

Pyometra hos hund – skyddande respektive predisponerande faktorer



Emelie Hedlund Salenstedt

*Uppsala
2018*

*Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen, 15 hp
Delnummer i serien 2018:73*

Pyometra hos hund – skyddande respektive predisponerande faktorer

Canine pyometra – potential risk factors

Emelie Hedlund Salenstedt

Handledare: Fredrik Södersten, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap (BVF)

Examinator: Maria Löfgren, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap (BVF)

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2018

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2018:73

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

Nyckelord: pyometra, hund, livmoderinflammation, riskfaktorer, ålder, ras, dräktighet, skendräktighet, hormonbehandling

Keywords: pyometra, canine, risk factors, age, breed, nulliparity, pseudopregnancy, hormonal treatment

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	3
Inledning	4
Material och metoder	4
Litteraturoversikt.....	5
Frisk uterus.....	5
Brunstcykel	5
<i>Proöstrus</i>	5
<i>Östrus</i>	5
<i>Diöstrus</i>	6
Könshormoner.....	6
<i>Östrogen</i>	6
<i>Progesteron</i>	6
Patogenes.....	6
<i>Hormonella faktorer</i>	7
<i>Infektiösa agens</i>	7
<i>Cystisk endometriehyperplasi</i>	8
<i>Symtom, diagnos, kliniska fynd och behandling</i>	8
Skyddande respektive predisponerande faktorer	9
<i>Ålder</i>	9
<i>Dräktighet</i>	9
<i>Skendräktighet</i>	10
<i>Genetik</i>	10
<i>Hormonbehandling</i>	11
Diskussion.....	12
Ålder.....	12
Dräktighet.....	12
Skendräktighet.....	13
Genetik	13
Hormonbehandling.....	14
Slutsats	15
Litteraturförteckning	16

SAMMANFATTNING

Pyometra är en allvarlig och utbredd sjukdom som främst drabbar äldre, intakta tikar. Sjukdomen utvecklas under lutealfasen och karaktäriseras av en inflammation och varansamling i uterus. Den vanligaste åtgärden är kastration. Etiologin tros vara att uterus under inflytande av östrogen och progesteron blir mer mottaglig för en ascenderande bakteriell infektion. Östrogen uppreglerar antalet östrogen- och progesteronreceptorer och förstärker därmed progesterons effekt på uterus. Progesteron verkar i sin tur på uterus genom att stimulera körteltillväxt, öka sekretion och minska kontraktilitet, vilket i sin tur leder till en ökad infektionskänslighet. I de allra flesta fall isoleras *Escherichia coli* i samband med pyometra och dess ursprung kan härledas till tikens normalflora. En annan del i etiologin är cystisk endometriehyperplasi (CEH), en histopatologisk förändring av endometriet som verkar predisponerande för pyometra. CEH ses dock frekvent som ett bifynd hos äldre tikar och kan förekomma oberoende av pyometra.

Genom åren har flertalet potentiellt skyddande respektive predisponerande faktorer varit föremål för vetenskapliga studier. Ålder är en sådan faktor och en ökad incidens bland äldre tikar är mycket tydlig. Mekanismer som föreslagits ligga bakom detta samband är bl.a. minskad fysiologisk motståndskraft, det ökande antalet genomgångna löpcykler och en ökad lokal produktion av progesteron. Vidare har dräktighet bekräftats vara en skyddande faktor i flertalet studier men orsaken till detta är inte utredd. Det har även visat sig att betydelsen av dräktighet som en skyddande faktor kan skilja sig åt mellan olika raser. Även kliniska symtom på skendräktighet och dess koppling till pyometra har undersökts. Resultaten är dock tvetydiga och det går inte att avgöra om skendräktighet fungerar som en skyddande eller predisponerande faktor. Vidare har man kunnat visa att incidensen mellan olika raser kan variera mellan ca 10-50 %, något som indikerar att genetiken spelar en viktig roll. Raser som konstaterats vara predisponerade är bl.a. långhårig collie, golden retriever, rottweiler, berner sennen, leonberger och cavalier king charles spaniel. Vilka genetiska komponenter som är aktuella är dock okänt, och man vet i dagens läge inte hur nedärvningen fungerar. En annan faktor som misstänkts öka risken för pyometra är farmakologisk behandling med östrogen eller progesteronderivat alternativt antiprogesteron. Studier har bekräftat ett positivt samband mellan behandling med östrogen och en lägre medelålder vid utvecklandet av pyometra. Det finns däremot inga studier som visar på någon koppling mellan behandling med progesteronderivat samt antiprogesteron och pyometra.

Både ålder, ras, dräktighet och östrogenbehandling kan spela en avgörande roll för vilka individer som drabbas av pyometra. Ålder och genetik bedöms som de viktigaste riskfaktorerna, medan dräktighet och östrogenbehandling kräver mer forskning innan man kan dra några slutsatser kring omfattningen av deras betydelse. I dagens läge har man kartlagt flertalet viktiga faktorer, men bristen på kunskap om deras mekanismer gör att man inte kan använda informationen på ett effektivt sätt. Fortsatta studier på både sjukdomens etiologi samt mekanismerna bakom predisponerande- respektive skyddande faktorer bör prioriteras, och framtida studier inom detta område skulle kunna leda fram till verktyg som kan spela en viktig roll i ett förebyggande arbete.

SUMMARY

Pyometra is a widespread and potentially life-threatening disease that is commonly seen in intact, older bitches. Pyometra develops during the luteal phase and is characterized by a severe inflammation in the endometrium and a pus filled lumen. The most effective treatment is spaying. The cause of the disease is believed to be the hormonal influence on the endometrium during the luteal phase of the estrus cycle. Estrogen and progesterone makes the uterus more susceptible to an ascending bacterial infection, which triggers the inflammation. Estrogen upregulates the number of estrogen- and progesterone receptors, hence it enhances the effect of progesterone. Progesterone itself stimulates glandular proliferation as well as secretion and suppresses myometrial contractions. The most common bacteria isolated in cases of pyometra is *Escherichia coli*. Cystic endometrial hyperplasia (CEH) is also considered to play a part in the aetiology of the disease and is frequently seen together with pyometra. CEH is on the other hand often seen in the older bitch without causing disease, hence it is believed that pyometra and CEH can develop independently of each other.

Potential risk factors as well as protective factors for the development of pyometra has been investigated in multiple studies. A higher incidence of pyometra is seen in older bitches. Possible explanations for this connection could be a reduced physiological resistance, the repeated exposure to progesterone during multiple estrus cycles or an increased local production of progesterone in the uterus. Nulliparity has been identified as a protective factor but the mechanism behind this is yet to be discovered. It also appears that nulliparity's role as a protective factor can vary in different breeds. Pseudopregnancy is another factor that has been thought to reduce the risk of developing pyometra, but recent studies has failed to confirm this. What has been confirmed is that some breeds suffer from an increased risk of developing pyometra. The incidence rate vary between 10-50 %. Amongst the breeds with the highest risk of developing pyometra is rough collie, golden retriever, Rottweiler, Bernese mountain dog, leonberger and the cavalier king charles spaniel. The mechanism behind the inheritance is unknown. Another potential risk factor is treatment with hormones (estrogens, progestin and medroxyprogesterone acetate). Studies show that treatment with estrogens leads to a higher risk of developing pyometra, especially in younger bitches. There are no evidence that treatment with progestin or medroxyprogesterone acetate would increase the risk of developing the disease.

Both age, breed, nulliparity and estrogen treatment can play a part in the development of pyometra. Age and breed are the most important risk factors. Nulliparity and estrogen treatment definitely seem to qualify as risk factors but more research is needed before you can make any conclusions about the extent of their influence. More research on the aetiology of pyometra as well as the mechanisms behind the predisposing and protective factors is needed. Further studies in this area could eventually generate knowledge and insights that could be useful in the work of preventing the development of the disease.

INLEDNING

Pyometra är en hormonellt inducerad infektion som leder till varansamling och inflammation i uterus, samt systemisk påverkan om tillståndet lämnas obehandlat (Jitpean, 2015; Zachary & McGavin, 2017). Det är en allvarlig sjukdom som drabbar runt 19 % av alla intakta tikar under 10 år (Jitpean *et al.*, 2012) och inom vissa raser insjuknar mer än hälften av alla tikar (Egenvall *et al.*, 2001; Jitpean *et al.*, 2012). Trots omfattande forskning de senaste femtio åren är sjukdomens etiologi inte helt klarlagd, men enligt den allmänt accepterade teorin rör det sig om ett samspel mellan hormoner och olika infektiösa agens (Hardy & Osborne, 1974; Sandholm *et al.*, 1975; Chen *et al.*, 2003). Även cystisk endometriehyperplasi (CEH) har identifierats som en viktig del i utvecklandet av pyometra (Dow, 1958).

Sedan pyometra först karaktäriserades har flertalet potentiellt predisponerande respektive skyddande faktorer så som genomgången dräktighet, skendräktighet, hormonbehandling, ålder och genetiska faktorer undersökts. Det har konstaterats att ras och ålder spelar en viktig roll (Niskanen & Thrusfield, 1998; Egenvall *et al.*, 2001). Det råder dock fortfarande en stor osäkerhet kring hur dessa faktorer verkar och vilken betydelse de har.

De allra flesta tikägare, och inte minst hunduppfödare, har någon gång kommit i kontakt med sjukdomen. Den höga incidensen i kombination med en osäker etiologi kan ha bidragit till att det i dagens läge florerar en hel del, mer eller mindre vetenskapligt belagda, teorier om skyddande respektive predisponerande faktorer. Syftet med den här studien är att sammanställa och värdera relevanta studier och på så vis ge en mer samlad och övergripande bild av de faktorer som påverkar utvecklingen av pyometra.

MATERIAL OCH METODER

Litteratursökningen har gjorts i databaserna Google Scholar, PubMed och Primo. Sökorden pyometra AND canine OR dog OR bitch AND risk factors OR low risk factors OR protective factors har använts i flera olika kombinationer. Urvalet har skett med avseende på språk och titelns relevans. Vidare har en del av de genererade artiklarnas referenser samt veterinärmedicinska böcker på ämnet anatomi, fysiologi och patologi använts.

LITTERATURÖVERSIKT

Frisk uterus

Tikens uterus består av två långa horn och en kort kropp. Uterus vägg är uppbyggd av tre lager: endometriet, myometriet och perimetriet. Lumen linjeras av endometriet (mucosan) som består av cylinderepitel och bindväv. Det finns även ett stort antal exokrina körtlar. Därefter följer myometriet som består av glatt muskulatur i två olika lager, ett inre cirkulärt lager samt ett yttre longitudinellt lager. Ytterst finns perimetriet (serosan) som består av bindväv (Sjaastad *et al.*, 2010). Perimetriet förbinds med peritoneum genom de ligament som håller uterus på plats (König & Liebich, 2014). Uterus utseende och funktion styrs av lokala och centrala endokrina signaler (Sjaastad *et al.*, 2010).

Brunstcykel

Hundens brunstcykel delas in i proöstrus, östrus, diöstrus och anöstrus. Proöstrus och östrus är det som i vardagligt tal kallas för tikens förlöp respektive höglöp. Därefter följer diöstrus, även kallat efterlöpet, och sedan anöstrus tills dess att nästa löp startar. Tikar uppvisar en stor individuell variation vad gäller längden på brunstcykeln, men generellt är det 6-8 månader mellan löpen. Vidare kan brunstcykeln delas in i två olika faser: follikelfasen och lutealfasen. Under den follikulära fasen dominerar östrogen vilket inducerar mognad av äggen följt av ovulation. Hit räknas proöstrus och östrus. Den luteala fasen startar vid ovulationen och sträcker sig fram till dess att corpus luteum (CL), en temporär endokrin körtel som bildas av resterna från den ovulerade follikeln, tillbakabildas. Hos hund sker detta 1-2 månader efter ovulationen (Sjaastad *et al.*, 2010).

Proöstrus

Proöstrus varar i ungefär 6-11 dagar och karaktäriseras av att mognande folliklar i äggstocken producerar ökade mängder östrogen vilket i sin tur leder till förändringar i endometriet. Makroskopiskt ses ökad vikt och volym och mikroskopiskt ses körteltillväxt och differentiering från kubiskt epitel till cylinderepitel. Cylinderepitelet ökar utsöndringen av mucus. Resultatet är en gynnsam miljö för spermier och befruktning av oocyten. Östrogenhalten når sitt maximum strax innan östrus. Under den här perioden uppvisar de flesta tikar blödning ur vulva (till följd av förändringar i uterus) samt en ökad attraktion av hanhundar (Sjaastad *et al.*, 2010).

Östrus

Proöstrus följs av östrus, även kallat brunsten eller höglöpet, och det är först då som tiken blir parningsvillig. Under östrus fortsätter körtlarna i endometriet att växa, men blödningen kan avta. Östrogenproduktionen i folliklarna ersätts av progesteronproduktion och östrogenhalten kommer successivt att sjunka. Till följd av den förändrade halten östrogen och progesteron kommer det att ske en snabb förhöjning i plasmakoncentrationen av luteiniserande hormon (LH) vilket i sin tur inducerar ovulation inom 1-4 dygn. Efter ovulationen, då oocyten släpps ur follikeln och därefter vandrar ned genom äggledaren, omvandlas follikeln till corpus luteum (CL). CL:s syfte är att producera progesteron. Slutet på östrus definieras av att östrogennivåerna sjunker till den basala nivån, något som sker efter 5-9 dagar (Sjaastad *et al.*, 2010).

Diöstrus

Diöstrus varar runt 60-100 dagar och karaktäriseras av en kvarstående CL och en förhöjd halt av progesteron. Hos de flesta djurslag finns en återkopplingsmekanism som gör att CL bryts ned om djuret inte blir dräktigt, men en sådan mekanism saknas hos hund. Konsekvensen av detta är att CL kvarstår under en dräktighetsperiod även om det inte finns några foster. Därmed kommer progesteron, även kallat det dräktighetsbevarande hormonet, att vara dominerande under den här perioden (Sjaastad *et al.*, 2010). Följden av detta är skendräktighet. Skendräktighet innebär liknande fysiologiska reaktioner som vid en dräktighet, men kan även innebära stora beteendeförändringar hos tiken. En del tikar uppvisar symtom så som depression, nedsatt aptit, förändrat beteende och aggression samt kraftigt ökad mjölksyntes och sekretion, ett tillstånd som ibland kan behöva behandlas av veterinär. Andra uppvisar inga som helst symtom och beter sig som vanligt under hela diöstrus (Gobello *et al.*, 2001).

Könshormoner

Östrogen

Hos honliga djur produceras östrogen av ovarie, placenta och binjurebark. Samtidigt som östrogen styr både ägglossning och sexuellt beteende har det även en viktig funktion i att förbereda uterus för befruktning. Detta görs genom att östrogen stimulerar körtlar och glatt muskulatur i endometriet, ökar blodflödet i uterus och vagina samt öppnar cervix (Sjaastad *et al.*, 2010). Östrogen uppreglerar även antalet östrogen- och progesteronreceptorer i uterus (Lessey *et al.*, 1981).

Progesteron

Progesteron är ett dräktighetsbevarande hormon vars syfte är att skapa en gynnsam miljö för fosterutveckling i uterus. Hos tik utsöndras progesteron av placenta och CL. Effekterna är ökad proliferation och sekretion av körtlar, minskad kontraktilitet, slutning av cervix samt lokalt och systemiskt dämpat immunförsvar (Sjaastad *et al.*, 2010; Ström-Holst *et al.*, 2013). Progesteron stimulerar även tillväxt av mjölkkörtlar (Sjaastad *et al.*, 2010).

Patogenes

Pyometra är en komplex sjukdom vars etiologi inte är helt klarlagd. Det står dock klart att hormonell påverkan lämnar uterus mer mottaglig för opportunistiska infektioner och att detta kan leda till utveckling av pyometra (Dow, 1958; Ström-Holst *et al.*, 2013; Sugiura *et al.*, 2014). Tikar med pyometra kan uppvisa allt ifrån mild klinisk sjukdom till ett mycket påverkat allmäntillstånd, varav det senare kopplas till sepsis och påverkan på andra organ (Jitpean *et al.*, 2014; Bronwyn Crane, 2015). Pyometra vid slutna cervix tenderar att ge upphov till allvarigare symtom (Dow, 1958). De vanligaste komplikationerna är peritonit och urinvägsinflammation (Sandholm *et al.*, 1975; Jitpean *et al.*, 2014). Mortaliteten är relativt låg och ligger kring 10%, avlivning inkluderat (Jitpean *et al.*, 2014).

Pyometra drabbar intakta tikar med en medelålder på i snitt 8,5 år (Niskanen & Thrusfield, 1998) men har konstaterats kunna drabba tikar ända från första löpet och högt upp i åldrarna

(Nelson & Feldman, 1986; Niskanen & Thrusfield, 1998). Om en del av uterus lämnas kvar vid kastration kan pyometra utvecklas i denna rest (Smith, 2006). Sjukdomen utvecklas under lutealfasen (Sandholm *et al.*, 1975; Nelson & Feldman, 1986), men sjukdomsutvecklingen kan dock variera från akut till subklinisk och progressiv vilket gör att diagnosticeringen kan ske långt senare (Smith, 2006). Tsumagari *et al.* (2004) har i en studie undersökt incidensen under olika stadier av brunstcykeln. Studien, där man inducerade pyometra (med *E. coli*) i friska tikar, visade att incidensen var som högst (90,9 %) dag 11-20 efter LH-toppen följt av 78,9 % incidens 21-30 dagar efter LH-toppen. Mindre än 20 % utvecklade sjukdomen om den inducerats dag 1-10 och 51-60 efter LH-toppen. De kliniska symtomen var dessutom allvarligare bland de som inducerats dag 11-30 efter LH-toppen i jämförelse med de andra fallen.

Hormonella faktorer

Tikens naturliga könshormoner östrogen och progesteron har en viktig roll i utvecklandet av pyometra (Hardy & Osborne, 1974; Ström-Holst *et al.*, 2013). Progesteron stimulerar proliferation och sekretorisk aktivitet av körtlar. Detta liknas vid ett förstadium till det patologiska tillståndet cystisk endometriehyperplasi (CEH), en förändring som är starkt kopplad till pyometra (Dow, 1958; Hardy & Osborne, 1974). Progesteron har dessutom en immundämpande effekt som bland annat sker genom minskad fagocyterande förmåga hos leukocyter, något som lämnar uterus mer mottaglig för bakteriella infektioner (Ström-Holst, 2013). Sandholm *et al.* (1975) har visat att de förändringar som sker i endometriet under progesteronpåverkan underlättar *Escherichia colis* adherens till specifika receptorer.

I Dows studie (1958) studerades förändringar i endometriet vid östrogen- respektive progesteronbehandling hos friska tikar. Behandling med enbart östrogen gav inga endometriella förändringar som kunde kopplas till pyometra. Däremot konstaterades det att behandling med progesteron leder till en uttalad cystisk körtelhyperplasi liknande den som ses i kliniska fall av pyometra. Dessa förändringar visade sig vara än mer uttalade om tiken tidigare behandlats med östrogen.

Halten cirkulerande progesteron är inte högre hos tikar med pyometra jämfört med friska tikar i samma stadiet av brunstcykel (Gultiken *et al.*, 2016). Gultiken *et al.* (2016) har däremot påvisat ett ökat uttryck av 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase, ett enzym som är centralt i produktionen av progesteron, i endometriet hos tikar med pyometra. De Bosschere *et al.* (2003) visade i sin studie en skillnad i receptoruttryck i endometriet hos tikar med pyometra jämfört med det hos friska tikar. Antalet östrogenreceptorer och progesteronreceptorer var färre respektive fler hos tikar med pyometra.

Infektiösa agens

I de allra flesta pyometrafall kan *Escherichia coli* isoleras (Dhaliwali *et al.*, 1998). *E. coli* finns normalt i tarm och vagina hos tiken och kan därmed migrera till uterus under proöstrus och östrus, då cervix är öppen (Watts *et al.*, 1996; Hagman & Kuhn, 2002). I jämförelser mellan DNA-profilen hos *E. coli* som isolerats i samband med pyometra och *E. coli* från samma tiks normalflora har identisk likhet konstaterats (Wadås *et al.*, 1996; Hagman & Kuhn, 2002). I de

flesta fall rör det sig om en bakterie i renkultur, men blandinfektioner förekommer (Vandeplassche *et al.*, 1991). Utöver *E. coli* har även streptokocker, enterokocker, *Pseudomonas spp*, *Proteus spp* samt *Klebsiella spp* isolerats i samband med pyometra (Sandholm *et al.*, 1975; Bronwyn Crane, 2014). Arora *et al* (2006) har visat att en frisk uterus normalt har ett starkt försvar mot patogena *E. coli*.

Cystisk endometriehyperplasi

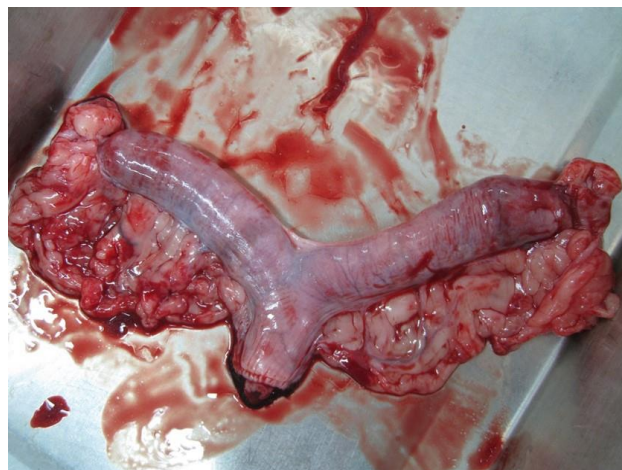
Cystisk endometriehyperplasi (CEH) ter sig som en ökning av både antal och storlek av endometriets körtlar (Dow, 1958). Vid CEH ses ingen inflammatorisk respons (Dow, 1958) och tillståndet ger vanligtvis inte upphov till några symtom utöver infertilitet (England *et al.*, 2012). Till följd av att CEH och pyometra ofta ses tillsammans, och det faktum att CEH tros göra uterus mer mottaglig för en bakteriell infektion, har dessa tillstånd länge setts som ett komplex (Dow, 1958; Nelson & Feldman, 1986; Zachary & McGavin, 2017). Det är dock fastslaget att CEH kan förekomma utan samtidig pyometra (Dow, 1958; De Bosschere *et al.*, 2001). Dow (1958) visade att risken för att utveckla CEH ökar med antalet löpcykler och att CEH ofta ses som ett bifynd hos äldre tikar.

Symtom, diagnos, kliniska fynd och behandling

Symtomen på pyometra kan variera mellan individer, men vanligtvis ses inappetens, letargi, polydipsi samt en spänd och ömmande buk. Beroende på om cervix är öppen eller ej ses flytningar från vulva (Smith, 2006). I vissa fall är symtomen mer diffusa och utgörs exempelvis enbart av generell stelhet hos tiken (Jitpean *et al.*, 2014). Vid provtagning ses vanligtvis förhöjda nivåer av vita blodkroppar och i vissa fall ses även en prerenal azotemi och uttorkning tillsammans med hyperproteinemi och hyperglobulinemi (Smith, 2006; Bronwyn Crane, 2014). Diagnos ställs genom en samlad bedömning av anamnes, klinisk undersökning, klinisk kemi samt ultraljud och/eller röntgen av uterus (Bronwyn Crane, 2014). Makroskopiskt ses en förstorad och varfylld uterus med varierande form. I endometriet ses olika grad av nekros, ulcerationer och hemorragiska områden. Eventuella flytningar från vagina kan variera i utseende, färg och lukt beroende på vilket infektiösa agens som är aktuellt (Zachary & McGavin, 2017). Exsudatet kan vara purulent, sanguinopurulent, muköst eller rent blod (Smith, 2006). Den vanligaste och mest effektiva behandlingen av pyometra är ovariehysterektomi (Fukuda, 2001; Jitpean, 2015). Kastration kan dock leda till oönskade komplikationer så som urininkontinens, övervikt, förändrad pälskvalitet och förändrat temperament. Det är även möjligt att behandla pyometra farmakologiskt,

Pyometra. Malin Parming (2012) med tillåtelse från Elisabeth Persson, institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi, SLU.

något som främst görs på djur med ett högt avelsvärde (Verstegen *et al.*, 2008). Risken



för återfall är dock påtaglig, särskilt hos äldre tikar (Ros *et al.*, 2014).

Skyddande respektive predisponerande faktorer

Ålder

Pyometra ses främst hos medelålders och äldre tikar, men även unga individer kan drabbas i samband med deras första lopp (Dow, 1958; Stone *et al.*, 1988, Niskanen & Thrusfield 1998; Fukuda, 2001; Egenvall *et al.*, 2001). I Egenvall *et al.*s studie (2001) med 200 000 försäkrade hundar som underlag konstaterades det att medelåldern för samtliga tikar var 4,35 år och medelåldern vid utvecklandet av pyometra var 6,7 år. Risken för att utveckla pyometra ökade betydligt från fyraårsåldern. Niskanen & Thrusfields (1998) resultat visade att medelåldern för spontant inducerad pyometra var 8,5 år, något som föreslås vara kopplat till ett ökat antal genomgångna löpcykler hos de äldre tikarna. Hagman *et al.* (2011) kunde i sin studie inte konstatera något samband mellan ett större antal genomgångna löpcykler (tidigt första lopp samt korta löpcykler och därmed tätt mellan löpen) och ökad risk för pyometra. Fukuda (2001) fann att medelåldern för tikar som utvecklar pyometra låg på 9,36 år och sågs mest frekvent hos tikar mellan 8-11 år. Utifrån detta presenterar Fukuda en teori om att den höga medelåldern vid insjuknandet beror på den äldre tikens minskade fysiologiska motståndskraft.

Gultikens studie (2016) visar att den ökade mängden 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase i uterus hos tikar med pyometra tyder på en ökad lokal produktion av progesteron hos äldre tikar. Gultiken föreslår att detta kan kopplas till humanforskning och det skifte i hormonproduktion som ses hos kvinnor som genomgått klimakteriet samt de följer det får. Dessa kvinnor har en ökad lokal produktion av könshormoner i uterus, vilken är en kompensation för en minskad produktion av hormoner i ovariet, och löper till följd av detta en ökad risk för att utveckla bröstcancer.

Dräktighet

Kopplingen mellan dräktighet och pyometra har varit föremål för flera studier. Tidigare har Dow (1958) presenterat resultat som pekar mot att genomgången dräktighet skulle fungera som en skyddande faktor. I Dows studie hade 78 % av alla tikar med pyometra aldrig genomgått en dräktighet, medan 6 % hade genomgått flera dräktigheter. Vidare har Niskanen & Thrusfield (1998) sett en sex gånger så stor risk för att drabbas av pyometra om tiken aldrig haft valpar. I Fukudas studie (2001) hade 60 % av de insjuknande hundarna aldrig haft valpar, medan de som valpat två eller fler gånger enbart stod för 16 % av de totala pyometrafallen. Flera studier har dock konstaterat att tidigare dräktighet, oavsett om det är en eller flera, inte ger något fullgott eller livslångt skydd mot utvecklandet av pyometra (Fukuda, 2001; Hagman *et al.*, 2011).

Hagman *et al.* (2011) har visat att betydelsen av tidigare dräktighet som en skyddande faktor kan skilja sig åt mellan raser. Studien inkluderade fem olika raser men stöd för att genomgången

dräktighet skulle minska risken för pyometra kunde enbart påvisas hos långhårig collie, rottweiler och labrador retriever.

Skendräktighet

Skendräktighet har i tidiga studier kopplats till en minskad risk för utvecklandet av pyometra (Dow, 1958; Fidler et al., 1966). Hagman et al. (2011) kunde i sin studie inte bekräfta något samband mellan skendräktighet och pyometra, varken som predisponerande eller skyddande faktor.

Vad som gör att vissa tikar visar tecken på skendräktighet och andra inte är inte helt fastslaget, men skillnader i halter av de naturliga hormonerna progesteron och prolaktin har föreslagits spela en viktig roll. Gerres & Hoffmans studie (1993) visade att tikar som gavs injektioner med anti-progesteron utvecklade skendräktighetssymtom tidigare jämfört med tikarna i kontrollgruppen. Samtidigt var både symtomen mildare och durationen kortare hos de behandlade tikarna. Tsutsui undersökte år 2005 halterna av prolaktin och progesteron hos 35 tikar med kliniska symtom på dräktighet. Dessa jämfördes sedan med nivåerna hos tikar som befann sig i samma period i brunstcykeln, men inte visade symtom på skendräktighet. Resultaten visade att tikar med kliniska symtom på skendräktighet generellt hade högre koncentrationer av prolaktin och lägre koncentrationer av progesteron än de i kontrollgruppen. Ett samband mellan högre prolaktinkoncentrationer och lägre progesteronnivåer kunde också bekräftas. Förhöjda prolaktinnivåer har även setts hos tikar som injicerats med aglepristone (anti-progesteron) under lutealfasen (Fieni *et al.*, 2001). Andra studier pekar mot att progesteronnivåerna under diöstrus i själva verket är högre hos skendräktiga tikar jämfört med tikar som inte uppvisar symtom på skendräktighet (Chakraborty, 1987).

Genetik

Egenvall *et al.* (2001) visade i sin studie, inkluderande data från över 200 000 svenska tikar under tio års ålder, att incidensen hos de undersökta raserna varierade mellan drygt 10-50 %. En förhöjd risk att utveckla pyometra sågs hos långhårig collie, rottweiler, cavalier king charles spaniel, golden retriever, berner sennen och engelsk cocker spaniel. Långhårig collie, rottweiler, cavalier king charles spaniel och golden retriever konstaterades löpa större risk att utveckla pyometra tidigare i livet jämfört med de övriga raserna. Bland de raser som visade sig ha lägre risk för att utveckla pyometra fanns drever, tysk schäferhund, tax (dvärg och normal) och hamiltonstövare. Jitpean et al. (2012) visade i en studie gjord på 260 000 tikar att incidensen var högst hos berner sennen (66 %), grand danois (62 %), leonberger (61 %), rottweiler (58 %) och irländsk varghund (58 %). Långhårig collie, cavalier king charles spaniel och engelsk cocker spaniel låg alla över 30 % incidens. Incidensen för samtliga raser varierade mellan 3-66 %. Niskanen & Thrusfields studie (1998) på finska tikar visade ökad risk hos sjutton raser, varav rottweiler, golden retriever, cavalier king charles spaniel, långhårig collie och leonberger fanns representerade bland dessa. Strävårig tax och blandraser löpte låg risk för att utveckla pyometra.

Hormonbehandling

Behandling med hormoner som påverkar uterus kan delas in i två olika kategorier: läkemedel som påverkar progesteronnivåer och läkemedel som påverkar östrogennivåer. Till den första kategorin hör progesteronderivat (till exempel progestin/medroxyprogesteronacetat (MPA)) samt antiprogesteron (till exempel aglepriston). MPA är mer potent än progesteron och sätter igång en negativ feedback-mekanism, som i slutändan leder till minskade nivåer av honliga könshormoner. Detta utnyttjas för att motverka ovulation och på så vis skjuta upp eller avbryta löp. Aglepriston har hög affinitet till progesteronreceptorerna i uterus och motverkar, genom kompetitiv hämning, progesterons verkan. Detta används för att avbryta en dräktighet (Gogny *et al.*, 2016). Behandling med naturligt östrogen används främst för kastrerade och urininkontinenta tikar, men även för att avbryta en dräktighet (Eilts, 2002).

Niskanen & Thrusfield (1998) har undersökt sambandet mellan hormonbehandlade tikar och incidensen av pyometra. Resultaten visade inte på någon ökad incidens av pyometra hos de tikar som behandlats med östrogen alternativt progestin. Däremot konstaterades det att medelåldern vid utvecklandet av pyometra hos östrogenbehandlade tikar var lägre i jämförelse med de som inte behandlats med hormoner. Slutgiltigt fastställdes en ökad risk för utvecklandet av pyometra för östrogenbehandlade tikar i åldern 1-4 år. Även Whitehead (2008) har visat att risken för tidig utveckling av pyometra ökar vid östrogenbehandling. Hagman *et al.* (2011) kunde inte se någon koppling mellan varken behandling med aglepriston eller MPA och en ökad risk för pyometra.

DISKUSSION

Ålder

Stigande ålder bör kunna ses som en klart disponerande faktor. Forskningsresultaten är samstämmiga och det finns idag inga studier som motbevisar detta (Niskanen & Thrusfield 1998; Egenvall *et al.*, 2001). Det saknas dock studier på exakt vad som gör att risken för pyometra ökar med stigande ålder, och i dagens läge kan man inte vara helt säker. Samtidigt är det en väldigt komplex fråga. Med stigande ålder förändras ju djurets fysiologi och det kan vara svårt att veta exakt vilka variabler som är viktiga. Både Dow (1958) och Niskanen & Thrusfield (1998) resonerar kring hypotesen att upprepad exponering för endogent progesteron ökar risken för pyometra. Denna hypotes stöds av progesterons väl dokumenterade roll som en del av etiologin (Dow; 1958; Hardy & Osborne, 1974; Sandholm, 1975; Ström-Holst *et al.*, 2013) samt Dows experiment (1958) där upprepade simulerade brunstcykler slutligen resulterade i patologiska förändringar av endometriet. Detta är dessutom i linje med att CEH oftare ses hos äldre tikar och samtidigt verkar predisponerande för pyometra (Dow, 1958). Hagman *et al.* (2011) finner i sin studie ingen koppling mellan tidigt första löp eller tätt mellan löpen och ökad risk för pyometra, något som talar emot Dow och Niskanen & Thrusfields hypotes. Fukuda (2001) föreslår att den ökade incidensen främst beror av minskad fysiologisk motståndskraft hos tiken. Han presenterar dock inte någon forskning, utöver den höga incidensen, som stödjer detta. Gultiken (2016) gör istället en koppling till ökad risk för bröstcancer hos äldre kvinnor till följd av ökad lokal produktion av progesteron, och det förhöjda uttryck av 3 β -hydroxysteroid dehydrogenas som man funnit hos tikar med pyometra. Gultiken drar slutsatsen att samma mekanismer kan ha betydelse för utvecklandet av pyometra hos äldre tikar och därmed utgör en viktig del i sambandet mellan ålder och ökad risk. Det är en intressant hypotes som kan vara aktuell för framtida forskningsprojekt.

I dagens läge pekar alltså studier och resonemang åt olika håll vad gäller den bakomliggande förklaringen till att risken för pyometra ökar med åldern. Det finns dessutom ytterligare faktorer som kan spela en viktig roll - med ålder ökar antalet hormonbehandlade tikar och dessutom ökar risken för många andra sjukdomar som skulle kunna predisponera för ytterligare en infektiös sjukdom. Sammanfattningsvis är det svårt att avgöra exakt vilka faktorer som är aktuella, och vilken betydelse dessa har. Det positiva sambandet mellan stigande ålder och ökad risk skulle kunna bero på en kombination av flera olika faktorer. För att kunna urskilja och bedöma deras betydelse krävs ett större vetenskapligt underlag och mer specialiserad forskning.

Dräktighet

Flera studier har presenterat stöd för teorin om att genomgången dräktighet skulle vara en skyddande faktor (Dow, 1958; Niskanen & Thrusfield, 1998; Fukuda, 2001) och bör därför anses agera som sådan. Vad detta samband beror på är däremot inte utrett. Man bör dessutom ta hänsyn till att dräktighet som skyddande faktor kan ha olika effekt i olika raser (Hagman *et al.*, 2011), men för att förstå bakomliggande förklaring till detta krävs mer forskning. Även om man kan dra slutsatsen att dräktighet generellt bör ge en något minskad risk för utvecklandet av pyometra anser jag inte att det, på något som helst vis, bör användas som argument för att para

en tik som annars inte skulle gått i avel. Man bör inte heller förlita sig på att dräktighet ger något fullgott skydd. Oavsett om tiken varit dräktig eller ej bör djurägare och veterinär alltid ha pyometra i åtanke om en intakt tik visar generella tecken på sjukdom.

Skendräktighet

Eftersom det inte är helt klarlagt varför vissa tikar visar mer symtom på skendräktighet än andra är det svårt att resonera kring skendräktighet som en skyddande eller predisponerande faktor. Detta försvåras ytterligare av att studier på progesteronnivåer hos skendräktiga tikar inte varit samstämmiga (Chakraborty, 1987; Tsutsui *et al.*, 2005). En anledning till de motstridiga resultaten skulle kunna vara att det är svårt att definiera skendräktighet. Tikar kan uppvisa olika grad av skendräktighet och det kan dessutom variera i intensitet över tid, något som försvårar gränsdragning och gradering. Tsutsuis studie (2005) är dock relativt omfattande med sina 35 fall av skendräktighet och metoderna är moderna, något som talar för ett tillförlitligt resultat. Utgår man ifrån detta är progesteronnivåerna och prolaktinnivåerna lägre respektive högre hos tikar med kliniska tecken på skendräktighet, jämfört med tikar som under lutealfasen inte visar sådana symtom. Med progesterons viktiga roll som en del av etiologin (Dow; 1958; Hardy & Osborne, 1974; Sandholm, 1975; Ström-Holst *et al.*, 2013) verkar det rimligt att en lägre nivå av progesteron potentiellt skulle kunna minska risken för pyometra. Detta skulle då göra kliniska tecken på skendräktighet till en skyddande faktor för utvecklandet av pyometra. Samtidigt finns det bara ett fåtal studier som undersökt detta, och i de studier som antytt ett samband har kriterier för skendräktighet inte varit helt tydliga (Dow, 1958; Fidler *et al.*, 1966). Dessutom kunde man i Hagman *et als* studie (2011) på totalt 174 individer inte bekräfta någon sådan korrelation. Jag drar därför slutsatsen att man i dagens läge inte helt säkert kan styrka att skendräktighet fungerar som varken skyddande eller predisponerade faktor. De faktum att skendräktighet verkar kunna kopplas till avvikande hormonnivåer samtidigt som det uppträder under diöstrus gör det dock fortsatt aktuellt för framtida forskning.

Genetik

Att det verkar finnas predisponerade raser är svårt att argumentera emot. Flera oberoende studier har identifierat en förhöjd risk för utvecklandet av pyometra hos ett antal raser och dessutom återkommer samma raser i olika studier, både vad gäller ökad risk och lägre risk. Bland de raser som visats sig ha en ökad risk för pyometra i mer än en studie finns långhårig collie, golden retriever, rottweiler, berner sennen, leonberger och cavalier king charles spaniel (Niskanen & Thrusfield, 1998; Egenvall *et al.*, 2001; Jitpean *et al.*, 2012). Tax har identifierats som en lågriskras i mer än en studie (Niskanen & Thrusfield, 1998; Egenvall *et al.*, 2001). Resultaten från den här typen av studier kan dock vara svårtolkade, särskilt om underlaget är litet. Dessutom bör man ta hänsyn till varifrån man hämtar data – används försäkrade hundar är det viktigt att ta i beaktning att en del raser kan vara underrepresenterade. En del raser, framförallt jakthundar, kan dessutom tänkas ha en genomsnittligt kortare livslängd till följd av att de är mer utsatta för risken att förolyckas i exempelvis bilolyckor och rovdjursattacker. Därmed kan det tänkas vara så att individer inom dessa raser ibland inte hinner utveckla pyometra, som ju är kopplat till högre åldrar, innan de dör och därmed försvinner ur statistiken.

Det verkar som om de flesta predisponerade raserna är av större storlek (Niskanen & Thrusfield, 1998; Egenvall *et al.*, 2001; Jitpean *et al.*, 2012). Detta indikerar att det kan finnas ett samband mellan storlek och utvecklandet av pyometra. Något som är värt att ta med i bedömningen av detta är dock att de större studierna, det vill säga Egenvall *et al.* (2001) samt Jitpean *et al.* (2012), endast inkluderat hundar under tio års ålder. Eftersom risken för pyometra ökar med åldern verkar det också troligt att en hel del fall av pyometra hos mindre hundraser inte inkluderas i dessa studier. Detta till följd av att små raser tenderar att leva längre och att den fysiologiska åldringen sker senare. Därmed kan åldern som predisponerande faktor tänkas träda in först efter tio års ålder.

Varför det finns en genetisk predisposition för pyometra är inte klarlagt. Teoretiskt sett skulle det kunna kopplas till skillnader i receptoruttryck, något som är genetiskt reglerat. Ett förhöjt uttryck av progesteronreceptorer skulle leda till större effekt av progesteron på uterus, och därmed inducera pyometra och/eller CEH, som i sin tur kan verka predisponerande för pyometra.

Bör man då avla på en individ som har ett stort antal tikar med pyometra bakom sig? Med den information vi har idag blir det en svår och komplex fråga. I dagens läge vet vi inte vilka individer inom rasen som bär på det predisponerande genmaterialet, och vi kan inte säga hur det nedärvs. Därmed är det svårt att planera aveln utefter detta. Men med tanke på att genetiken verkar spela en viktig roll kan det ändå finnas värde i att delvis välja avelsdjur med avseende på frihet från pyometra bakåt i släktledet. Vad som dock står helt klart är att forskning på de genetiska faktorerna bör prioriteras. Inom vissa raser drabbas mer än hälften av tikarna av pyometra någon gång under sitt liv, samtidigt som sjukdomen tenderar att bli en allvarlig och kostsam historia med kastration och risk för komplikationer som följd (Egenvall *et al.*, 2001; Jitpean, 2015). Bättre förståelse för nedärvningen skulle teoretiskt sett kunna leda fram till ett gentest samt ett screeningprogram som kan användas i avelsarbete. Med hjälp av detta skulle man kunna välja bort avelsdjur och successivt minska incidensen inom rasen – något som vore gynnsamt för både djurägare, hundar och inte minst genpoolen.

Hormonbehandling

Flera studier presenterar bevis för att behandling med östrogen kan kopplas till en ökad risk för tidig utveckling av pyometra (Niskanen & Thrusfield, 1998; Whitehead, 2008). Detta fenomen skulle till viss del kunna kopplas till östrogens uppreglerande effekt på progesteron- och östrogenreceptorer i uterus, men varför det har särskild påverkan på unga tikar är inte utrett. Tills vidare anser jag ändå att underlaget är tillräckligt för att ta med denna potentiella risk som en del i bedömningen av för- och nackdelar med östrogenbehandling av tik.

Att behandling med MPA och aglepriston inte verkar öka risken för pyometra (Niskanen & Thrusfield, 1998; Hagman *et al.*, 2011) kan te sig logiskt då de dämpar effekten av östrogen och progesteron, som ju är en del av etiologin bakom pyometra (Dow; 1958; Hardy & Osborne, 1974; Sandholm, 1975; Ström-Holst *et al.*, 2013). I båda studierna är dock underlaget begränsat, både med avseende på antalet hormonbehandlade hundar och de undersökta preparaten. För

säkrare svar på frågan hur behandling med progesteronrelaterade preparat påverkar uterus och eventuell predisponering för pyometra krävs större och mer specifika studier.

Slutsats

Sammanfattningsvis drar jag slutsatsen att det finns flertalet skyddande respektive predisponerade faktorer vilka tycks spela en viktig roll i sjukdomsutvecklingen. Ett stort antal studier bekräftar detta, men det är svårt att göra något av informationen då det i dagens läge saknas forskning på de bakomliggande mekanismerna. Att etiologin bakom pyometra inte är helt utredd försvårar dessutom värderingen av dessa faktorer. Ålder är den klart viktigaste och mest väldokumenterade predisponerande faktorn. Vissa raser bör även ses som predisponerade, varav långhårig collie, leonberger, rottweiler, cavalier king charles spaniel och golden retriever är några av dem. Vidare leder behandling med östrogen till en ökad risk för utveckling av pyometra hos unga individer. Dräktighet kan ses som en skyddande faktor, men till vilken grad är mycket osäkert. Skendräktighet förblir ett frågetecken och man kan i dagens läge inte dra några helt säkra slutsatser om dess koppling till pyometra.

Det faktum att pyometra är både en allvarlig och frekvent förekommande sjukdom kvarstår. Vi vet om att det finns ett antal skyddande respektive predisponerande faktorer, men det är mycket möjligt att det finns fler, i dagens läge okända, faktorer som kan ha en stor betydelse för vilka individer som drabbas. Min förhoppning är att framtida forskning inom detta område ska leda fram till verktyg som i slutändan kan hjälpa oss att minska incidensen.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Arora, N., Sandford, J., Browning, G. F., Sandy, J. R., Wright, P. J. (2006). A model for cystic endometrial hyperplasia/pyometra complex in the bitch. *Theriogenology*, 66: 1530-1536.
- Bronwyn Crane, M. (2014). *Pyometra*. I: Silverstein, D. C. & Hopper, K. (red), *Small animal critical care*. 2. Uppl. Missouri: S, 667-671.
- Chakraborty, P. K. (1987). Reproductive hormone concentrations during estrus, pregnancy, and pseudopregnancy on the Labrador bitch. *Theriogenology*, 27: 827-840.
- Chen, Y. M., Wright, P. J., Chee-Seong, L., Browning, G. F. (2003). Uropathogenic virulence factors in isolates of *Escherichia Coli* from clinical cases of canine pyometra and feces of healthy bitches. *Veterinary Microbiology*, 94: 57-69.
- De Bosschere, Ducatelle, & Tshamala. (2003). Uterine Oestrogen and Progesterone Receptor Expression in Experimental Pyometra in the Bitch. *Journal of Comparative Pathology*, 128: 99-106.
- De Bosschere, H., Ducatelle, R., Vermeirsch, H., Van Den Broeck, W. & Coryn, M. (2001). Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch: Should the two entities be disconnected? *Theriogenology*, 55: 1509-1519.
- Dhaliwal, G. K., Wray, C. & Noakes, D. E. (1998). Uterine bacterial flora and uterine lesions in bitches with cystic endometrial hyperplasia (pyometra). *Veterinary Record*, 143: 659-661.
- Dow, C. (1958). The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *The Veterinary Record* 69: 1409-1415.
- Egenvall, A., Hagman, R., Bonnett, B., Hedhammar, A., Olson, P., & Lagerstedt, A. (2001). Breed Risk of Pyometra in Insured Dogs in Sweden. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15: 530-538.
- England, G.C.W.; Moxon R.; & Freeman S.L. (2012). Delayed uterine fluid clearance and reduced uterine perfusion in bitches with endometrial hyperplasia and clinical management with postmating antibiotic. *Theriogenology*, 78: 1611–1617.
- Fidler, I.J., Brodey, R.S., Howson, A.E., Cohen, D. (1966). Relationship of estrous irregularity, pseudopregnancy, and pregnancy to canine pyometra. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 149: 1043-6.
- Fieni, F., Martal, J., Marnet, P. G., Siliart, B., Bernard, F., Riou, M., Bruyas, J. F., Tainturier, D. (2001). Hormonal variation in bitches after early or mid-pregnancy termination with aglepristone (RU534). *Journal of reproduction and fertility supplement*, 57: 243-248.
- Fukuda, S. (2001). Incidence of pyometra in colony-raised beagle dogs. *Experimental Animals*, 50: 325-329.
- Gerres, S. & Hoffmann, B. (1993). Investigations on the role of progesterone in the endocrine control of overt pseudopregnancy in the bitch: application of an antigestagen and effects on corpus luteum function. *Animal reproduction science*, 35: 281-289.
- Gobello, C., de la Sota, R.L, Goya, R.G. (2001). A review of canine pseudocyesis. *Reproduction of domestic animals*, 36: 283-288.
- Gultiken, N., Yarim, M., Yarim, G.F., Gacar, A., Mason, J. I. (2016). Expression of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in ovarian and uterine tissue during diestrus and open cervix cystic endometrial hyperplasia-pyometra in the bitch. *Theriogenology*, 86: 572-578.

- Hagman, R., Kuhn, I. (2002). Escherichia coli strains isolated from the uterus and urinary bladder of bitches suffering from pyometra: Comparison by restriction enzyme digestion and pulsed-field gel electrophoresis. *Veterinary Microbiology*, 84:143–153.
- Hagman, R., Lagerstedt, A.-S., Hedhammar, A. & Egenvall, A. (2011). A breedmatched case-control study of potential risk-factors for canine pyometra. *Theriogenology*, 75: 1251-1257.
- Hardy, R.M. & Osborne, C.A. (1974). Canine pyometra: pathophysiology, diagnosis and treatment of uterine and extra-uterine lesions. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 10: 245-268.
- Jitpean, S. (2015). *Predictive markers and risk factors in canine pyometra*. Diss. Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet.
- Jitpean, S., Hagman, R., Ström-Holst, B., Höglund, O.V., Pettersson, A., Egenvall, A. (2012). Breed Variations in the Incidence of Pyometra and Mammary Tumours in Swedish Dogs. *Reproduction in domestic animals*, 47: 347-360.
- König, H. E, Liebich, H. (2009). *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: Textbook and Colour Atlas*. 6. uppl. Stuttgart: Schattauer.
- Lessey, B. A., Wahawisan, R. & Gorell, T. A. (1981). Hormonal regulation of cytoplasmic estrogen and progesterone receptors in the beagle uterus and oviduct. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 21: 171-180.
- Nelson, R.W., Feldman, E.C. (1986). Pyometra. *Veterinary clinics of North America: Small animal practice*, 16: 561-576.
- Niskanen, M. & Thrusfield, M.V. (1998). Associations between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in Finnish dogs. *Veterinary Record*, 143: 493-498.
- Ros, L., Holst, B.S. & Hagman, R. (2014). A retrospective study of bitches with pyometra, medically treated with aglepristone. *Theriogenology*, 82: 1281-1286.
- Sandholm, M., Vasenius, H. & Kivisto, A.K. (1975). Pathogenesis of canine pyometra. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 167: 1006-1010.
- Sjaastad, Øystein V., Hove, K. & Sand, O., (2010). *Physiology of domestic animals* 2. uppl, Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Smith, F. (2006). Canine pyometra. *Theriogenology*, 66: 610-612.
- Sugiura K., Nishikawa M., Ishiguro K., Tajima T., Inaba M., Torii R. (2004). Effect of ovarian hormones on periodical changes in immune resistance associated with estrous cycle in the beagle bitch. *Immunobiology*, 209: 619–267.
- Tsumagari, S., Ishinazaka, T., Kamata, H., Ohba, S., Tanaka, S., Ishii, M., Memon, M.A. (2005). Induction of canine pyometra by inoculation of Escherichia Coli into the uterus and its relationship to reproductive features. *Animal reproduction science*, 87: 301-308.
- Tsutsui, T., Kirihara, N., Hori, T., Concannon P.W. (2007). Plasma progesterone and prolactin concentrations in overtly pseudopregnant bitches: A clinical study. *Theriogenology*, 67: 1032-1038.

Vandeplassche, M., Coryn, M. & De Schepper, J. (1991). Pyometra in the bitch: Cytological, bacterial, histological and endocrinological characteristics. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 60: 207-211.

Verstegen, J., Dhaliwal, G., Verstegen-Onclin, K. (2008). Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: advances in treatment and assessment of future reproductive success. *Theriogenology*, 70: 364-374.

Wadås, B., Kühn, I., Lagerstedt, A. S., Jonsson, P. (1996). Biochemical phenotypes of *Escherichia Coli* in dogs: comparison of isolates isolated from bitches suffering from pyometra and urinary tract infection with isolates from faeces from healthy dogs. *Veterinary microbiology*, 52: 293-300.

Watts, J.R., Wright, P.J. & Whithear, K.C. (1996). Uterine, cervical and vaginal microflora of the normal bitch throughout the reproductive cycle. *The Journal of Small Animal Practice*, 37: 54-60.

Whitehead, M.L. (2008). Risk of pyometra in bitches treated for mismating with low doses of oestradiol benzoate. *Veterinary Record*, 162: 746-9.

Zachary, J.F, McGavin, M.D. (2017). Pathologic basis of veterinary disease. 6. Uppl. Missouri: Elsevier.