terapiji izboljšalo. Kasneje so lastniki opažali, da se je psica ob štiritedenskem razmiku med aplikacijami cepiva tri tedne po apliciranem odmerku začela intenzivneje praskati, pojavili pa so se tudi papulokrustozni izpuščaji. Po aplikaciji ponovnega odmerka se je stanje vedno stabiliziralo. Svetovali smo zmanjšanje intervala vzdrževalnih odmerkov na vsake 3 tedne, kar v takih primerih svetuje tudi literatura (27).

Pri **psu št. 7** je bil ob pričetku imunoterapije opazen serozen izcedek iz desnega očesa in rahla prhljajavost kože. Po aplikaciji zdravila so lastniki opazili rdečino na trebuhu, ki je izginila po 24 urah. Ob koncu raziskave in večjih časovnih razmikih med apliciranimi odmerki so lastniki poročali o enakih opažanjih kot pri psici št. 6.

Pri **psu št. 8** je bil ob začetnih aplikacijah cepiva opažen rahel serozen izcedek iz levega očesa, intenzivnejši srbež sprednjih nog in občasne kratkotrajne driske. Pes je enkrat bruhal rumeno sluz, vendar ne neposredno po aplikaciji zdravila. Občasno so se na glavi pojavili manjši papulokrustozni izpuščaji, ki so jih lastniki zdravili z mazilom Kuterid G.

Pri **psici št. 10** so bile v času imunoterapije občasno opažene drobne papule in rahel prhljaj ter serozen izcedek iz očesa. Lastniki so poročali o poslabšanju simptomov in močnejšem srbežu v zimskem času ob začetku kurilne sezone.

Pri **psu št. 11** je bila po enem mesecu imunoterapije na zasebni veterinarski kliniki na podlagi rektalne palpacije in ultrazvočnega pregleda ugotovljena povečana in boleča prostata. Pes je zato tri tedne dobival enrofloksacin (Enroxil; Krka, Slovenija) v odmerku 5 mg/kg/dan PO in finasterid (Prostide; MSD IDEA Inc., Švica) v odmerku 0,1 mg/kg/dan PO. Ob kontrolnem ultrazvočnem pregledu je bila postavljena diagnoza benigne hiperplazije prostate in svetovana

kastracija. Pes je bil 3 mesece po pričetku imunoterapije kastriran. Imunoterapija je potekala nemoteno.

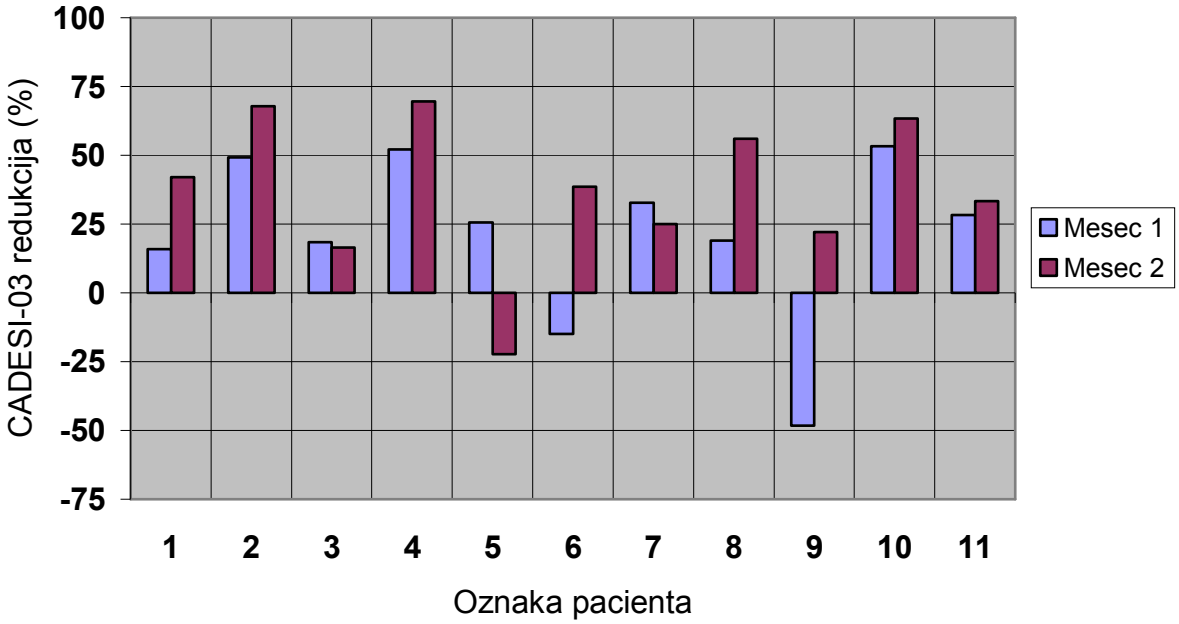
Tabela 14: Potreba po podporni terapiji v času zdravljenja s specifično imunoterapijo

Oznaka pacienta / Terapija	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
TOPIKALNA TERAPIJA	●	●	●	●	●	●		●			●
ANTIBIOTIKI											●
ESENCIALNE MAŠČ. KISLINE											
ANTIHISTAMINIKI		●			●						
SISTEMSKI GLUKOKORTIKOIDI		●									

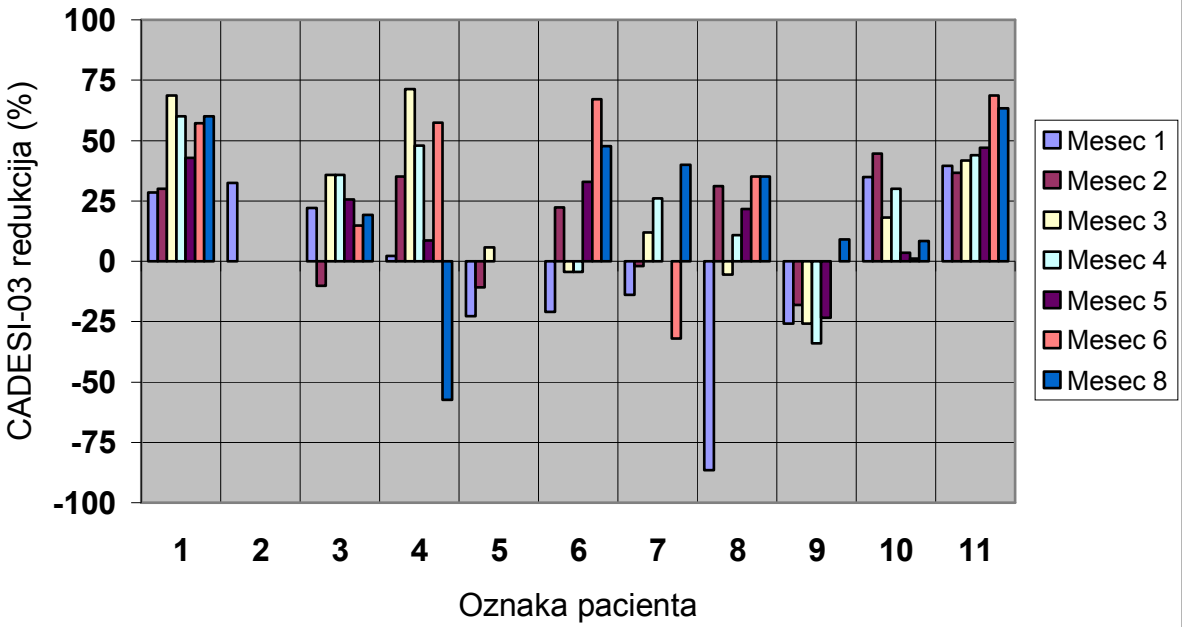
Tabela 15: Vrednosti CADESI-03 pri vseh pacientih v času trajanja raziskave

Pacient / Mesec	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ZDRAVLJENJE Z METILPREDNIZOLONOM – SKUPINA M											
0.	**69**	**289**	**103**	**69**	**94**	**101**	**52**	**168**	**145**	**109**	**111**
1.	**58**	**147**	**84**	**33**	**70**	**116**	**35**	**136**	**215**	**51**	**79**
2.	**40**	**93**	**86**	**21**	**115**	**62**	**39**	**74**	**113**	**40**	**74**
ZDRAVLJENJE S SPECIFIČNO IMUNOTERAPIJO – SKUPINA I											
0.	**70**	**252**	**109**	**94**	**176**	**67**	**50**	**74**	**132**	**83**	**134**
1.	**50**	**170**	**85**	**92**	**216**	**81**	**57**	**138**	**166**	**54**	**81**
2.	**49**	174	**120**	**61**	**195**	**52**	**51**	**51**	**156**	**46**	**85**
3.	**22**	199	**70**	**27**	**166**	**70**	**44**	**78**	**166**	**68**	**78**
4.	**28**	234	**70**	**49**	146	**70**	**37**	**66**	**177**	**58**	**75**
5.	**40**	277	**81**	**86**	171	**45**	**50**	**58**	**163**	**80**	**71**
6.	**30**	289	**93**	**40**	188	**22**	**66**	**48**	**132**	**82**	**42**
8.	**28**	210	**88**	**148**	146	**35**	**30**	**48**	**120**	**76**	**49**

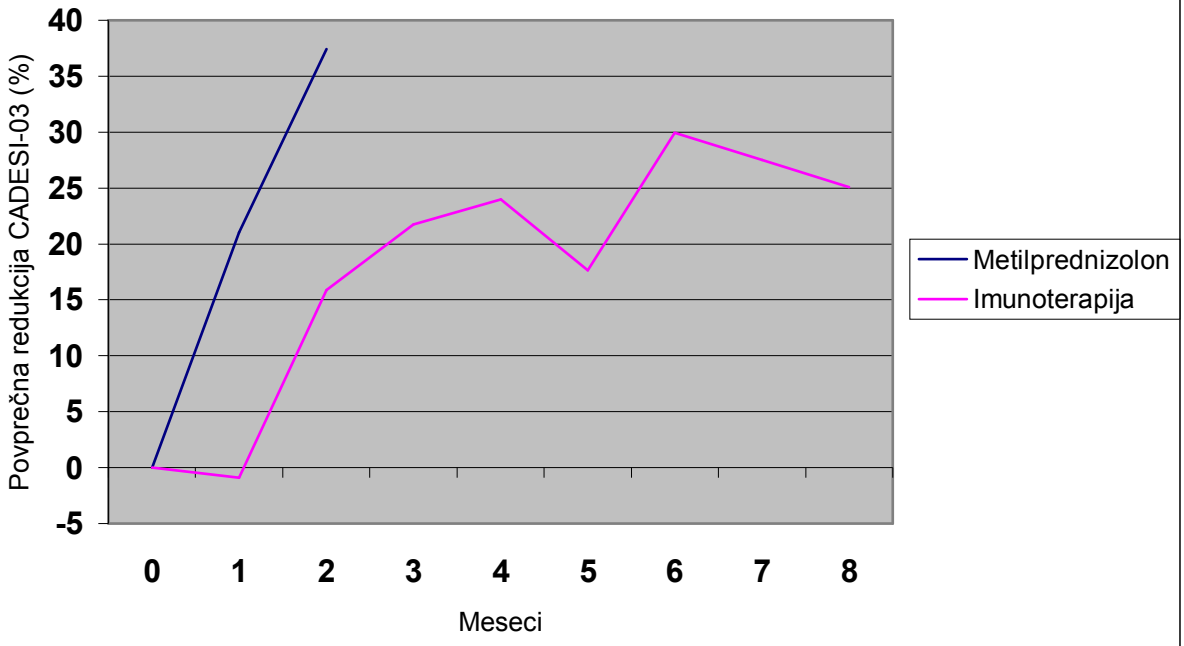
Legenda: S svetlejšo barvo so označene vrednosti pri pacientih, ki sta bila izključena iz raziskave, in ki niso bile upoštevane pri statistični obdelavi rezultatov



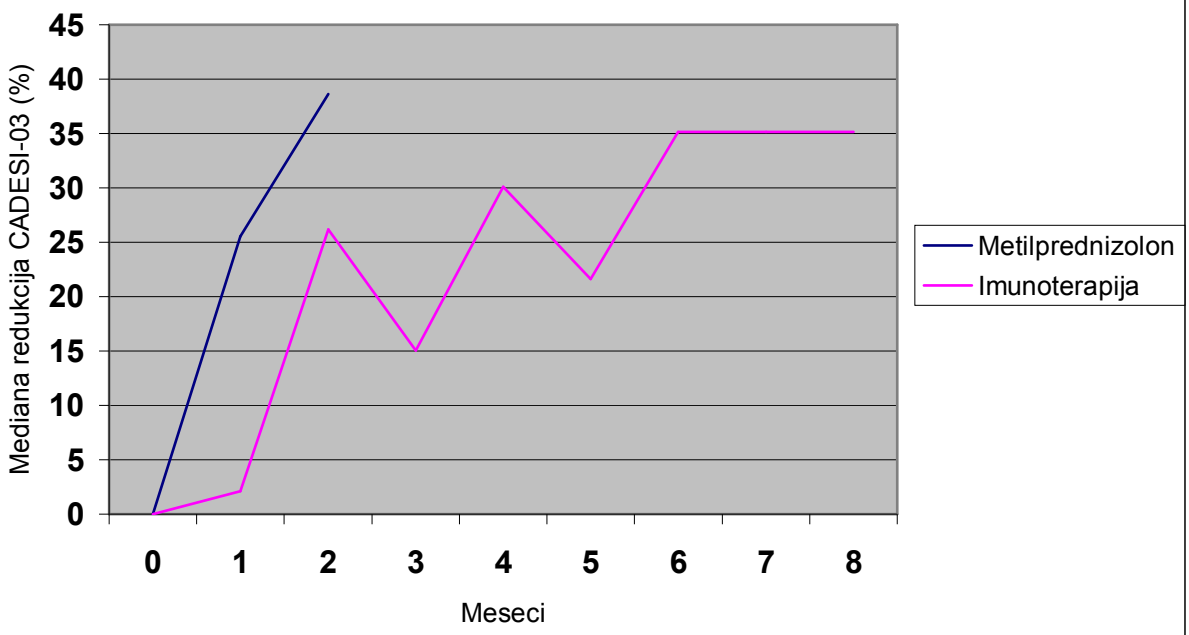
Graf 1: Redukcija CADESI-03 (v %) glede na izhodiščno vrednost v času zdravljenja z metilprednizolonom (skupina M)



Graf 2: Redukcija CADESI-03 (v %) glede na izhodiščno vrednost v času zdravljenja s specifično imunoterapijo (skupina I)



Graf 3: Povprečna vrednost redukcij CADESI-03 pri zdravljenju z metilprednizolonom in specifično imunoterapijo v odvisnosti od časa



Graf 4: Središčna vrednost redukcij CADESI-03 pri zdravljenju z metilprednizolonom in specifično imunoterapijo v odvisnosti od časa

Tabela 16: Ocena jakosti srbeža (v %) na vizualni analogni skali, podana s strani lastnikov

Pacient / Mesec	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ZDRAVLJENJE Z METILPREDNIZOLONOM – SKUPINA M											
0.	**50**	**100**	**70**	**50**	**100**	**70**	**90**	**40**	**90**	**70**	**100**
1.	**0**	**10**	**30**	**10**	**70**	**20**	**10**	**20**	**50**	**10**	**60**
2.	**0**	**10**	**10**	**0**	**60**	**0**	**10**	**10**	**20**	**0**	**30**
ZDRAVLJENJE S SPECIFIČNO IMUNOTERAPIJO – SKUPINA I											
0.	**50**	**40**	**20**	**80**	**90**	**30**	**20**	**20**	**80**	**0**	**100**
1.	**20**	**60**	**0**	**40**	**100**	**30**	**10**	**20**	**40**	**0**	**50**
2.	**10**	50	**10**	**20**	**100**	**30**	**10**	**40**	**40**	**0**	**30**
3.	**10**	30	**10**	**30**	**100**	**40**	**10**	**30**	**30**	**10**	**30**
4.	**10**	50	**10**	**50**	90	**50**	**10**	**30**	**30**	**10**	**30**
5.	**20**	20	**20**	**60**	50	**10**	**10**	**20**	**30**	**40**	**20**
6.	**10**	0	**10**	**50**	90	**10**	**40**	**20**	**40**	**50**	**20**
8.	**10**	40	**20**	**100**	100	**10**	**20**	**20**	**30**	**20**	**20**

Legenda: S svetlejšo barvo so označene vrednosti pri pacientih, ki sta bila izključena iz raziskave, in niso bile upoštevane pri statistični obdelavi rezultatov

Tabela 17: Vrednosti sečnine v serumu (v mmol/l) ob posameznih kontrolnih pregledih. Referenčne vrednosti: 3,3-8,3 mmol/l (91)

Pacient / Mesec	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ZDRAVLJENJE Z METILPREDNIZOLONOM – SKUPINA M											
0.	**7,2**	**5,8**	**3,9**	**6,6**	**6,4**	**5,4**	**4,9**	**6,7**	**4,7**	**3,8**	**3,3**
1.	**11,0 ↑**	**7,9**	**3,4**	**4,1**	**8,3**	**5,1**	**2,2 ↓**	**9,7 ↑**	**7,1**	**3,5**	**3,0**
2.	**11,3 ↑**	**11,4 ↑**	**3,8**	**6,0**	**4,5**	**7,5**	**2,0 ↓**	**5,0**	**4,3**	**5,3**	**5,0**
ZDRAVLJENJE S SPECIFIČNO IMUNOTERAPIJO – SKUPINA I											
0.	**7,8**	**5,6**	**4,2**	**7,0**	**5,3**	**7,0**	**3,1**	**8,5 ↑**	**5,4**	**5,7**	**4,5**
2.	**10,2 ↑**	5,0	**4,9**	**9,6 ↑**	**8,5 ↑**	**9,1 ↑**	**4,1**	**7,3**	**6,6**	**4,1**	**4,1**
4.	**5,0**	9,4 ↑	**5,0**	**7,1**	5,9	**11,3 ↑**	**6,2**	**7,3**	**6,3**	**3,7**	**5,1**
6.	**7,0**	13,5 ↑	**5,1**	**6,7**	8,3	**7,4**	**4,1**	**6,5**	**5,1**	**4,3**	**5,2**

Legenda: S svetlejšo barvo so označene vrednosti pri pacientih, ki sta bila izključena iz raziskave, in niso bile upoštevane pri statistični obdelavi rezultatov. ↑ - vrednost, višja od normalne; ↓ - vrednost, nižja od normalne.

Tabela 18: Vrednosti kreatinina v serumu (v µmol/l) ob posameznih kontrolnih pregledih. Referenčne vrednosti: 44-132 µmol/l (92)

Pacient / Mesec	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ZDRAVLJENJE Z METILPREDNIZOLONOM – SKUPINA M											
0.	**148,2 ↑**	**80,1**	**92,5**	**64,4**	**102,8**	**89,0**	**78,3**	**83,9**	**89,3**	**162,7 ↑**	**74,4**
1.	**111,5**	**73,9**	**97,7**	**129,9**	**133,5 ↑**	**68,5**	**92,2**	**144,1 ↑**	**87,1**	**95,9**	**77,5**
2.	**87,4**	**73,0**	**69,0**	**99,0**	**98,5**	**83,4**	**89,9**	**94,4**	**95,6**	**125,3**	**63,9**
ZDRAVLJENJE S SPECIFIČNO IMUNOTERAPIJO – SKUPINA I											
0.	**52,3**	**69,4**	**135,6 ↑**	**106,6**	**154,0 ↑**	**81,9**	**102,7**	**105,0**	**104,9**	**122,4**	**69,5**
2.	**124,5**	51,4	**93,5**	**100,0**	**139,0 ↑**	**83,2**	**121,5**	**83,1**	**112,4**	**174,3 ↑**	**69,3**
4.	**135,8 ↑**	79,4	**97,4**	**102,9**	102,2	**88,2**	**106,4**	**82,0**	**107,5**	**119,0**	**87,9**
6.	**105,0**	166,0 ↑	**107,7**	**100,3**	142,2 ↑	**86,6**	**105,3**	**93,6**	**103,4**	**108,0**	**87,2**

Legenda: S svetlejšo barvo so označene vrednosti pri pacientih, ki sta bila izključena iz raziskave, in niso bile upoštevane pri statistični obdelavi rezultatov. ↑ - vrednost, višja od normalne.

Tabela 19: Vrednosti serumske AP (v U/l) ob posameznih kontrolnih pregledih. Referenčne vrednosti: 20-156 U/l (92)

Pacient / Mesec	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ZDRAVLJENJE Z METILPREDNIZOLONOM – SKUPINA M											
0.	**22,5**	**41,6**	**34,5**	**40,2**	**48,4**	**11,7**	**24,6**	**33,4**	**45,4**	**45,0**	**57,4**
1.	**65,5**	**124,9**	**33,5**	**43,5**	**68,4**	**31,5**	**31,2**	**28,2**	**73,0**	**129,5**	**35,1**
2.	**56,2**	**81,8**	**38,0**	**37,6**	**60,8**	**31,0**	**29,4**	**27,6**	**36,3**	**70,0**	**32,6**
ZDRAVLJENJE S SPECIFIČNO IMUNOTERAPIJO – SKUPINA I											
0.	**28,6**	**45,2**	**37,2**	**35,7**	**41,7**	**20,3**	**25,3**	**19,9**	**24,4**	**59,2**	**35,0**
2.	**35,0**	101,5	**78,9**	**37,8**	**38,0**	**20,9**	**27,1**	**32,9**	**32,9**	**69,4**	**32,5**
4.	**28,9**	98,0	**30,8**	**24,0**	48,1	**19,7**	**30,8**	**18,8**	**32,2**	**104,0**	**28,4**
6.	**23,0**	350,0 ↑	**27,1**	**31,3**	38,1	**16,2**	**34,4**	**8,9**	**30,9**	**70,9**	**33,7**

Legenda: S svetlejšo barvo so označene vrednosti pri pacientih, ki sta bila izključena iz raziskave, in niso bile upoštevane pri statistični obdelavi rezultatov. ↑ - vrednost, višja od normalne.

Tabela 20: Vrednosti ALT v serumu (v U/l) ob posameznih kontrolnih pregledih. Referenčne vrednosti: 21-102 U/l (92)

Pacient / Mesec	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ZDRAVLJENJE Z METILPREDNIZOLONOM – SKUPINA M											
0.	**73,3**	**55,7**	**73,0**	**42,8**	**55,3**	**53,7**	**63,8**	**49,7**	**123,6 ↑**	**35,7**	**45,1**
1.	**79,5**	**31,3**	**74,9**	**42,0**	**43,3**	**35,3**	**37,1**	**43,9**	**114,6 ↑**	**78,5**	**77,0**
2.	**57,9**	**27,4**	**100,0**	**51,8**	**38,2**	**37,2**	**49,1**	**99,4**	**42,3**	**46,8**	**53,3**
ZDRAVLJENJE S SPECIFIČNO IMUNOTERAPIJO – SKUPINA I											
0.	**65,3**	**42,5**	**106,9 ↑**	**35,5**	**30,0**	**44,0**	**52,5**	**60,3**	**47,4**	**39,9**	**41,7**
2.	**57,7**	43,8	**106,2 ↑**	**45,9**	**42,0**	**28,3**	**62,0**	**60,9**	**61,7**	**69,4**	**42,2**
4.	**58,5**	38,7	**70,4**	**40,0**	35,3	**30,4**	**57,0**	**61,4**	**49,4**	**30,0**	**43,8**
6.	**60,6**	76,0	**61,1**	**36,3**	36,9	**41,5**	**53,5**	**45,1**	**42,8**	**71,4**	**42,6**

Legenda: S svetlejšo barvo so označene vrednosti pri pacientih, ki sta bila izključena iz raziskave, in niso bile upoštevane pri statistični obdelavi rezultatov. ↑ - vrednost, višja od normalne.

Tabela 21: Zadovoljstvo lastnikov psov z učinkom specifične imunoterapije po osmih mesecih zdravljenja

Oznaka pacienta / Ocena učinka	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**
Ni bilo učinka – 0		●			●						
Slab učinek – 1									●	●	
Zadovoljiv učinek – 2			●	●							
Dober učinek – 3	●							●			●
Odličen učinek – 4						●	●				

5 RAZPRAVA

Pojavnost (prevalenca) atopičnega obolenja (astma, alergijski rinitis, atopični dermatitis) pri ljudeh v zadnjih desetletjih vztrajno narašča in trenutno v razvitih državah že presega 30% (3), za atopičnim dermatitisom pa naj bi oboleval že vsak 10. otrok (93). Ta trend so strokovnjaki tesno povezali z naslednjimi sodobnimi dejavniki: povečana izpostavljenost alergenom v zaprtih prostorih (kot so npr. hišne pršice), povečana izpostavljenost zdravju škodljivim onesnaževalcem okolja, zmanjšano povprečno število družinskih članov, zmanjšana izpostavljenost mikroorganizmom in infekcijam v mladosti, vse večja urbanizacija okolja in spreminjanje prehranskih navad (93). Večina izmed naštetih dejavnikov je značilna tudi za življenjsko okolje psov, pri čemer lahko kot pomembne vzroke za vse večjo pojavnost atopičnega dermatitisa pri psih izpostavimo tudi redna cepljenja, ki lahko povečajo produkcijo protiteles IgE, in pogostejše odpravljanje zunanjih in notranjih zajedavcev s strani lastnikov (podrobneje razloženo v nadaljevanju). Predvidevamo, da ima določen vpliv na povečano pojavnost atopičnega dermatitisa pri psih tudi vse večja popularnost pasemskih psov s posledično strogo selekcijo in povečano možnostjo genskih mutacij (18).

V našo raziskavo je bilo vključenih 11 psov – pacientov dermatološke ambulante KKMŽ, pri katerih smo postavili diagnozo atopični dermatitis. Zaradi narave raziskave, ki je že v izhodišču pogojevala redno in relativno dolgo, vsaj osemmesečno spremljanje pacientov, zdravljenih s specifično imunoterapijo, smo postopek raziskave racionalizirali ter jo zasnovali na enotni skupini 11 psov, ki je v začetku raziskave služila kot kontrolna skupina (skupina M, dva meseca zdravljena z metilprednizolonom) in po enomesečnem obdobju čiščenja kot preiskovana skupina (skupina I, osem mesecev zdravljena z imunoterapijo). Glavna prednost principa enotne kontrolno-preiskovane skupine je bila izključitev individualnih razlik med dvema različnima vzorcema živali (na katerih temelji večina drugih raziskav) in njihovega vpliva na objektivnost primerjalne analize skupin. Negativna plat takega sistema komparativne analize skupin je lahko nesimultanost raziskave oz. primerjava dveh načinov terapije v različnih časovnih obdobjih, čemur pa se zaradi narave bolezni in dolgotrajne terapije praktično ne da izogniti. Vključitveni kriteriji so obsegali uveljavljene Willemsejeve kriterije za diagnostiko atopičnega dermatitisa pri psih (26), prepoved uporabe določenih zdravil in ostale pogoje, ki jih postavljajo sodobno zasnovane raziskave (90,94) oziroma jih je zahtevala specifičnost naše raziskave.

Kljub naraščajočemu številu psov z atopičnim dermatitisom, ki jih obravnavamo na KKMŽ, je raziskovalna naloga zahtevala dvoletno delo, saj smo klinične paciente vključevali posamično, vsakega pa smo med zdravljenjem spremljali 11 mesecev. Lastniki psov se odločajo za zdravljenje s specifično imunoterapijo z določenim zadržkom, saj gre za razmeroma dolgotrajno zdravljenje, pri katerem se lahko učinek terapije pokaže mnogo kasneje kot pri zdravljenju s hitreje učinkovitimi simptomatskimi zdravili. Uspeha terapije tudi ni mogoče zanesljivo predvideti, spremljajo pa jo razmeroma visoki in stalni stroški. Lastnike lahko od takšne terapije odvrnejo tudi injekcijske aplikacije zdravila, ki zahtevajo redne obiske pri veterinarju ali spretnost in priučitev lastnikov za dajanje zdravila doma.

Povprečna starost preiskovanih psov je bila 36 (±23) mesecev (tabela 6). Vključenih je bilo 6 samic (od tega 5 steriliziranih) in 5 samcev (od tega 1 kastriran). Kljub temu, da nekateri viri navajajo, da naj bi bil atopični dermatitis pogostejši pri samicah (8), je večina avtorjev mnenja, da spolna predispozicija pri atopičnem dermatitisu nima pomembne vloge in da glede učinkovitosti specifične imunoterapije med spoloma ni bistvenih razlik. Med preiskovanimi psi sta bila dva zlata prinašalca in 2 mešanca ter po en beli višavski terier, srednji koder, labradorec, foxterier, bernardinec, ameriški staffordshirski terier in češki terier. Z izjemo bernardinca je za vse omenjene pasme predispozicija za atopični dermatitis že opisana (8).

Iz anamnestičnih podatkov, zbranih v tabeli 7, je razvidno, da je večina psov (72,7%) prebivala bodisi izključno ali večinoma v urbanem okolju, medtem ko so trije vključeni psi (št. 1, 2 in 9, torej 27,3%) večino časa preživeli v ruralnem okolju. Za ruralno okolje je značilna večja prisotnost sezonskih alergenov (pelodov rastlin), vendar pa ti psi glede na rezultate alergijskega testiranja niso bili v večji meri senzibilizirani na rastlinske alergene, nasprotno – na te je bil senzibiliziran zgolj pes št. 1, psa št. 2 in 9 pa sta bila senzibilizirana samo na pršice. Na rastlinske alergene so bili v večji meri senzibilizirani psi, ki so živeli v urbanem okolju, kar se ujema z ugotovitvami iz humane alergologije, da se je v zadnjih desetletjih močno povečalo število novih primerov senzibilizacije na pelode rastlin predvsem v mestnem okolju (2). Velika večina psov (90,9%), vključenih v raziskavo, je večino časa prebivala s svojimi lastniki v stanovanju. Ti psi so imeli večjo možnost izpostavljenosti nesezonskim alergenom, zlasti hišnim pršicam. To potrjujejo tudi rezultati alergijskega testiranja (Tabela 9), ki kažejo na to, da so bili preiskovani psi v večini primerov senzibilizirani na pršice. Podobne rezultate so zabeležili tudi drugi raziskovalci, kar kaže na vlogo življenjskega okolja v patogenezi atopičnega dermatitisa (95).

Povprečna starost pacientov ob pojavu prvih kliničnih znakov je bila 15,8 (±10,6) mesecev, pri vseh vključenih psih pa so se bolezenski znaki pojavili med 6. mesecem in 3. letom starosti, kar navaja strokovna literatura in je eden od stranskih kriterijev po Willemseju (26).

Trije lastniki psov (27,3%) so bili seznanjeni s pojavom podobnih bolezenskih sprememb tudi pri sorodnikih svojega psa, medtem ko preostali lastniki psov (72,7%) o sorodnikih svojega psa niso imeli nobenih podatkov. Te ugotovitve se ujemajo z rezultati retrospektivne študije, opravljene na KKMŽ pri psih, obolelih za atopičnim dermatitisom (41), kjer je 13,6% lastnikov psov podalo pozitivno družinsko anamnezo, kar 76,1% lastnikov pa ni imelo podatkov o sorodnikih svojega psa. Iz tega lahko zaključimo, da družinska anamneza v veterinarski dermatologiji ni tako uporabna kot v humani dermatologiji (12).

Štirje psi (36,4%) so bili predhodno zdravljeni z glukokortikoidi, 5 psov (45,5%) s topikalnimi antiinflamatornimi in antipruritičnimi pripravki ter ušesnimi kapljicami, 2 psa (18,2%) pa v preteklosti nista bila zdravljena. Podatek, da je bila kljub intenzivnemu srbežu z glukokortikoidi v preteklosti zdravljena le dobra tretjina vseh pacientov, kaže na racionalnejšo uporabo sistemskih glukokortikodov v naši regiji. Klinični vtis v preteklosti je namreč dajal občutek, da se ta zdravila z močnimi stranskimi učinki prepogosto predpisujejo (41).

Vsi psi, ki so bili vključeni v raziskavo, so bili pred tem redno cepljeni, večina psov (72,7%) pa je bila tudi redno dehelmintiziranih. V literaturi obstajajo podatki o tem, da lahko infestacija s paraziti preprečuje razvoj alergijskih reakcij (96,97) in da pogoste vakcinacije spodbujajo produkcijo protiteles IgE (98), zato lahko sklepamo, da so pogosta cepljenja in dehelmintizacije lahko vplivale na razvoj atopičnega dermatitisa tudi pri psih iz naše raziskave.

Lastniki psov 1, 2, 3, 5, 6, 8 in 10 so pred vključitvijo v raziskavo poročali o občasnih driskah in bruhanju. Gastrointestinalne motnje v teh primerih lahko povežemo bodisi z nerednim odpravljanjem notranjih zajedavcev (št. 1, 2, 10), morebitni istočasno prisotni preobčutljivosti na hrano, prehranski netoleranci ali t.i. prehranski nepremišljenosti, lahko pa so bile neposreden odraz atopičnega obolenja (8).

Lastniki psov 1, 3, 5 in 8 so pred zdravljenjem poročali o občasnih respiratornih težavah v obliki kihanja ali seroznega izcedka iz nosu. Lastniki psa št. 5 so poročali o občasnem težkem

dihanju. Vse omenjene respiratorne težave lahko povežemo z znaki atopičnega obolenja. Kasneje so se težave uredile pri vseh, razen pri psu št. 5.

Lastniki psov 1, 3 in 4 so poročali o sezonskem pojavu kliničnih znakov (spomladi ali poleti), medtem ko so bili klinični znaki pri ostalih 8 pacientih (72,7%) nesezonski oz. ves čas enako intenzivni. V literaturi najdemo podatke, da se klinični znaki pri 80% psov z atopičnim dermatitisom pojavljajo nesezonsko in naše ugotovitve so v skladu z literaturnimi (8).

Protokol naše raziskave je zahteval uporabo eliminacijske diete v času raziskave, kar je zagotavljalo optimalen odziv na zdravljenje. Po nekaterih podatkih naj bi bilo kar 30% psov, ki so preobčutljivi na hrano, hkrati tudi atopičnih (8). Po najnovejših dognanjih ITFCAD obstaja verjetnost, da se kožna reakcija na prehranski alergen klinično manifestira v obliki atopičnega dermatitisa. Z drugimi besedami, določena komponenta hrane lahko sproži znake atopičnega dermatitisa pri pacientih, preobčutljivih na to komponento (19,100). Predlagana diagnostična paradigma pa ne sme implicirati mišljenja, da gre pri atopičnem dermatitisu in preobčutljivosti na hrano za isto bolezen. Nasprotno, dokazano je, da se preobčutljivost na hrano lahko klinično manifestira tudi kot urtikarija, angioedem, otitis, seboreja ali ponavljajoča površinska piodermija. Preobčutljivost psov na hrano je definirana kot nesezonsko, srbeče kožno obolenje, ki je povezano z zaužitjem določene substance, ki se nahaja v hrani. Lahko gre za pravo alergijsko reakcijo (tipa I, III ali IV) ali pa za netoleranco določene sestavine v hrani, pri čemer so znaki lahko identični (8). Ob kožnih znakih, ki so v veliki večini vedno prisotni, je pri psih, ki so preobčutljivi na hrano, vse pogostejši tudi pojav gastrointestinalnih simptomov, ki se kažejo z bruhanjem, mukozno do hemoragično drisko, napetim trebuhom in flatulenco (101,102). Histološko se gastroenteritis odraža kot eozinofilni gastroenterokolitis ali plazmocitno-limfocitni enterokolitis (103). Možno je, da se bolezen kaže samo v gastrointestinalni obliki, vendar pri zelo majhnem deležu obolelih psov (3%), sicer pa jo vedno spremlja srbeče kožno obolenje (103). Lloyd razdeli skupino neugodnih reakcij na hrano (»adverse food reactions«) na imunološke (alergijske) in neimunološke. Neimunološke nadalje deli na netoleraco hrane, prehransko nepremišljenost (»dietary indiscretion«) in odklanjanje hrane (»food aversion«: psihološko izogibanje ali netoleranca). Za razliko od alergije na hrano je netoleranca hrane fiziološka reakcija na kemično sestavino hrane, ki je lahko metabolne, farmakološke ali idiosinkratične narave (103).

Edini zanesljiv diagnostični postopek potrjevanja oziroma izključevanja preobčutljivosti na hrano je preizkus s hipoalergeno eliminacijsko dieto, ki traja vsaj 10-12 tednov. Ustrezno eliminacijsko dieto sestavimo na podlagi podatkov o celotnem asortimanu hrane, ki jo je pes v svojem življenju že zaužil. V času eliminacijskega preizkusa je najboljša doma pripravljena dieta, vendarle pa je zaradi zamudnosti priprave za nekatere lastnike nesprejemljiva. V tem primeru lahko enako dobre rezultate dajo komercialne hidrolizirane diete in ena od teh (Hill's z/d) je bila uporabljena tudi v naši študiji (102). Ugoden odziv na eliminacijsko dieto govori v prid diagnozi alergije na hrano, ki jo dokončno potrdimo z ugotovitvijo reakcije na izpostavitev prvotni dieti (provokacijska dieta), česar pa v času naše raziskave nismo izvedli, saj bi na ta način tvegali poslabšanje simptomov. Morebitna sočasna alergija na hrano je bila torej v času študije nadzorovana z ustrezno eliminacijsko dieto, medtem ko je bil preizkus s provokacijsko dieto odložen na čas po končani študiji.

Iz tabele 8 je razvidno, da je bila večina psov, vključenih v raziskavo, pred vključitvijo v raziskavo pestro hranjenih in so poleg osnovne hrane dobivali precej priboljškov, testenine, razne priloge, razne vrste mesa, zelenjavo, sir, jajca in mleko. Predvidevamo lahko, da se s pestrostjo proteinov v prehrani psov povečuje tudi možnost nastanka alergije na hrano, kar podpirajo tudi raziskave s tega področja (99). Iz tega razloga je bila pravilno sestavljena eliminacijska dieta z omejenimi viri beljakovin in ogljikovih hidratov pri naših psih toliko pomembnejša. Kot je razvidno iz tabele 8, smo pri sestavi eliminacijske diete sicer dali lastnikom psov na voljo več virov beljakovin oz. ogljikovih hidratov, kar je povečalo voljnost lastnikov za sodelovanje, vendarle pa smo jim svetovali, naj se omejijo na eno ali dve sestavini, kar je zmanjšalo možnost dodatne senzibilizacije. Najpogosteje je bila eliminacijska dieta sestavljena iz naslednjih vrst mesa: ribe, kunec, konjsko meso, divjačina; in naslednjih vrst prilog: ovseni kosmiči, krompir, ješprenj, prosena in ajdova kaša. Izmed komercialnih diet smo izbirali med Eukanuba Dermatosis FP, Hill’s Prescription Diet d/d ali z/d in Royal Canin Sensitivity Control.

Ugotavljamo, da so bili 4 psi (36,4%) preobčutljivi zgolj na prehranske in hišne pršice, 4 psi (36,4%) na rastlinske alergene (pelode trav, plevelov in dreves), pri 3 psih (27,3%) pa se je alergija na pršice pojavljala v kombinaciji z alergijo na rastlinske alergene (tabela 9). Največje število alergenov (če kot pozitivne reakcije upoštevamo tudi mejne vrednosti), na katere je bil senzibiliziran posamezen pes, je bilo 10 (pes št. 11), najmanjše pa 2 (psi 2, 3, 4 in 7). Zanimivo je, da so bili na rastlinske alergene v največji meri senzibilizirani psi, ki so živeli

v urbanem okolju (psi 5, 6, 7, 8, 10 in 11), pes št. 9, ki je živel izključno zunaj, pa je bil senzibiliziran na pršice.

Rezultati serološkega alergijskega testiranja (tabela 9) so pokazali, da je bilo največ psov (63,6%) alergičnih na prehranske pršice in hišno pršico *Dermatophagoides farinae*, kar se delno ujema z izsledki retrospektvne študije intradermalnega alergijskega testiranja na KKMŽ, ko je na alergen prehranske prišice *Acarus siro* pozitivno odreagiralo 71,7% psov, na hišno pršico *Dermatophagoides farinae* pa 47,8% psov (41). Tudi v številnih tujih raziskavah, ki so vključevale bodisi intradermalno ali serološko alergijsko testiranje, so bili psi najpogosteje senzibilizirani na pršice (42). Zanimivo je, da so bili v naši raziskavi vsi psi, pri katerih je test pokazal pozitivno reakcijo na pršico *Dermatophagoides farinae*, hkrati alergični tudi na prehranske pršice, kar bi lahko pomenilo navzkrižno reagiranje alergenov hišnih in prehranskih pršic, ki je bilo že opisano v humani (104) in veterinarski alergologiji (43,45). Na hišno pršico *Dermatophagoides pteronyssinus* je bil senzibiliziran samo en pes, medtem ko je pri drugem psu alergijski test pokazal mejno vrednost titra protiteles IgE proti tej pršici. Ta podatek je skladen s podatki drugih raziskav, pri katerih je bila ugotovljena redkejša senzibilizacija na pršico *Dermatophagoides pteronyssinus* pri psih z atopičnim dermatitisom v primerjavi z drugimi vrstami pršic (41,42).

Vlogo pršic pri razvoju alergijskih obolenj pri ljudeh je prvi raziskoval Dekker leta 1928, ko je ugotovil, da so se simptomi astme pri ljudeh, ki so se preselili v okolje brez pršic, močno izboljšali (29). Spremembe v življenjskem stilu razvitih družb so nedvomno povečale izpostavljenost alergenom zaprtih prostorov, predvsem hišnim pršicam, na kar vpliva boljša toplotna izolacija, centralno ogrevanje, preproge, zmanjšano prezračevanje ipd. Vsi ti faktorji so pripomogli k zviševanju temperatur in vlage v domovih, kar ima neposreden vpliv na večjo populacijo hišnih pršic. Večina hišnih pršic se optimalno razmnožuje pri temperaturah od 20-30°C ter relativni vlažnosti med 70% in 90%. Medtem ko v suhih kontinentalnih podnebjih prevladuje vrsta *Dermatophagoides farinae*, ki ji za optimalni razvoj zadostuje relativna vlažnost 50-60%, je za vlažna podnebja (npr. v Veliki Britaniji) bolj značilna vrsta *Dermatophagoides pteronyssinus* (43), zanimivo pa je, da so tudi na teh območjih psi pogosteje senzibilizirani na *Dermatophagoides farinae* (45). Hišne pršice se zadržujejo predvsem na pohištvu, v preprogah in posteljnini, *Dermatophagoides farinae* pa se zadržuje tudi v hrani, predvsem v moki (45). Najpogostejši alergen predstavljajo proteaze v iztrebkih hišnih pršic, ki jih uvrščamo v alergensko skupino 1 (Der p 1, Der f 1).

Prehranske pršice *Acarus siro*, *Tyrophagus putrescentiae* in *Lepidoglyphus destructor* so prav tako pogosti alergeni pri ljudeh in psih, tudi za njih pa je značilna navzkrižna reaktivnost (43). Te pršice se nahajajo predvsem v suhi, briketirani hrani, žitaricah, siru in pokvarjeni hrani, zato se pri psih, senzibiliziranih na prehranske pršice, svetuje predvsem izogibanje briketirani hrani (8), kar pa je za nekatere lastnike nesprejemljivo in jih je zato potrebno poučiti glede natančnosti pri shranjevanju odprtih embalaž briketov in dajanju vedno svežih obrokov hrane, kar smo storili tudi v naši raziskavi.

Pozitivna reakcija na mešanice travnih pelodov (Grass Mix I, II ali III) je bila ugotovljena pri 5 psih (45,5%), ob tem pa velja poudariti, da je bilo 80% psov, pri katerih je test pokazal pozitivno reakcijo na katero izmed travnih mešanic, hkrati senzibiliziranih tudi na ostali dve travni mešanici. Nekateri avtorji sicer odsvetujejo uporabo alergenskih mešanic pri diagnostiki atopičnega dermatitisa zaradi večje verjetnosti navzkrižnega reagiranja in manjše specifičnosti rezultatov (8), vendar na način testiranja, ki ga opravlja laboratorij Alergovet, nismo imeli vpliva.

Izmed plevelov je bila najpogostejši alergen ambrozija (*Ambrosia elatior*), na katero so bili senzibilizirani 4 psi (36,4%), pri treh psih (27,3%) pa je bila ugotovljena pozitivna reakcija na belo metliko (*Chaenopodium album*). Ambrozija je sicer znana kot eden najpogostejših povzročiteljev atopične bolezni pri ljudeh. Pri treh psih (27,3%) je bila ugotovljena povišana vrednost protiteles IgE proti alergenski mešanici dreves (Tree Mix), 2 psa (18,2%) pa sta bila senzibilizirana na hrast (*Quercus robur*).

Reakcija na alergene plesni, epitelne alergene in alergen bolšje sline je bila pri vseh preiskovanih psih negativna, kar ni v skladu z nekaterimi navedbami strokovne literature, kjer se plesni omenjajo kot razmeroma pogost alergen pri etiologiji atopičnega dermatitisa (41,42,105) in po katerih naj bi bila sočasna alergija na bolšjo slino prisotna kar pri 75% atopičnih psov (8). Vzrok bi lahko bila nizka občutljivost opravljenega serološkega alergijskega testa za detekcijo specifičnih protiteles proti antigenom plesni in bolšje sline, kar je že bilo opisano v nekaterih študijah, ki so primerjale intradermalno in serološko alergijsko testiranje (38). Drug razlog pa je bila nedvomno predhodna selekcija psov, ki so bili vključeni v študijo, saj so bili simptomi alergije na bolšji pik eden od izključitvenih dejavnikov.

Ob vključitvi je moral vsak pes izpolnjevati vsaj tri *major* in tri *minor* Willemsejeve diagnostične kriterije (tabela 10). Izmed *major* kriterijev sta bila pri vseh psih (100%) prisotna generaliziran srbež in kronični oz. ponavljajoči se dermatitis, spremembe na obrazu (vnetje ustnic ali eritem konkavnega dela ušesa) ali stopalih (bilateralni pododermatitis) so bile prisotne v 81,8% primerov, lihenifikacija upogibnega dela tarzusa ali izteznega dela karpalnega sklepa v 18,2% primerov, pasemska predispozicija v 72,7% primerov, pozitivno družinsko anamnezo pa je podalo 27,3% lastnikov. Izmed *minor* kriterijev so bili pri vseh psih izpolnjeni pozitivni serološki alergijski testi (kar je bil sicer obvezen vključitveni dejavnik, saj smo na podlagi pozitivnih rezultatov lahko naročili izdelavo cepiva za imunoterapijo), prav tako pa so se pri vseh psih prvi znaki bolezni pojavili med 6. mesecem in 3. letom starosti, pri 72,7% psov pa med dopolnjenim 1. in 3. letom starosti, kar je v skladu z večino do sedaj objavljenih podatkov (8,23). Bilateralni konjunktivitis je bil ugotovljen pri 27,7% psov, površinska piodermija pri 36,4% psov, eritem obraza pri 63,6% psov in hiperhidroza pri 9,1% psov.

V času dvomesečnega zdravljenja z metilprednizolonom je bil najpogostejši neželeni stranski učinek pojav poliurije in polidipsije, ki sta se pojavili pri treh psih (27,3%). Vnetje zunanjih sluhovodov, Malasezijski dermatitis in respiratorne težave so se pojavljale v 18,2% primerov, površinska piodermija in gastrointestinalne motnje pa v 9,1% primerov (tabela 11). Vsi rezultati preiskav kožnih ostružkov na prisotnost zajedalca *Demodex canis* so bili negativni, čeprav literatura med zdravljenjem z metilprednizolonom opisuje možnost pojava demodikoze pri predisponiranih psih (8). Možno je, da nobeden od preiskovanih psov ni bil nosilec gensko motene celične imunosti, ki pogojuje pojav demodikoze. Druga možnost je, da dolžina terapije in odmerki metilprednizolona niso delovali imunosupresivno, kar bi bil pogoj za pojav demodikoze.

Dvomesečni terapiji z metilprednizolonom je sledilo enomesečno obdobje čiščenja, potrebno za odstranitev vpliva glukokortikoidov na nadaljni potek raziskave. Dolžina trajanja tega obdobja je bila določena na podlagi sodobnih raziskav, ki priporočajo najmanj 3-tedensko obdobje čiščenja za peroralno zdravljenje z glukokortikoidi (28,73). V tem obdobju je bil pričakovan ponoven pojav srbeža, ki je pri večini pacientov nastopil že prvi teden po prenehanju terapije z metilprednizolonom (tabela 12). Lastniki psa št. 10 niso poročali o srbežu, vendar je točkovanje kožnih sprememb po sistemu CADESI-03 (tabela 15) kljub temu kazalo na občutno poslabšanje stanja. Primerjava vrednosti CADESI-03 pri vseh pacientih

pred zdravljenjem z metilprednizolonom s tistimi po enomesečnem obdobju čiščenja (pred začetkom specifične imunoterapije) je pokazala statistično značilno pozitivno korelacijo (Pearsonov test; r=0,75, P=0,0078). Parni t-test ni pokazal statistično značilnih razlik med vrednostmi CADESI-03 pred zdravljenjem z metilprednizolonom in tistimi pred začetkom specifične imunoterapije (P=0,649). Oba statistična podatka kažeta na to, da je bilo obdobje čiščenja dovolj dolgo, da sta bili skupini M in I statistično enakovredni in neodvisni.

Najpogostejši vzporedni pojav pri zdravljenju s specifično imunoterapijo je bila rdečina in srbež na mestu aplikacije cepiva, ki je običajno minil po 1 dnevu. Ta opažanja smo beležili pri 72,7% psov bodisi v začetnem obdobju imunoterapije ali kasneje, po aplikacijah večjih odmerkov zdravila (tabela 13). V vseh primerih se je stanje umirilo v obdobju, ko je bil dosežen vzdrževalni odmerek. Pri dveh psih se je pojavil intenziven generaliziran srbež, ki ga nismo mogli obvladovati kljub prilagojeni shemi imunoterapije z odmerki cepiva, ki so bili 10-krat nižji od vzdrževalnih in kljub podporni terapiji s topikalnimi pripravki. Oba psa sta bila zaradi neodložljive potrebe po sistemski antipruritični terapiji izključena iz raziskave po 1 oziroma po 3 mesecih imunoterapije (št. 2 in 5). Pri psu št. 2 je bila potreba po nižjem odmerku cepiva razumljiva, saj je tehtal le 8 kg in literatura navaja, da imajo manjši psi lahko manjše potrebe po vzdrževalnem odmerku cepiva v primerjavi z večjimi psi (27). Pri psu št. 5 pa si na ta način ne moremo razložiti pretirane reakcije na višje odmerke cepiva, saj je pes tehtal 33 kg. Občasen bilateralni serozni izcedek iz oči se je pojavljal v 45,5% primerov, vnetje zunanjih sluhovodov pa v 36,4% primerov. Pogostejše pojavljanje vnetja zunanjih sluhovodov je bilo pričakovano, saj v etiologiji vnetja zunanjih sluhovodov velja atopija za enega izmed primarnih dejavnikov in je le-to prisotno v kar 80% primerov atopičnega dermatitisa (8). Sporadične gastrointestinalne težave lahko v večini naših primerov pripišemo prehranski nepremišljenosti, ki je v literaturi definirana kot kompleks simptomov spremenjenega apetita in se lahko kaže kot alotriofagija, požrešnost ali mrhovinarstvo (103). Vse parazitološke preiskave kožnih ostružkov so bile negativne.

Pri 8 psih (72,7%) je bila v času zdravljenja s specifično imunoterapijo uporabljenja podporna topikalna terapija, bodisi v obliki ušesnih kapljic za zdravljenje vnetja zunanjih sluhovodov (36,4%), antibiotičnih mazil za zdravljenje površinskih piodermij (27,3%) ali nežnih antipruritičnih šamponov (27,3%) (tabela 14). Dva psa (18,2%) sta potrebovala sistemsko antipruritično terapijo (glukokortikoide in antihistaminike) in sta bila izključena iz raziskave. Ti rezultati se nekoliko razlikujejo od rezultatov Colombove in sodelavcev, ki so v svoji

študiji vrednotili potrebo po podporni terapiji pri psih, zdravljenih s specifično imunoterapijo (107). Po njihovih izsledkih je bilo kar 74% psov zdravljenih zaradi površinskih bakterijskih piodermij, 66,6% zaradi Malasezijskega dermatitisa, 29,6% zaradi vnetij zunanjih sluhovodov, prav tolikšen delež preiskovanih pa je potreboval sistemsko terapijo z glukokortikoidi, medtem ko je 7,4% psov potrebovalo terapijo z antihistaminiki za obvadovanje neželenih stranskih učinkov imunoterapije. Pri atopičnih psih se pogosto pojavljajo sekundarne bakterijske ali glivične infekcije kože, ki jih najpogosteje povzročata *Staphylococcus intermedius* in *Malassezia pachydermatis* ter so lahko posledica spontanih kožnih sprememb ali avtotravmatizacije (107). Študija Simoua in sodelavcev je razkrila statistično značilno večjo pripetost *Staphylococcus intermediusa* na korneocite atopičnih psov v primerjavi z zdravimi. Predvideva se, da atopični dermatitis povzroča spremembe v epidermalni barieri, ki bakterijam dovolijo prodiranje v dermis. Omenjene spremembe naj bi bile povezane z večjo aktivnostjo intercelularne adhezijske molekule ICAM-1 in drugačno porazdelitvijo fibronektina v koži atopičnih psov (108). Raziskava Nardonijeve in sodelavk pa je pokazala, da je bila *Malassezia pachydermatis* pri atopičnih psih največkrat izolirana iz interdigitalnega področja (70,7%) in iz sluhovodov (63,4%), ki predstavljata optimalno okolje za razmnoževanje te kvasovke (109). Zdravljenje atopičnih psov s specifično imunoterapijo zato pogosto zahteva kombiniran pristop s hkratno uporabo antipruritikov, antibiotikov in antimikotikov (107). Relativno nizka pojavnost površinskih piodermij in popolna odsotnost Malasezijskega dermatitisa ter nizka stopnja potrebe po sistemski podporni terapiji v naši raziskavi govorijo v prid uspešnosti specifične imunoterapije.

CADESI-03 je najnovejša različica testa za ocenjevanje kožnih sprememb, ki ga je razvila Mednarodna delovna skupina za atopični dermatitis psov (ITFCAD) in je trenutno edini ustrezno validiran sistem za objektivno vrednotenje uspešnosti terapije atopičnega dermatitisa pri psih. Ker je bil sistem predstavljen šele leta 2007, ga do danes po nam znanih podatkih še niso uporabili v nobeni od raziskav kot metodo za oceno uspešnosti katerega od načinov zdravljenja atopičnega dermatitisa pri psih. Kot merilo za ocenjevanje učinkovitosti določenega zdravila se je doslej večinoma uporabljalo ocenjevanje intenzivnosti srbeža s strani lastnikov obolelih psov, subjektivno oceno lastnikov o spremembi splošne kvalitete življenja obolelih psov, splošno oceno veterinarja o izboljšanju ali poslabšanju zdravstvenega stanja pacienta na podlagi klinične slike in pričevanj lastnikov, oceno potrebe po dodatni (podporni) terapiji ter katero od prejšnjih dveh različic sistema CADESI. Dosedanje ugotovitve o učinkovitosti specifične imunoterapije pri atopičnih psih so bile predvsem

empirične, čeprav se ta metoda zdravljenja pri psih uporablja že več kot 50 let. Prvo pomemnejšo študijo učinkovitosti specifične imunoterapije je opravil Willemse s sodelavci leta 1984 (55). Ugotovil je, da je bilo v obdobju enega leta pri 16 od 24 psov (59%), zdravljenih s specifično imunoterapijo (uporabljali so v aluminiju precipitirane alergene), doseženo vsaj 50% izboljšanje kliničnih znakov, medtem ko je bilo s placebom takšno izboljšanje doeseženo v 21% primerov. Tudi številne druge empirične raziskave (22,24,110,111,112,113,114) so pokazale, da se delež psov, ki po 4 mesecih imunoterapije kažejo vsaj 50% izboljšanje kliničnih znakov, giblje med 50 in 100% (50).

Nuttall je leta 1998 v svoji retrospektivni študiji učinka specifične imunoterapije pri 186 psih z atopičnim dermatitisom (115) ugotovil dober odziv na imunoterapijo pri 21,5% primerov, delni odziv pri 39,8% primerov in slab odziv pri 38,7% primerov. Kot dober odziv je definiral stanje pri pacientih, kjer je za obvladovanje simptomov zadoščala specifična imunoterapija z ali brez podporne topikalne terapije; kot delni odziv je definiral stanje pri pacientih, ki so ob specifični imunoterapiji za obvladovanje simptomov potrebovali še sistemsko terapijo z glukokortikoidi, antihistaminiki ali nadomestki esencialnih maščobnih kislin; kot slab odziv je definiral stanje pri pacientih, pri katerih imunoterapija ni imela učinka in je bila prekinjena. Bolj ali manj ugoden odziv na imunoterapijo je bil torej prisoten v 61,3% primerov. Nuttall je zaključil tudi, da dejavniki, kot so pasma, spol, starost ob prvem pojavu kliničnih znakov ter vrsta in število alergenov v imunoterapevtski vakcini ne vplivajo na učinkovitost terapije, opazil pa je, da je bil odziv na imunoterapijo precej slabši pri psih, pri katerih so se klinični znaki pojavili več kot 61 mesecev pred pričetkom imunoterapije.

Mueller in sodelavci so leta 2004 v poskusu primerjave učinka 12-mesečne konvencionalne in hitre metode specifične imunoterapije pri 11 psih ugotovili vsaj 50% izboljšanje kliničnih znakov pri 45,5% pacientov, ki so bili zdravljeni s hitro metodo, in pri 36,4%, ki so bili zdravljeni s konvencionalno metodo. Središčna raven redukcije srbeža je bila 36% pri psih, zdravljenjih s hitro metodo, in 15% pri psih, zdravljenih s konvencionalno metodo. V tej študiji so uporabili kombiniran sistem ocenjevanja uspešnosti terapije, ki je temeljil na podlagi ocene srbeža, ocene kožnih sprememb in ocene potrebe po podporni terapiji.

Leta 2005 so Colombova in sodelavci primerjali učinek specifične 9-mesečne imunoterapije z nizkimi odmerki alergenov v primerjavi s standardnimi odmerki alergenov (89). V tej študiji je bil uporabljen tudi sistem CADESI-02, vendar so pri oceni absolutne učinkovitosti imunoterapije upoštevali zgolj oceno srbeža. Odličen odziv na imunoterapijo (popolna redukcija ocene srbeža) je bil opisan pri 22,2% psov, pri enakem deležu psov je bil odziv delni, medtem ko sta bila oba načina imunoterapije slabo učinkovita v 55,6% primerov. Kljub

temu pa so pri obeh metodah ob koncu zdravljenja ugotovili statistično značilno redukcijo središčne vrednosti CADESI glede na izhodiščno vrednost.
Schnabl je s sodelavci leta 2006 objavil obsežno retrospektivno študijo učinka najmanj 12-mesečne specifične imunoterapije pri 117 psih z atopičnim dermatitisom (63). Pri vrednotenju učinka imunoterapije so upoštevali rezultate anketiranja lastnikov, njihove ocene intenzivnosti srbeža na vizualni analogni skali, poročila o uporabljenih dodatnih zdravilih in vpogleda v zdravstvene kartoteke pacientov. Odličen odziv na specifično imunoterapijo je bil opisan pri 15,4% psov, dober odziv pri 48,7% psov, zmeren odziv pri 20,5% psov in slab odziv pri 15,4% psov. Odličen odziv na imunoterapijo je bil definiran kot popolna umiritev kliničnih znakov brez uporabe podporne terapije; dober odziv je bil definiran kot izboljšanje kliničnih znakov in zmanjšanje potrebe po podporni terapiji za vsaj 50%; zmeren odziv je pomenil rahlo izboljšanje kliničnih znakov, pri čemer je bilo potrebno nadaljevati enako podporno terapijo; slab odziv se je odražal v nespremenjeni klinični sliki ali poslabšanju kliničnih znakov pacienta. V tej študiji je bilo ugotovljeno, da na uspeh imunoterapije ne vplivajo dejavniki, kot so starost ob pojavu prvih kliničnih znakov, trajanje kliničnih znakov pred pričetkom imunoterapije, vrsta alergena v uporabljenem cepivu in način identifikacije alergenov (intradermalno ali serološko alergijsko testiranje).

V tabeli 15 so zbrane vrednosti CADESI-03 v času raziskave pri vseh pacientih. Rezulati kažejo, da smo pri dvomesečnem zdravljenju z metilprednizolonom dosegli vsaj 50% izboljšanje (redukcijo vrednosti CADESI-03) pri 4 pacientih (36,4%), in sicer pri psih št. 2, 4, 8 in 10 (graf 1), od tega pri dveh že po 1. mesecu zdravljenja. Povprečna redukcija CADESI-03 po 1. mesecu je znašala 21,0%, po 2. mesecu pa 37,4%.

V času zdravljenja s specifično imunoterapijo smo ≥50% redukcijo CADESI-03 prav tako dosegli pri 4 pacientih (psi št. 1, 4, 6 in 11), in sicer pri dveh (št. 1 in 4) v 3. mesecu imunoterapije, pri ostalih dveh pa po 6 mesecih (graf 2). To se ujema z ugotovitvami Muellerja in Bettenaya, da se ugoden odziv na imunoterapijo pri psih lahko pokaže 3-12 mesecev po pričetku zdravljenja (113). Enak delež (36,4%) najmanj 50% izboljšanja je v svoji podobno zasnovani študiji konvencionalne imunoterapije ugotovil tudi Mueller s sodelavci leta 2004 (62). Povprečna redukcija CADESI-03 po 6 mesecih je znašala 29,9%, po 8 mesecih pa je nekoliko padla in je znašala 25,1%. Ob primerjavi grafov 1 in 2 lahko ugotovimo, da smo kar pri 5 pacientih (45,5%) (psi št. 1, 3, 6, 7 in 11) po osmih mesecih zdravljenja s

specifično imunoterapijo zabeležili večjo redukcijo CADESI-03 kot po 2 mesecih zdravljenja z metilprednizolonom.

Grafa 3 in 4 prikazujeta primerjavo gibanja povprečne (graf 3) oz. središčne redukcije (graf 4) CADESI-03 v odvisnosti od trajanja obeh terapij atopičnega dermatitisa. Vidimo lahko, da je učinek metilprednizolona najhitrejši že v prvem mesecu terapije, medtem ko je najhitrejše izboljšanje pri zdravljenju z imunoterapijo opazno v 2. mesecu terapije. Učinek specifične imunoterapije se po 8 mesecih zelo približa učinku metilprednizolona po 2 mesecih, še posebej če primerjamo gibanje središčne redukcije CADESI-03, ki je bolj realen pokazatelj učinka terapije, saj na njeno vrednost ne vplivajo ekstremna poslabšanja ali izboljšanja stanja. Središčna vrednost redukcije CADESI-03 je po 8 mesecih specifične imunoterapije tako znašala 35,1%, po 2 mesecih terapije z metilprednizolonom pa 38,6%.

Nihanje učinka specifične imunoterapije pri posameznih pacientih (psi 4, 7 in 10) najverjetneje nakazuje vpliv sezonskih alergenov na poslabšanje kliničnega odziva. V zmernem podnebnem pasu se sezona alergijskih bolezni običajno začne pozno pozimi oziroma zgodaj spomladi, ko zacvetijo drevesa, nadaljuje se s cvetenjem trav od sredine pomladi do sredine poletja in konča s cvetenjem plevelov od poznega poletja do sredine jeseni. V vročih in vlažnih predelih pa je lahko cvetni prah v zraku prisoten vse leto (116). Tudi populacija pršic v okolju se skozi leto spreminja. Tako naj bi v regijah, kjer je *Dermatophagoides farinae* ubikvitarna (takšna je najverjetneje tudi naša regija), populacija te pršice vrh dosegla v avgustu, pojavnost pršice *Dermatophagoides pteronyssinus* pa je po nekaterih podatkih največja od julija do oktobra, ko se začne zmanjševati (117).

Parni t-test je pokazal, da se vrednosti CADESI-03 v skupini M ob vključitvi in po 1 mesecu terapije med seboj statistično ne razlikujejo (P=0,121), medtem ko se vrednosti CADESI-03 po 2 mesecih terapije statistično razlikujejo (P=0,015) od izhodiščnih vrednosti. Zaključimo lahko, da je učinek terapije z metilprednizolonom statistično značilen po 2 mesecih terapije.

Iz tabele 15 lahko razberemo, da so imele tudi v skupini I vrednosti CADESI-03 tendenco padanja in so postale statistično značilno manjše od izhodiščne vrednosti v 6. mesecu zdravljenja (P=0,032). Kasneje so ponovno nekoliko narastle, najverjetneje zaradi vpliva sezonskih alergenov, kar se sicer dogaja tudi pri kliničnem delu. Glede na to, da smo z imunoterapijo dosegli statistično značilen in največji učinek zdravljenja po 6 mesecih, lahko

to obdobje priporočimo kot minimalno potrebno za oceno uspešnosti specifične imunoterapije. Willemse je v svoji študiji leta 1984 za takšno kritično obdobje priporočil obdobje 9 mesecev (55).

Če primerjamo učinek dvomesečne terapije z metilprednizolonom z učinkom specifične imunoterapije po posameznih mesecih (zmanjšanje vrednosti CADESI-03 glede na izhodiščno vrednost), ugotovimo, da ima specifična imunoterapija že po 3 mesecih primerljiv učinek kot dvomesečno zdravljenje z metilprednizolonom, saj po tem obdobju med skupinama M in I ni bilo več statistično značilnih razlik (P=0,492) in to je veljalo do konca raziskave. V prvih dveh mesecih imunoterapija ni bila enako učinkovita kot dvomesečno zdravljenje z metilprednizolonom, saj sta se skupini glede na doseženo razliko v vrednostih CADESI-03 med seboj statistično razlikovali (P=0,016 po prvem in P=0,017 po drugem mesecu imunoterapije).

Primerjava vseh vrednosti CADESI-03 z vsemi ocenami intenzivnosti srbeža je pokazala pozitivno korelacijo (Pearsonov test; r=0,564, P<0,001). Podobno stopnjo korelacije med oceno srbeža in vrednostmi CADESI-03 so ugotovili tudi avtorji ob validaciji sistema CADESI-03 (r=0,46, P=0,047) (85). Kljub temu, da ocena srbeža s strani lastnikov zaradi bolj subjektivne narave ni vedno odražala realnega kliničnega stanja pacienta, sta pri obeh skupinah oba sistema vrednotenja klinične slike atopičnega dermatitisa pri psih pokazala značilno korelacijo.

Iz podatkov o oceni intenzitete srbeža, zbranih v tabeli 16, lahko razberemo, da smo v skupini M po koncu terapije pri 4 psih (št. 1, 4, 6, 10) dosegli popolno redukcijo srbeža, medtem ko v skupini I takšnega primera ob koncu terapije ni bilo. Metilprednizolon je učinkovito zdravilo za blaženje srbeža, kar ugodno vpliva tudi na psiho lastnikov, za katere je odsotnost srbeža najpogosteje glavni pokazatelj dobrega počutja njihovih psov. Zdravljenje z imunoterapijo je pogosto povezano s kratkotrajnimi neželenimi stranskimi učinki, ko se psi po aplikaciji zdravila praskajo predvsem na mestu aplikacije, to pa pozorni lastniki opazijo, sploh v primeru, ko zdravilo dajejo sami doma. Avtorji sistema CADESI, ki so opravili podobno študijo in primerjali učinkovitost dveh zdravil pri zdravljenju atopičnega dermatitisa psov (ciklosporina in prednizolona), so ugotovili, da je kratkotrajno, 6-tedensko zdravljenje atopičnega dermatitisa verjetno prekratko, da bi lahko dosegli popolno remisijo nekaterih sprememb na koži, kot je npr. lihenifikacija, ki za to potrebuje daljši čas (73). Jakost srbeža je

zato parameter, ki hitreje (čeprav subjektivno) pokaže učinkovitost zdravljenja. Vsaj 50% zmanjšanje jakosti srbeža pri 70% zdravljenih psov velja za standard klinično učinkovite terapije atopičnega dermatitisa. Zdravljenje z metilprednizolonom sodi med najučinkovitejše tovrstne terapije in tudi v našem primeru se je jakost srbeža po 2 mesecih zdravljenja z metilprednizolonom pri 10 od 11 psov (90,9%) zmanjšala vsaj za 50%. V skupini I se je več kot 50% zmanjšanje srbeža pojavljalo pri 5 od 9 psov (55,6%), vendar ne v vseh obdobjih zdravljenja, saj je bilo zdravljenje po postopku imunoterapije precej daljše od zdravljenja z metilprednizolonom in je bil zato vpliv sezonskih alergenov lahko večji. Kljub sezonskim nihanjem pa je bila v naši raziskavi imunoterapija srbeža učinkovita pri 8 od 11 psov (72,7%).

Tabeli 17 in 18 prikazujeta vrednosti sečnine in kreatinina v serumu psov v času trajanja raziskave. Ta dva parametra sta posredna pokazatelja ravni glomerularne filtracije in s tem tudi funkcije ledvic ter imata visoko raven medsebojne korelacije (118). Nobeden od uporabljenih načinov zdravljenja atopičnega dermatitisa v naši raziskavi ni povzročil večjih odstopanj vrednosti sečnine od laboratorijskih referenčnih vrednosti (3,3-8,3 mmol/l (91)). Pojavljala so se sicer posamezna odstopanja, ki pa niso bistveno presegala fizioloških vrednosti. V skupini M so se povišane vrednosti sečnine pojavile pri psu št. 1 v 1. in 2. mesecu terapije z metilprednizolonom, pri psu št. 2 v 2. mesecu in pri psu št. 8 v 1. mesecu terapije. Glede na to, da v istem času pri omenjenih psih niso bile ugotovljene povišane vrednosti kreatinina (z izjemo psa št. 8) in da psi niso kazali znakov obolenja ledvic, lahko posamezne povišane vrednosti sečnine pripišemo morebitnemu večjemu zaužitju beljakovin ali povečani aktivnosti omenjenih psov. Povišane vrednosti sečnine so lahko tudi odraz zdravljenja z glukokortikoidi (118). V skupini I so se povišane vrednosti sečnine v največji meri pojavile po 2 mesecih zdravljenja, in sicer pri 4 psih (št. 1, 4, 5 in 6). Po 6 mesecih zdravljenja v skupini I nismo ugotovili povišanih vrednosti sečnine v serumu psov. Fisherjev eksaktni test je pokazal, da se skupini M in I glede na vrednosti sečnine v serumu med seboj statistično ne razlikujeta (P=0,745), zato lahko sklepamo, da je 8-mesečno zdravljenje z imunoterapijo enako varno kot dvomesečno zdravljenje z metilprednizolonom.

Povišane vrednosti koncentracije kreatinina v serumu so se sporadično pojavljale ob vključitvi v skupino M pri pacientih št. 1 in 10, ter po enem mesecu terapije z metilprednizolonom pri psih št. 5 in 8. V skupini I so se posamezne povišane vrednosti kreatinina pojavljale na začetku zdravljenja z imunoterapijo (psa št. 3 in 5), po 2 mesecih terapije pri psih št. 5 in 10 ter po 4 mesecih terapije pri psu št. 1. Povišanih vrednosti

kreatinina pa nismo ugotovili po 2 mesecih terapije z metilprednizolonom in 6 mesecih imunoterapije. Nekoliko višje vrednosti kreatinina v serumu so sicer značilne za težje pse z večjo mišično maso in aktivnejše pse (119). Glede na to, da so se posamezne povišane vrednosti kreatinina pojavljale zgolj občasno in da ob zadnjih meritvah nismo zaznali povišanih vrednosti ne v skupini M ne v skupini I, posameznih odstopanj ne moremo pripisati učinku katerekoli terapije. Fisherjev eksaktni test je pokazal, da se skupini M in I glede na vrednosti kreatinina v serumu med seboj statistično ne razlikujeta (P=1,000), zato lahko sklepamo, da je 8-mesečno zdravljenje z imunoterapijo enako varno kot dvomesečno zdravljenje z metilprednizolonom.

Tabeli 19 in 20 prikazujeta vrednosti encimov alkalne fosfataze (AP) in alanin aminotransferaze (ALT) v serumu preiskovanih psov. Povišane vrednosti obeh encimov so običajno pokazatelj jetrnih obolenj. V času raziskave v skupinah M in I nismo ugotovili povišanih vrednosti alkalne fosfataze. Vrednosti ALT so bile povišane pri psu št. 9 v prvem mesecu terapije z metilprednizolonom in pri psu št. 3 v prvih dveh mesecih imunoterapije. Glede na to, da je šlo za maloštevilna, majhna in kratkotrajna odstopanja od fizioloških vrednosti, posameznih povišanih vrednosti ALT ne moremo pripisati katerikoli uporabljeni terapiji. Fisherjev eksaktni test je pokazal, da med skupinama M in I glede na vrednosti AP in ALT v serumu ni statistično značilnih razlik (P=1,000), zato lahko sklepamo, da je 8-mesečno zdravljenje z imunoterapijo enako varno kot dvomesečno zdravljenje z metilprednizolonom.

Ob koncu raziskave smo lastnike psov pozvali, da z ocenami 0 (ničen), 1 (slab), 2 (zadovoljiv), 3 (dober) in 4 (odličen) ocenijo učinek 8-mesečne specifične imunoterapije pri svojih psih. Podatki iz tabele 21 kažejo na to, da po mnenju lastnikov imunoterapija ni imela učinka pri 2 psih (št. 2 in 5), ki sta bila zaradi potrebe po sistemski simptomatski terapiji izključena iz raziskave. Lastnika psov 9 in 10 sta učinek imunoterapije ocenila kot slab, lastnika psov 3 in 4 kot zadovoljiv, lastniki psov 1, 8 in 11 kot dober, lastnika psov 6 in 7 pa kot odličen. Zanimivo pri tem je, da sta imunoterapijo kot odlično ocenila lastnika psov, pri katerih rezultati vrednotenja s sistemom CADESI-03 po 8 mesecih niso dosegli 50% izboljšanja kliničnih znakov (pri psu št. 6 je bilo 50% izbolšanje doseženo v 6. mesecu, v 8. pa je izboljšanje znašalo 47,8%, pri psu št. 7 pa smo v 8. mesecu dosegli najvišje, 40% izboljšanje), vendar sta bila oba lastnika zadovoljna z občutnim izboljšanjem splošnega počutja psov, kvaliteto dlake in precejšnjo umiritvijo srbeža. Lastnika psov, pri katerih smo

po 8. mesecih dosegli 50% izboljšanje kliničnih znakov (št. 1 in 11) sta učinek imunoterapije ocenila kot dober, motili pa so ju občasni izbruhi srbeža.

Če združimo naša klinična opažanja, vrednotenje atopičnega dermatitisa po sistemu CADESI-03 in opažanja lastnikov, lahko specifično imunoterapijo označimo kot dobro ali odlično učinkovito v 36,4% primerov (psi 1, 6, 7, 11). Pri teh psih je bilo v osmih mesecih imunoterapije doseženo občutno izboljšanje kliničnih znakov, uporaba podporne topikalne terapije pa je bila zgolj občasna. Z imunoterapijo smo zadovoljiv učinek dosegli pri 27,3% psih (psi 3, 4, 8), pri katerih smo v določenih obdobjih dosegli občutno izboljšanje kliničnih znakov, vendar je vpliv sezonskih alergenov stanje ponovno poslabšal (pes št. 4), ali pa je bilo doseženo zmerno (približno 25%) izboljšanje kliničnih znakov in so občasno potrebovali podporno topikalno terapijo (psa št. 3 in 8). V 36,4% primerih je bila specifična imunoterapija slabo učinkovita (psa 9 in 10) ali neučinkovita (psa 2 in 5). Zaključino lahko torej, da se je 8-mesečna imunoterapija pri zdravljenju atopičnega dermatitisa psov izkazala za učinkovito v 7 od 11 primerov (63,6%), kar je v skladu z našimi pričakovanji in z ugotovitvami drugih avtorjev (50,63,115).

6 ZAKLJUČKI

1. Osemmesečna imunoterapija se je pri zdravljenju atopičnega dermatitisa psov izkazala za učinkovito v 7 od 11 primerov (63,6%), medtem ko je bila v 4 od 11 primerov (36,4%) slabo učinkovita oz. neučinkovita.

2. Najmanj 50% zmanjšanje vrednosti CADESI-03 je bilo v času raziskave doseženo pri 4 od 11 psov (36,4%), tako pri zdravljenju z metilprednizolonom kot tudi pri zdravljenju s specifično imunoterapijo. Med zdravljenjem z metilprednizolonom se je jakost srbeža zmanjšala za ≥50% pri 10 od 11 psov (90,9%), med zdravljenjem z imunoterapijo pa pri 5 od 9 psov (55,6%).

3. Učinek specifične imunoterapije je postal statistično značilen po 6 mesecih zdravljenja (P=0,032), zato je po naših ugotovitvah to najkrajše obdobje, ki je potrebno za oceno uspešnosti imunoterapije pri zdravljenju atopičnega dermatitisa psov.

4. Specifična imunoterapija je imela po treh mesecih primerjiv učinek kot dvomesečna terapija z metilprednizolonom, saj po tem času med njima ni bilo več statistično značilnih razlik glede na zmanjšanje vrednosti CADESI-03 (P=0,492).

5. Med ocenami intenzivnosti srbeža in vrednostmi CADESI-03 smo ugotovili statistično značilno pozitivno korelacijo (r=0,564, P<0,001), kar kaže na to, da je bilo ocenjevanje srbeža s strani lastnikov kljub subjektivnosti metode dovolj zanesljiv pokazatelj odziva na zdravljenje.

6. Učinkovitost specifične imunoterapije pri zdravljenju atopičnega dermatitisa psov je bila v določenih sezonah v letu odvisna od prisotnosti sezonskih alergenov, kar je povzročilo občasna poslabšanja kliničnega stanja, čemur se zaradi dolgotrajnega zdravljenja in narave bolezni ni bilo mogoče izogniti.

7. Biokemijske preiskave seruma so pri obeh načinih zdravljenja pokazale maloštevilna odstopanja vrednosti sečnine, kreatinina, AP in ALT, ki niso bistveno presegala fizioloških vrednosti. Ugotovili smo, da je, glede na vrednosti omenjenih parametrov v

serumu, osemmesečno zdravljenje s specifično imunoterapijo enako varno kot dvomesečno zdravljenje z metilprednizolonom.

8. Enomesečno obdobje čiščenja (premor brez uporabe zdravila) je bilo dovolj dolgo za odstranitev vplivov predhodno uporabljenega metilprednizolona.

9. V času dvomesečnega zdravljenja z metilprednizolonom je bil najpogostejši neželeni stranski učinek pojav poliurije in polidipsije, ki sta se pojavili pri treh psih (27,3%). Vnetje zunanjih sluhovodov, Malasezijski dermatitis in respiratorne težave so se pojavile pri 18,2% psov, površinska piodermija in gastrointestinalne motnje pa pri 9,1% psov.

10. Najpogostejša neželena stranska učinka pri zdravljenju s specifično imunoterapijo sta bila rdečina in srbež na mestu aplikacije cepiva, ki sta se pojavljala v 72,7% primerov in sta običajno minila v enem dnevu. V vseh primerih se je stanje umirilo v obdobju, ko je bil dosežen vzdrževalni odmerek cepiva.

11. Pri 8 psih (72,7%) je bila v času zdravljenja s specifično imunoterapijo uporabljena podporna topikalna terapija, in sicer v obliki ušesnih kapljic (36,4%), antibiotičnih mazil ali antipruritičnih šamponov (27,3%). Dva psa (18,2%) sta potrebovala sistemsko antipruritično terapijo (glukokortikoide in antihistaminike) in sta bila izključena iz raziskave.

12. Nizka pojavnost površinskih piodermij, odsotnost Malasezijskega dermatitisa ter nizka stopnja potrebe po sistemski podporni terapiji v naši raziskavi govorijo v prid uspešnosti specifične imunoterapije.

13. Rezultati serološkega alergijskega testiranja so pokazali, da je bilo največ psov (63,6%) hkrati senzibiliziranih na prehranske pršice in hišno pršico *Dermatophagoides farinae*, pri 4 psih (36,4%) pa smo ugotovili sočasno senzibilizacijo na različne travne mešanice. Oba pojava sta najverjetneje pokazatelja medsebojnega navzkrižnega reagiranja alergenov hišnih in prehranskih pršic oziroma navzkrižnega reagiranja posameznih travnih pelodov.

14. V naši raziskavi nismo zabeležili senzibilizacije na alergene plesni, živalskega epitela in bolšje sline.

15. Večina preiskovanih psov (90,9%) je pretežni del časa prebivala s svojimi lastniki v stanovanju in so bili senzibilizirani na pršice, kar kaže na to, da je večja izpostavljenost alergenom zaprtih prostorov pomemben dejavnik pri nastanku atopičnega dermatitisa.

16. Vsi preiskovani psi (100%) so bili redno cepljeni, večina preiskovanih psov (72,7%) pa je bila tudi redno dehelmintiziranih. Tako kot drugi avtorji lahko tudi mi sklepamo, da so pogosta cepljenja in dehelmintizacije vplivala na nastanek atopičnega dermatitisa pri preiskovanih psih.

17. Večina lastnikov preiskovanih psov (72,7%) ni imela podatkov o sorodnikih svojega psa. Iz tega lahko zaključimo, da družinske anamneze v veterinarski dermatologiji velikokrat ni možno uporabljati kot v humani dermatologiji.

7 ZAHVALA

Zahvaljujem se:

doc. dr. Tini Kotnik za budno mentorsko oko, modre nasvete in pomoč pri nastajanju naloge,

doc. dr. Petri Zrimšek za prijazno in strokovno pomoč pri statistični obdelavi podatkov,

Aleksandru Jenku in doc. dr. Alenki Nemec Svete za opravljeno delo v laboratoriju,

mag. Brigiti Grecs Smole za podroben pregled seznama literature

ter ostalemu osebju Klinike za kirurgijo in male živali za občasno pomoč in spodbudo.

8 LITERATURA

1. Selye H. Allergy and the general adaptation syndrome. Int Arch Allergy Appl Immunol 1952; 3: 267-78.

2. D'Amato G. Outdoor air pollution, climate and allergic respiratory diseases: evidence of a link. Clin Exp Allergy 2002; 32: 1391-3.

3. Okudaira H. Why atopic diseases prevail in developed countries. Allergy Clin Immunol Int 1998; 10: 110-4.

4. De Weck A. Les allergies, un problème croissant de santé publique: causes and conséquences. Allerg Immunol 2000; 32: 6-11.

5. Baker E. Allergy, a professional challenge. Vet Med Small Anim Clin 1971; 66: 978-80.

6. Hill P. Treatment of canine atopic dermatitis: balancing the three factors. In Pract 2007; 29: 566-73.

7. Lund EM, Armstrong PJ, Kirk CA, Kolar LM, Klausner JS. Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States. J Am Vet Med Assoc 1999; 214: 1336-41.

8. Scott DW, Miller WH, Griffin CE. Muller & Kirk's small animal dermatology. 6th ed. Philadephia: Saunders, 2001: 574-601.

9. Olivry T, DeBoer DJ, Griffin CE et al. The ACVD task force on canine atopic dermatitis: forewords and lexicon. Vet Immunol Immonopathol 2001; 81: 143-6.

10. Prelaud P, Power HT. Atopic dermatitis syndrome. In: Guaguere E, Prelaud P, Craig M. A practical guide to canine dermatology. Paris: Kalianxis, 2008: 229-52.

11. MacDonald J. Allergen specific immunotherapy for atopy. In: Proceedings of the North American Veterinary Conference. Orlando, Florida: NAVC, 2006; 20: 396-8.

12. Plevnik A. Uporaba antihistaminika feksofenadina pri zdravljenju atopičnega dermatitisa in spremljanje njegovega vpliva na delovanje srca pri psih. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 2007: 4-36. Magistrsko delo.

13. Reedy LM, Miller WH, Willemse T. Allergic skin diseases of the dog and cat. 2nd ed. London: Saunders, 1997: 33-44.

14. Sischo WM, Ihrke PJ, Franti CE. Regional distribution of 10 common skin diseases in dogs. J Am Vet Med Assoc 1989; 195: 752-6.

15. Scott DW, Paradis M. A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: small animal clinic, University of Montreal, Saint-Hyacinthe, Quebec (1987-1988). Can Vet J 1990; 31: 830-5.

16. Carlotti DN, Costargent F. Analysis of positive skin tests in 449 dogs with allergic dermatitis. Eur J Companion Anim Pract 1994; 4: 42-59.

17. Saridomichelakis MN, Koutinas AF, Gioulekas D, Leontidis L. Canine atopic dermatitis in Greece: clinical observations and the prevalence of positive intradermal test reactions in 91 spontaneous cases. Vet Immunol Immunopathol 1999; 69: 61-73.

18. Hillier A, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. Vet Immunol Immunopathol 2001; 81: 147-51.

19. Prelaud P. Atopy. In: Campbell KL, ed. Small animal dermatology secrets. Philadelphia: Hanley & Belfus, 2004: 188-95.

20. Wittich FW. Spontaneous allergy (atopy) in the lower animal: seasonal hay fever (fall type) in a dog. J Allergy 1941; 12: 247-51.

21. Patterson R. Investigations of spontaneous hypersensitivity of the dog. J Allergy 1960; 31: 351-63.

22. Halliwell REW, Schwartzman RM. Atopic disease in the dog. Vet Rec 1971; 89: 209-14.

23. Anderson RK, Sousa CA. In vitro versus in vivo testing for canine atopy. In: Ihrke PJ, ed. Advances in veterinary dermatology II. New York: Pergamon Press, 1993: 425.

24. Scott DW. Observations on canine atopy. J Am Anim Hosp Assoc 1981; 17: 91-100.

25. Sousa CA, Halliwell REW. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XI): the relationship between arthropod hypersensitivity and atopic dermatitis in the dog. Vet Immunol Immunopathol 2001; 81: 233-7.

26. Willemse T. Atopic dermatitis: a review and reconsideration of diagnostic criteria. J Small Anim Pract 1986; 27: 771-8.

27. Hillier A. Allergy testing and treatment for canine atopic dermatitis. Vet Med 2002; 5: 210-24.

28. Beale KM. Atopic dermatitis: clinical signs and diagnosis. In: Proceedings of the North American Veterinary Conference. Orlando, Florida: NAVC, 2006; 20: 396-8.

29. DeBoer DJ, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): fundamental concepts in clinical diagnosis. Vet Immunol Immunopathol 2001; 81: 271-6.

30. Kotnik T, Kovše M. Atopija in alergija na hrano pri psu. In: Zbornik referatov XX. simpozija o aktualnih boleznih malih živali. Debeli rtič: SZVMŽ, 2007: 43-6.

31. Prelaud P, Gauguère E, Alhaidari Z, Héripret D, Faivre N, Gayerie A. Réévaluation des critères de diagnostic de la dermite atopique canine. Rev Med Vet 1998; 149: 1057-64.

32. Hillier A, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (X): is there a relationship between canine atopic dermatitis and cutaneous adverse food reactions? Vet Immunol Immunopathol 2001; 81: 227-31.

33. Fujimura M, Ohmori K, Masuda K, Tsujimoto H, Sakaguchi M. Oral allergy syndrome induced by tomato in a dog with Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollinosis. J Vet Med Sci 2002; 64: 1069-70.

34. DeBoer DJ, Hillier A.The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVI): laboratory evaluation of dogs with atopic dermatitis with serum-based »allergy« tests. Vet Immunol Immunopathol 2001; 81: 277-87.

35. Sævik BK, Thoresen SI, Kristensen F. A Retrospective study of hyposensitization in canine atopy based on a polyclonal ELISA test. Vet Res Commun 2002; 26: 613-24.

36. Foster AP, Knowles TG, Hotston Moore A, Cousins PDG, Day MJ, Hall EJ. Serum IgE and IgG responses to food antigens in normal and atopic dogs, and dogs with gastrointestinal disease. Vet Immunol Immunopathol 2003; 92: 113-24.

37. Foster AP, Littlewood JD, Webb P, Wood JLN, Rogers K, Shaw SE. Comparison of intradermal and serum testing for allergen-specific IgE using a FcεRIα-based assay in atopic dogs in the UK. Vet Immunol Immunopathol 2003; 93: 51-60.

38. Mueller RS, Burrows A, Tsohalis J. Comparison of intradermal testing and serum testing for allergen-specific IgE using monoclonal IgE antibodies in 84 atopic dogs. Aust Vet J 1999; 77: 290-4.

39. Olivry T, Jackson HA, Murphy KM, Tater KC, Roberts M. Evaluation of a point-of care immunodot assay for predicting results of allergen-specific intradermal and immunoglobulin E serological tests. Vet Dermatol 2005; 16: 117-20.

40. Orožim E. Ugotavljanje atopij z intrakutanimi alergijskimi testi in zdravljenje atopij s pomočjo desenzibilizacije. In: Zbornik referatov XI. simpozija o aktualnih boleznih malih živali. Poljče: SZVMŽ, 1998: 12-6.

41. Kotnik T: Retrospective study of presumably allergic dogs examined over a one-year period at the Veterinary faculty, University of Ljubljana, Slovenia. Vet Arh 2007; 77: 453-62.

42. Hill PB, DeBoer DJ, The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IV): environmental allergens. Vet Immunol Immunopathol 2001; 81: 169-86.

43. Nuttall TJ, Hill PB, Bensignor, Willemse T et al. House dust and forage mite allergens and their role in human and canine atopic dermatitis. Vet Dermatol 2006; 17: 223-35.

44. Leung DYM. Atopic dermatitis: new insights and opportunities for therapeutic intervention. J Allergy Clin Immunol 2000; 105: 860-76.

45. Jackson AP, Foster AP, Hart BJ, Helps CR, Shaw SE. Prevalence of house dust mites and dermatophagoides group 1 antigens collected from bedding, skin and hair coat of dogs in south-west England. Vet Dermatol 2005; 16: 32-8.

46. Olivry T, Sousa CA. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIX): general principles of therapy. Vet Immunol Immunopathol 2001; 81: 311-6.

47. Noon L. Prophylactic inoculation against hay fever. Lancet 1911; 1: 1572-3.

48. Freeman J. Further observation on the treatment of hay fever by hypodermic inoculation of pollen vaccine. Lancet 1911; 2: 814-7.

49. Bousquet J, Lockey R, Malling HJ. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. J Allergy Clin Immunol 1998; 102: 558-62.

50. Griffin CE, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): allergen-specific immunotherapy. Vet Immunol Immunopathol 2001; 81: 363-83.

51. Nelson HS. Immunotherapy for inhalant allergens. In: Middleton E et al, eds. Allergy: principles and practice. 5th ed. St. Louis: Mosby, 1998: 1050-62.

52. DesRoches A, Paradis L, Knani J et al. Specific immunotherapy prevents onset of new sensitization in monosensitized children. J Allergy Clin Immunol 1995; 95: 309.

53. Mastrandrea F, Serio G, Minelli M et al. Specific sublingual immunotherapy in atopic dermatitis. Results of a 6-year follow-up of 35 consecutive patients. Allergol Immunopathol 2000; 28: 54-62.

54. Hites MJ, Kleinbeck ML. Effect of immunotherapy on the serum concentration of allergen-specific IgG antibodies in dog sera. Vet Immunol Immunopathol 1989; 22: 39-51.

55. Willemse A, Van den Brom WE, Rijnberg A. Effect of hyposensitization on atopic dermatitis in dogs. J Am Vet Med Assoc 1984; 184: 1277-80.

56. Hauser C, Snapper CM, Ohara J, Paul WE, Katz SI. T helper cells grown with hapten-modified cultured Langerhans' cells produce interleukin 4 and stimulate IgE production by B cells. Eur J Immunol 1989; 19: 245-51.

57. Nuttall TJ, Knight PA, McAleese SM, Lamb JR, Hill PB. T-helper 1, T-helper 2 and immunosuppressive cytokine in canine atopic dermatitis. Vet Immunol Immunopathol 2002; 87: 379-84.

58. Hayashiya S, Tani K, Morimoto M et al. Expression of T helper 1 and T helper 2 cytokine mRNAs in freshly isolated peripheral blood mononuclear cells from dogs with atopic dermatitis. J Vet Med A 2002; 49: 27-31.

59. Shida M, Kadoya M, Park SJ, Nishifuji K, Momoi Y, Iwasaki T. Allergen specific immunotherapy induces Th1 shift in dogs with atopic dermatitis. Vet Immunol Immunopathol 2004; 102: 19-31.

60. Mueller RS, Bettenay SV. Evaluation of the safety of an abbreviated course of injections of allergen extracts (rush immunotherapy) for the treatment of dogs with with atopic dermatitis. Am J Vet Res 2001; 62: 307-10.

61. Deplazes P, Penhale WJ, Green WK, Thompson RC. Effect of humoral tolerance (IgE and IgE) in dogs by oral administration of ovalbumin and Der pI.
Vet Immunol Immunopathol 1995; 45: 361-7.

62. Mueller RS, Fieseler KV, Zabel S, Rosychuk RAW. Conventional and rush allergen-specific immunotherapy in the treatment of canine atopic dermatitis. In: Hillier A, Foster AP, Kwochka KW, eds. Advances in veterinary dermatology. Proceedings of the Fifth World Congress of Veterinary Dermatology. Vienna, 2004. Oxford: Blackwell Publishing, 2005: 60-9.

63. Schnabl B, Bettenay SV, Dow K, Mueller RS. Results of allergen-specific immunotherapy in 117 dogs with atopic dermatitis. Vet Rec 2006; 158: 81-5.

64. Rosenbaum MR, Esch RE, Schwartzman RM. The effects of mold proteases on the biological activity of pollen allergenic extracts in atopic dogs.
Am J Vet Res 1996; 57: 1447-52.

65. Scott DW, Miller WH, Griffin CE. Muller & Kirk's small animal dermatology. 6th ed. Philadephia: Saunders, 2001: 244-52.

66. Griffin CE. Canine atopic disease. In: Griffin CE, Kwochka KW, MacDonald JM, eds. Current veterinary dermatology: the science and art of therapy. St. Louis: Mosby Year Book, 1993: 99-120.

67. Guaguère E, Lasvergeres F, Arfi L. Efficacy of oral methylprednisolone in the syptomatic treatment of allergic dermatitis.
Prat Mèd Chir Anim Compagnie 1996; 31: 171-5.

68. Plumb DC. Plumb's veterinary drug handbook. 6th ed. Ames: Blackwell Publishing, 2008: 600-4.

69. DeBoer DJ, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXI): antihistamine pharmacotherapy. Vet Immunol Immunopathol 2001; 81: 323-9.

70. Steffan J, Alexander D, Brovedani F, Fisch RD. Comaparison of cyclosporine A with methylprednisolone for treatment of canine atopic dermatitis: a parallel, blinded, randomized control trial. Vet Dermatol 2003; 14: 11-22.

71. Radowicz SN, Power HT. Long-term use of cyclosporine in the treatment of canine atopic dermatitis. Vet Dermatol 2005; 16: 81-86.

72. Steffan J, Favrot C, Mueller R. A systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of cyclosporin for the treatment of atopic dermatitis in dogs.
Vet Dermatol 2006; 17: 3-16.

73. Olivry T, Rivierre C, Jackson HA, Murphy KM, Davidson G, Sousa CA. Cyclosporine decreases skin lesions and pruritus in dogs with atopic dermatitis: a blinded randomized prednisolone-controlled trial. Vet Dermatol 2002; 13: 77-87.

74. Steffan J, Parks C, Seewald W. Clinical trial eavaluating the efficacy and safety of cyclosporine in dogs with atopic dermatitis. J Am Vet Med Assoc 2005; 1855-63.

75. Otte JB. History of pediatric liver transplantation. Where are we coming from? Where do we stand? Pediatr Transplant 2002; 6: 378-87.

76. Fontaine J, Olivry T. Treatment of canine atopic dermatitis with cyclosporine: a pilot clinical study. Vet Rec 2001; 148: 662-3.

77. Grossman RM, Chevret S, Abi-Rached J. Long-term safety of cyclosporine in the treatment of psoriasis. Arch Dermatol 1996; 132: 623-9.

78. Olivry T, Mueller RS et al. Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of the pharmacotherapy of canine atopic dermatitis.
Vet Dermatol 2003; 14: 121-46.

79. Paradis M, Scott DW, Giroux D. Further investigations on the use of nonsteroidal and steroidal anti-inflammatory agents in the management of canine pruritus.
J Am Anim Hosp Assoc 1991; 27: 44-48.

80. Abba C, Mussa PP, Vercelli A, Raviri G. Essential fatty acids supplementation in different-stage atopic dogs fed on a controlled diet.
J Anim Physiol Anim Nutr 2005; 89: 203-7.

81. Ferguson EA, Littlewood JD, Carlotti DN, Grover R, Nuttall T. Management of canine atopic dermatitis using the plant extract PYM00217: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study. Vet Dermatol 2006; 17: 236-43.

82. Favrot C, Reichmuth P, Olivry T. Treatment of canine atopic dermatitis with azathioprine: a pilot study. Vet Rec 2007; 160: 520-1.

83. Carlotti DN, Boulet M, Ducret J et al. The use of recombinant omega interferon therapy in canine atopic dermatitis – a double-blind controlled study.
Vet Dermatol 2008: 19 (Suppl. 1): 8.

84. Nuttall T, McEwan N. Objective measurement of pruritus in dogs: a preliminary study using activity monitors. Vet Dermatol 2006; 17: 348-51.

85. Olivry T, Marsella R, Iwasaki T, Mueller R. Validation of CADESI-03, a severity scale for clinical trials enrolling dogs with atopic dermatitis.
Vet Dermatol 2007; 18: 78-86.

86. Olivry T, Guaguère E, Héripret D. Treatment with canine atopic dermatitis with prostagladin E1 analog misoprostol: an open study.
J Dermatol Treatment 1997; 8: 243-7.

87. Germain PA, Prelaud P, Bensignor E. CADESI (Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index) reproducibility. Rev Méd Vét 2005; 156: 382-5.

88. Olivry T, Muller R, Nuttall T, Favrot C, Prelaud P. Determination of CADESI-03 thresholds for increasing severity levels of canine atopic dermatitis. Vet Dermatol 2008; 19: 115-9.

89. Colombo S, Hill PB, Shaw DJ, Thoday KL. Effectiveness of low dose immunotherapy in the treatment of canine atopic dermatitis: a prospective, double-blinded, clinical study. Vet Dermatol 2005; 16: 162-70.

90. Plevnik A, Kotnik T, Kobal S. Fexofenadine treatment of atopic dogs: preliminary clinical results. Acta Vet Brno 2006; 75: 549-55.

91. Kraft W, Dürr UM. Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 6. Aufl. Stuttgart, New York: Schattauer, 2005: 42-217.

92. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss L. Appendixes. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss L, eds. Clinical biochemistry of domestic animals. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1997: 885-905.

93. Boguniewicz M, Leung DYM. Atopic dermatitis. In: Middleton E et al, eds. Allergy: principles and practice. 5th ed. St. Louis: Mosby, 1998: 1123-34.

94. Olivry T, Dunston SM, Rivierre C, et al. A randomized controlled trial of misoprostol monotherapy for canine atopic dermatitis: effects on dermal cellularity and cutaneous tumour necrosis factor-alpha. Vet Dermatol 2003; 14: 37-46.

95. Olivry T, Sousa CA. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XX): glucocorticoid pharmacotherapy. Vet Immunol Immunopathol 2001; 81: 317-22.

96. Lynch NR, Hagel I, Perez M, Di Prisco MC, Lopez R, Alvarez N. Effect of antihelmintic treatment on the allergic reactivity of children in a tropical slum. J Allergy Clin Immunol 1993; 92: 404-11.

97. Hagel I, Lynch NR, Perez M, Di Prisco MC, Lopez R, Rojas E. Modulation of the allergic reactivity of slum children by helminthic infection. Parasite Immunol 1993; 15: 311-5.

98. Frick OL, Brooks DL. Immunoglobulin E antibodies to pollens augmented in dogs by virus vaccines. Am J Vet Res 1983; 44: 440-5.

99. Jeffers JG. Responses of dogs with food allergies to single-ingredient dietary provocation. J Am Vet Med Assoc 1996; 209: 608-11.

100. Olivry T, DeBoer DJ, Prelaud P, Bonsignor E. Food for thought: pondering the relationship between canine atopic dermatitis and cutanous adverse food reactions. Vet Dermatol 2007; 18: 390-1.

101. Lieb MS, August JR. Food hypersensitivity. In: Ettinger SJ, ed. Textbook of veterinary internal medicine, 3rd ed. Philadelphia: Saunders, 1989: 194-7.

102. Lloyd D. Diagnosis and management of adverse food reactions in the dog. In: Proceedings of the 31st World Congress of the World Small Animal Veterinary Association. Prague, 2006: 232-5.

103. Case LP, Carey DP, Hirakawa DA. Canine and feline nutrition. St. Louis: Mosby, 1995: 382-8.

104. Van Hage-Hamseten M, Johansson E. Clinical and immunologic aspects of storage mite allergy. Allergy 1998; 53: 49-53.

105. Nesbitt GH, Kedan GS, Cacciolo P. Canine atopy. 1. etiology and diagnosis. Compend Cont Educ Pract Vet 1984; 6: 73-84.

106. Ettinger SJ. Pocket companion to textbook of veterinary internal medicine. 5th ed. Philadelphia: Saunders, 2001: 396.

107. Colombo S, Hill PB, Shaw DJ, Thoday KL. Requirement for additional tratment for dogs with atopic dermatitis undergoing allergen-specific immunotherapy. Vet Rec 2007; 160: 861-4.

108. Simou C, Thoday KL, Forsythe PJ, Hill PB. Adherence of *Staphylococcus intermedius* to corneocytes of healthy and atopic dogs: effet of pyoderma, pruritus score, treatment and gender. Vet Dermatol 2005; 16: 385-91.

109. Nardoni S, Dini M, Taccini F, Mancianti F. Occurence, distribution and population size of *Malassezia pachydermatis* on skin and mucosae of atopic dogs. Vet Mirobiol 2007; 122: 172-7.

110. Halliwell REW. Hyposensitization in the treatment of atopic disease. In: Kirk RW, ed. Current Veterinary Therapy. Philadelphia: Saunders, 1977: 537-41.

111. Nesbitt GH. Canine allergic inhalant dermatitis: a review of 230 cases. J Am Vet Med Assoc 1978; 172: 55-60.

112. Reedy LM. Canine atopy. Compend Cont Educ Pract Vet 1979; 1: 550-6.

113. Mueller RS, Bettenay SV. Long-term immunotherapy of 146 with atopic dermatitis – a retrospective study. Aust Vet Pract 1996; 26: 128-32.

114. Park S, Ohya F, Yamashita K, Iwasaki T. Comparison of response to immunotherapy by intradermal skin test and antigen-specific IgE in canine atopy. J Vet Med Sci 2000; 62: 983-8.

115. Nuttall TJ, Thoday KL, van den Broek HM, Jackson HA, Sture GH, Halliwell REW. Retrospective survey of allergen immunotherapy in canine atopy. Vet Rec 1998; 143: 139-42.

116. Allergovet S.L. Calendario polinico 2006.
http://www.alergovet.com/en/docs/Calendario.pdf (30.07.2009)

117. Lintner TJ, Brame KA. The effects of season, climate and air-conditioning on the prevalence of *Dermatophagoides* mite allergens in household dust.
J Allergy Clin Immunol 1993; 91: 862-7.

118. Médaille C, Trumel C, Concordet D, Vergez F, Braun JP. Comparison of plasma/serum urea and creatinine concentrations in the dog: a 5-year retrospective study in a commercial veterinary clinical pathology laboratory.
J Vet Med A 2004; 51: 119-23.

119. Braun JP, Lefebvre HP, Watson AD. Creatinine in the dog: a review.
Vet Clin Pathol 2003; 32: 162-79.