



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**
Institutionen för kliniska vetenskaper

Behandling av immunmedierad hemolytisk anemi hos hund

- en retrospektiv journalstudie

Emelie Johansson

*Uppsala
2018*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2018:75*

Behandling av immunmedierad hemolytisk anemi hos hund – en retrospektiv journalstudie

Treatment in dogs with immune mediated hemolytic anemia – a retrospective medical records study

Emelie Johansson

Handledare: *Helene Hamlin, SLU, institutionen för kliniska vetenskaper*

Biträdande handledare: *Inger Lilliehöök, SLU, institutionen för kliniska vetenskaper*

Examinator: *Ingrid Ljungvall, SLU, institutionen för kliniska vetenskaper*

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0830

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2018

Delnummer i serie: Examensarbete 2018:75

ISSN: 1652-8697

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

Nyckelord: IMHA, AIHA, IHA, immunmedierad, hemolytisk, anemi, autoimmun hemolytisk anemi, hund, behandling

Key words: IMHA, AIHA, immune-mediated hemolytic anemia, immune mediated hemolytic anemia, autoimmune hemolytic anemia, dog, canine, treatment

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

SAMMANFATTNING

Immunmedierad hemolytisk anemi (IMHA) är en av de vanligaste immunmedierade sjukdomarna och en vanlig orsak till anemi hos hund. IMHA karaktäriseras av en ökad destruktion av röda blodkroppar som ett resultat av immunglobulinbindning till glukoproteiner på cellytan. Den kliniska sjukdomsbilden vid IMHA har typiskt ett akut insättande och orsakar kraftig anemi. Det är en sjukdom som har hög komplikationsrisk och dödlighet. Behandlingen består av att hantera en eventuell underliggande orsak till sjukdomen, behandla anemin med understödjande behandling samt att direkt behandla patientens IMHA med läkemedel som verkar immunosupprimerande. Förstahandspreparat i den immunosuppressiva behandlingen vid IMHA är så gott som alltid glukokortikoider. Vid kraftig sjukdom används glukokortikoider ofta tillsammans med bland annat preparatet azatioprin. Målet med kombinationsbehandlingen är att uppnå en kraftigare immunosuppressiv effekt och att kunna sänka doserna av båda läkemedlen. Om en kombinationsbehandling leder till ökad överlevnad hos hundar med IMHA är dock inte fastställt. I detta arbete utfördes en retrospektiv journalstudie med 21 fall från Universitetsdjursjukhuset (UDS) i Uppsala med frågeställningen om någon skillnad i överlevnad kunde ses efter ett år mellan patienter som behandlats immunosuppressivt för IMHA med endast glukokortikoider (prednisolon) och de som behandlats med glukokortikoider i kombination med azatioprin. Doseringen för den immunosuppressiva behandlingen var inte standardiserad. Startdoserna för prednisolon låg mellan 2,0 och 4,2 mg/kg/dygn för de nio hundar som behandlades immunosuppressivt med endast prednisolon och mellan 1,6 och 4,0 mg/kg/dygn för de tolv som fick både prednisolon och azatioprin. Doserna för den immunosuppressiva behandlingen för hela behandlingstiden (i den mån information om nedtrappning funnits tillgänglig) presenteras i diagram både övergripande för respektive behandlingsgrupp samt för varje enskild patient. I den långsiktiga överlevnadsstudien kunde ingen tydlig skillnad i överlevnad ses ett år efter påbörjad behandling mellan de två olika behandlingsprotokollen, men fler fall hade behövts för att bedöma att ingen skillnad föreligger. Värdet av att använda azatioprin som del i den immunosuppressiva behandlingen vid IMHA hos hund kan dock inte avfärdas och frågan huruvida azatioprin kan ha en betydelse mer akut i sjukdomen diskuteras. I arbetet presenteras även ras, köns- och åldersfördelning både inom studien och för de 72 hundar som diagnosticerats med IMHA vid UDS i Uppsala mellan 2009 och 2017. Bland de 72 IMHA-diagnosticerade hundarna var cocker spaniel och blandras överrepresenterade. 62,5 % av hundarna var tikar och 56,9 % var mellan fem och åtta år gamla.

I mindre utsträckning nämns även behandling med antitrombotika och immunosuppressiv behandling med ciklosporin. Det låga antalet patienter och bristen av standardisering i doseringar i respektive behandlingsgrupp gör det svårt att dra några slutsatser när det gäller val av immunosuppressivt behandlingsprotokoll vid IMHA hos hund. En studie med större urval med fokus på preparat, dosering och överlevnad är önskvärd för att ge bättre information. Ett samarbete mellan flera djursjukhus skulle gärna ses för att öka antalet deltagande hundar.

SUMMARY

Immune-mediated hemolytic anemia (IMHA) is one of the most common immune-mediated diseases and a common cause of anemia in dogs. IMHA is characterized by an increase in the destruction of red blood cells as a result from immunoglobulin-binding to glycoproteins on the cell surface. The clinical signs typically have an acute onset and causes severe anemia. It is a disease with high risks for complication and high mortality. The IMHA treatment consists of treating a possible cause for the disease, managing the anemia with supportive treatment and directly treating the IMHA with immunosuppressive drugs. Glucocorticoids is the mainstay for the immunosuppressive treatment for IMHA. In the cases of severe IMHA the glucocorticoids are often combined with azathioprine. The purpose of the combination treatment is to achieve a greater immunosuppressive effect and to be able to lower the doses of both drugs. If a combination of these drugs leads to an increased survival in dogs with IMHA is yet to be decided. The results from a retrospective study with 21 cases from the University Animal Hospital (UDS) in Uppsala is included in this report. In this study, the question if any difference in survival can be seen between an immunosuppressive treatment with only glucocorticoids (prednisolone) and treatment with a combination of glucocorticoids and azathioprine tries to be answered. The doses for the immunosuppressive treatment was not standardized. The initial doses of prednisolone were between 2.0 and 4.2 mg/kg/day for the nine dogs that got immunosuppressive treatment with only prednisolone and between 1.6 and 4.0 mg/kg/day for the twelve that got both prednisolone and azathioprine. The doses for the immunosuppressive treatment for the whole treatment time (depending on the dose regimen information available) is presented in diagrams both in general for both treatment groups and for each patient. No apparent difference in survival one year after treatment initiation between the two protocols could be seen in the study, but to judge that no difference is present more cases would have had to been included in the study. However, the value of azathioprine as part of the immunosuppressive treatment in dogs with IMHA cannot be completely ruled out and the question is raised about whether azathioprine can have an effect more acutely in the disease. In addition, the division of breed, gender and age is presented for the 72 dogs that was diagnosed with IMHA at UDS in Uppsala between 2009 and 2017. Among the 72 IMHA diagnosed dogs cocker spaniel and crossbreed was overrepresented. 62.5% of the dogs were females and 56.9% in the ages between five and eight years.

In lesser extent, treatment with antithrombotic drugs and immunosuppressive treatment with cyclosporine are mentioned. The low number of patients and the lack of dosage standardization in the treatment groups makes it difficult to draw any conclusions about choice of immunosuppressive treatment protocol in IMHA dogs. A study with a larger number of patients with focus on type of drug, dosage and survival is desirable to get better information. Tentatively a cooperation between multiple animal hospitals would help to increase the number of participant patients.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

INLEDNING	1
LITTERATURÖVERSIKT	2
IMMUNMEDIERAD HEMOLYTISK ANEMI (IMHA).....	2
<i>Anemi</i>	2
<i>Hemolys och antikroppar</i>	3
<i>Olika former av IMHA</i>	4
<i>Raspredisponering</i>	4
DIAGNOSTIK VID IMHA.....	5
<i>Kliniska sjukdomstecken</i>	5
<i>Regeneration</i>	5
<i>Sfärocytos</i>	5
<i>Spontanagglutination</i>	6
<i>Coomb's test</i>	6
<i>Övriga analyser</i>	6
<i>Bilddiagnostik</i>	7
BEHANDLING AV IMHA.....	7
<i>Glukokortikoider</i>	7
<i>Azatioprin</i>	9
<i>Ciklosporin</i>	10
<i>Behandling av trombembolism</i>	10
MATERIAL OCH METODER	12
JOURNALSTUDIE.....	12
<i>Urval</i>	12
<i>Uppföljning</i>	12
<i>Bearbetning av information</i>	12
RESULTAT	14
DIAGNOS IMHA/AIHA	14
<i>Rasfördelning</i>	14
<i>Könsfördelning</i>	15
<i>Diagnostiska parametrar</i>	16
BEHANDLINGSGRUPP A OCH B	16
<i>Behandling, inklusive dosering</i>	17
<i>Behandlingsgrupp A</i>	17
<i>Behandlingsgrupp B</i>	21
<i>Jämförelse av medianvärden för prednisolondosering</i>	26
CIKLOSPORINBEHANDLING, BEHANDLINGSGRUPP C	26
ÖVERLEVNADSTUDIE PÅ 21 HUNDAR, BEHANDLINGSGRUPP A OCH B	28
<i>Urval</i>	28
<i>Överlevnad</i>	28
<i>Uppföljning</i>	30
HEMATOKRIT MELLAN 13 OCH 19 % I BEHANDLINGSGRUPP A OCH B	30
HUNDAR SOM AVLED ELLER AVLIVADES FÖRSTA BEHANDLINGSVECKAN	31
<i>Dödsorsaker</i>	31
<i>Överlevnad</i>	31

DISKUSSION	32
ÖVERLEVNADSTUDIE PÅ 21 HUNDAR.....	32
<i>Överlevnad</i>	32
<i>Immunosuppressiv behandling och dosering</i>	32
<i>Rasfördelning</i>	33
<i>Könsfördelning</i>	34
<i>Inklusionskriterier och vidare studier</i>	34
<i>Behandling med antitrombotika</i>	35
HUNDAR SOM AVLED ELLER AVLIVADES FÖRSTA BEHANDLINGSVECKAN	35
CIKLOSPORINBEHANDLING	36
ÖVRIGA BEGRÄNSNINGAR OCH FELKÄLLOR	36
KONKLUSION.....	37
LITTERATURFÖRTECKNING	38

INLEDNING

Immunmedierad hemolytisk anemi (IMHA) är en av de vanligaste immunmedierade sjukdomarna och en av de vanligaste orsakerna till anemi hos hundar. IMHA karaktäriseras av en ökad destruktion av röda blodkroppar som ett resultat av immunglobulinbindning till glukoproteiner på erytrocyternas cellyta. Den kliniska sjukdomsbilden vid IMHA har typiskt ett akut insättande och orsakar oftast kraftig anemi. Det är en sjukdom som har hög komplikationsrisk och hög dödlighet (Balch & Mackin, 2007; Swann & Skelly, 2016).

Studier har visat att vissa hundraser (exempelvis cocker spaniel och amerikansk cocker spaniel) är predisponerade att utveckla IMHA, vilket antyder att en genetisk komponent kan vara involverad. Det har dock ej kunnat ses en ökad dödlighet hos IMHA-drabbade hundar av dessa raser jämfört med andra raser (Weinkle *et. al.*, 2005). Studier har även visat att sjukdomen är mest förekommande hos unga till medelålders tikar. Alla raser, åldrar och kön kan dock drabbas (Balch & Mackin, 2007).

Behandling vid IMHA består av att hantera en eventuell underliggande orsak till sjukdomen, behandla anemin med understödjande behandling samt att direkt behandla patientens IMHA med läkemedel som verkar immunsupprimerande. Den generella behandlingen har därmed målen att öka syresättningen samt att trycka ned immunförsvaret så att det inte längre kan attackera kroppens egna celler. För en ökad syresättning är det vanligt att kritiskt sjuka djur behöver extra syrgastillförsel och/eller blodtransfusion. Den immunosuppressiva behandlingen vid IMHA går ut på att hämma lymfocyternas antikroppsproduktion och/eller hämma nedbrytningen av de antikroppstäckta erytrocyterna. För immunosuppression är det glukokortikoider, och främst prednisolon, som anses vara förstahandsval. Prednisolon har dock många bieffekter, men har fördelen jämfört med en del andra glukokortikoider att de kan ges varannan dag vid längre tids behandling. Flera andra läkemedel har använts som komplement till prednisolon, däribland azatioprin, för att kunna minska dosen prednisolon och för att uppnå en kraftigare immunosuppressiv effekt, särskilt vid de allvarligare fallen av IMHA. Om kombinationen av dessa två läkemedel ger en högre överlevnad jämfört med en behandling med endast prednisolon råder det stor oklarhet kring inom veterinärmedicinen. Ett tydligt behandlingsprotokoll för immunsupprimering vid IMHA hos hund saknas därför (Piek *et. al.*, 2011, Swann & Skelly, 2016). Dödligheten hos hundar med kraftig IMHA är hög och det skulle behövas bättre immunosuppressiva behandlingsprotokoll med syfte att öka överlevnaden (Weinkle *et. al.*, 2005; Al-Ghazlat, 2009).

Detta arbete centreras kring en retrospektiv journalstudie med 21 fall från Universitetsdjursjukhuset (UDS) i Uppsala, med frågeställningen om det kan ses skillnad i överlevnad mellan de IMHA-drabbade hundar som behandlats immunosuppressivt med prednisolon och de som behandlats med en kombination av prednisolon och azatioprin. Förutom att jämföra överlevnaden så har fokus även lagts vid dosering, som presenteras både övergripande och för varje patient i form av diagram.

LITTERATURÖVERSIKT

Immunmedierad hemolytisk anemi (IMHA)

Anemi

Anemi definieras som en sänkning av totalantalet röda blodkroppar (erythrocyter) eller av mängden hemoglobin i blodet (Johnson-Wimbley & Graham, 2011). Erythrocyter har den viktiga funktionen i kroppen att transportera syre från lungorna ut till kroppens vävnader (Kuhn *et. al.*, 2017). De sjukdomstecken som uppstår vid anemi så som bleka slemhinnor och orkeslöshet beror därför främst på syrebrist. Inom veterinärmedicinen används ofta parametern erythrocyt volymfraktion (EVF, hematokrit) som anger hur stor del av blodet som består av röda blodkroppar (Nelson & Couto, 2014). Utifrån hematokrit-värdet graderas anemin i lindrig, måttlig, kraftig och grav enligt tabell 1 nedan.

Tabell 1. Gradering av anemins omfattning hos hund baserat på hematokrit (används vid avdelningen för klinisk kemi, Universitetsdjursjukhuset Uppsala)

Grad av anemi	Hematokrit (%) hund
Ingen	≥38
Lindrig	30–37
Måttlig	20–29
Kraftig	13–19
Grav	<13

Anemi orsakas antingen av en nedsatt produktion eller en ökad konsumtion av erythrocyter. Vid en nedsatt produktion rör det sig i regel om en icke regenerativ anemi och vid ökad konsumtion om en regenerativ anemi. Vid en icke regenerativ anemi svarar inte benmärgen med tillräckligt ökad produktion av erythrocyter när antalet i blodet är för lågt. I dessa fall förekommer oftast någon form av benmärgspåverkan. En regenerativ anemi har däremot ett benmärgssvar med en kompensatorisk produktion av erythrocyter om antalet i blodet blir för lågt. En tillräcklig kompensatorisk respons karaktäriseras hematologiskt av en ökad koncentration retikulocyter (omogna erythrocyter) i blodet, vilket är en perifer manifestation av erytroid hyperplasi i benmärgen. En regenerativ anemi kan vara orsakad av en blödning eller av en hemolys (Nelson & Couto, 2014; Grimes & Fry, 2015; Kuhn *et. al.*, 2017). En hemolytisk anemi kan ha flera orsaker såsom förgiftningar och infektioner. Exempelvis kan en lökförgiftning orsaka oxidativa förändringar på erythrocyterna och därav en hemolytisk anemi. En infektion med parasiten *Babesia*, som vanligen överförs via fästingar utomlands, kan orsaka hemolys genom att parasiten invaderar erythrocyterna. Den vanligaste orsaken till hemolytisk anemi hos hund är dock IMHA. (Harvey & Rackear, 1985; Conrad *et. al.*, 1991; Tang, Xia & Yu, 2008; Nelson & Couto, 2014).

Hemolys och antikroppar

Intravasal och extravasal hemolys

En hemolys kan vara intravasal eller extravasal. Intravasal hemolys är medierad av komplementsystemet och här bryts erythrocyterna ned inuti blodkärlen vilket gör att dess innehåll, vilket främst är hemoglobin, frigörs direkt i blodet. Extravasal hemolys, som framför allt sker i mjälte och lever, innebär istället att makrofager fagocyterar erythrocyterna, vilket resulterar i att ingen eller en liten mängd hemoglobin frigörs till blodet (Zachary & McGavin, 2012, Swann & Skelly, 2016). Extravasal hemolys är det som är vanligast vid IMHA, men båda typerna är möjliga. Om intravasal hemolys ses innebär detta generellt en sämre prognos (Zachary & McGavin, 2012; Swann & Skelly, 2016).

Mononukleära fagocytssystemet

Normalt lever en erytrocyt hos en hund i cirka 120 dagar och avlägsnas sedan av det mononukleära fagocytssystemet (mononuclear phagocyte system, MPS) i framför allt mjälte och lever (Castoldi & Senno, 1998; Balch & Mackin, 2007). MPS nedbrytning av erythrocyter är medierad av Fc-receptorer på makrofagernas yta. Dessa receptorer identifierar och binder till Fc-komponenter på antikroppar som finns i cellmembranet på de åldrande erythrocyternas yta, vilket leder till destruktion av erythrocyten (Mackin, 2014). Vid IMHA sker en spontan autoimmun reaktion som startar en produktion av autoreaktiva antikroppar (autoantikroppar) som leder till en prematur destruktion av erythrocyterna (Balch & Mackin, 2007; Swann & Skelly, 2016).

Autoantikroppar

De autoantikroppar som bildas vid IMHA är oftast immunoglobulin G (IgG)-antikroppar (Morley *et. al.*, 2008, Nelson & Couto, 2014). Det har utförts studier i mindre skala med hjälp av flödescytometri där resultaten visat att de flesta IMHA-patienter haft IgG eller IgG i kombination med IgM, medan ett mindre antal haft endast IgM (Wilkerson *et. al.*, 2000; Morley *et. al.*, 2008). Eftersom IgM är bättre än IgG på att fixera komplement är det mer troligt att intravasal hemolys uppträder vid IgM-medierad IMHA. Vid intravasal hemolys ses även sjukdomstecken såsom hematuri på grund av hemoglobinet som kommer ut i blodet vid destruktion. IgG-antikroppar leder till nedbrytning av erythrocyter genom MPS, och detta sker utanför cirkulationen via extravasal hemolys (Balch & Mackin, 2007).

Mjälte och lever

MPS finns i hela kroppen och extravasal hemolys kan därför ske i flera olika organ, men främst sker detta i mjälte och lever. Den ökade nedbrytningen av erythrocyter vid IMHA ger en ökad belastning på dessa organ, vilket ofta resulterar i spleno- och hepatomegali. Den kraftiga anemin kan även leda till en nedsatt leverfunktion som uppstår på grund av en hypoxiorsakad centrolobulär nekros i levern. Den nedsatta leverfunktionen kan i sin tur leda till en minskad utsöndring av bilirubin. Denna minskade utsöndring i kombination med den ökade produktionen av bilirubin (på grund av den ökade nedbrytningen av erythrocyternas hemoglobin)

kan leda till hyperbilirubinemi och ikterus (Rothuizen, 1987; Scott-Moncrieff, 2001; Carr, Panciera & Kidd, 2002).

Olika former av IMHA

Primär IMHA

IMHA brukar delas in i primär och sekundär IMHA, beroende på om det föreligger en underliggande orsak till sjukdomen eller inte. Primär (idiopatisk) IMHA är en typisk autoimmun sjukdom där ingen underliggande orsak kan identifieras och diagnosen kan ställas först efter att underliggande orsaker har uteslutits (Balch & Mackin, 2007; Nelson & Couto, 2014). Normalt hindrar suppressor-T-celler autoantikroppar från att interagera med värdceller. Man tror dock att IMHA-drabbade djur kan ha en försämrad regleringsfunktion av sina suppressor-T-celler alternativt ett överstimulerat immunsystem som tillåter autoantikroppar att binda till normala celler och trigga en erythrocytdestruktion (Stewart & Feldman, 1993).

Sekundär IMHA

Sekundär IMHA orsakas av en immunologisk respons mot främmande antigener som har modifierats eller som associeras med normala erythrocytmembran (Balch & Mackin, 2007). Sekundär IMHA kan ha flera orsaker där erythrocyter kan bli infekterade med patogener eller bli täckta av främmande antigen. Exempel på orsaker till sekundär IMHA inkluderar bland annat infektion med bakterier, virus eller parasiter samt neoplasier. Det är dock inte alltid säkert att en underliggande orsaka kan hittas, vilket gör det diagnostiskt utmanande att avgöra om en IMHA är primär eller sekundär (Lobetti & Schoeman, 2001; Ettinger & Feldman, 2005).

Precursor-targeted immune-mediated anemia (PIMA)

Vissa hundar som diagnosticeras med IMHA saknar en regenerativ respons i benmärgen som ger en tillräckligt ökad produktion av erythrocyter när antalet i blodet är för lågt (Weiss, 2008). Uppfattningen är att det finns en icke-regenerativ form av IMHA som involverar angrepp på erythrocytprecursorer i benmärgen. Denna form, vars patogenes ännu inte är helt förstådd, kallas precursor-targeted immune-mediated anemia (PIMA). PIMA placeras ibland som en egen sjukdom utanför IMHA då det generellt inte ses hemolys (Weiss, 2002; Lucidi *et. al.*, 2017). Hundar som drabbats av PIMA uppvisar en icke-regenerativ anemi och benmärgsfynd som varierar från erytroid hyperplasi till erytroblastopeni (pure red cell aplasia, PRCA) (Stokol, Blue & French, 2000; Weiss, 2002). Studier indikerar att PIMA generellt ger en mer långsam respons på immunosuppressiv behandling än regenerativa former av IMHA (Lucidi, 2017).

Raspredisponering

Cocker spaniel är den hundras som i litteraturen anges vara mest predisponerad att drabbas av IMHA (Carr, Panciera & Kidd, 2002; Weinkle *et. al.*, 2005; Mellett, Nakamura & Bianco, 2011). Amerikansk cocker spaniel, engelsk springer spaniel, irländsk setter, old english sheepdog, collie, dvärgschnauzer, labrador retriever, pudel och tax nämns också frekvent som predisponerade för sjukdomen (Carr, Panciera & Kidd, 2002; Balch & Mackin, 2007; Piek *et.*

al., 2008; Mellet, Nakamura & Bianco, 2011). Andra raser som nämns, men mer sällan är exempelvis shih tzu, bichon frisé, doberman, pinscher, finsk spets och airdale terrier (Weinkle *et. al.*, 2005; Mellet, Nakamura & Bianco, 2011; Nelson & Couto, 2014).

Diagnostik vid IMHA

Kliniska sjukdomstecken

En hund som drabbas av IMHA uppvisar ofta ett akut insjuknande, men de kliniska sjukdomstecknen varierar från hund till hund. I tidigt sjukdomsstadium och vid lindriga former av sjukdomen kan en hund uppvisa milda eller till och med inga kliniska sjukdomstecken. Då de kliniska sjukdomstecknen även beror på om det föreligger en underliggande orsak till IMHA och vilken denna i sådana fall är kan tecknen vara ännu mer ospecifika. Vanliga kliniska sjukdomstecken vid IMHA inkluderar dock feber, bleka slemhinnor, trötthet, svaghet, snabb och/eller ytlig andning, ökas puls, minskad aptit, viktnedgång, svart/tjälriknande avföring. Som nämnts ovan kan IMHA leda till skador på lever med ikterus som möjlig komplikation och då kan gulfärgning av sclera, hud och slemhinnor samt mörk urin ses. Sjukdomstecknen är dock inte specifika för sjukdomen och flera andra diagnostiska metoder är nödvändiga för att ställa diagnos (Reimer, Troy & Warnick, 1999; Piek *et. al.*, 2008; Nelson & Couto, 2014).

Regeneration

Hematokritvärdet (EVF) ger information om graden av anemi. För att bestämma om anemin är regenerativ, vilket är klassiskt för IMHA, utförs analys av blodutstryk för tecken på regeneration. Dessa tecken inkluderar retikulocytos, polykromasi, anisocytos och kärnförande erythrocyter (Klag, Giger & Shofer, 1993; Day, 2010). Retikulocyter är omogna erythrocyter som släpps ut från benmärgen tidigare än normalt som svar på kroppens ökade förbrukning av erythrocyter och är det säkraste tecknet på att en anemi är regenerativ. Retikulocyter innehåller ribosomalt RNA vilket gör att de kan upptäckas både på ett blodutstryk efter färgning och av flera blodmaskiner genom flödescytometri (Ah-Moye *et. al.*, 2014). Det tar dock 2–3 dagar från anemins insättande tills dess att retikulocyter går att upptäcka i blodet. Detta är viktigt att komma ihåg vid diagnostik tidigt i sjukdomen (Balch & Mackin, 2007).

Sfärocytos

Vid interaktion med fagocyter kan den osmotiska balansen påverkas, varvid erythrocyter kan förlora sin normala struktur. Detta gör att erythrocytens anpassningsbara bikonkava form förändras och den centrala uppklarningen som normalt noteras vid mikroskopi i samma utsträckning inte längre ses. Cellerna blir istället runda och kallas sfärocyter, vilket är något som är behjälpligt att leta efter vid diagnostik av IMHA. Eftersom de inte kan anpassa sin form lika bra leder detta till att de får svårare att röra sig genom mindre blodkärl, vilket medför en ökad destruktion i mjälten. Fynd av sfärocytos i ett blodutstryk från en hund med regenerativ anemi är ett viktigt diagnostiskt fynd för att ställa diagnosen IMHA. Sjukdomen kan dock inte uteslutas vid avsaknad av sfärocyter (Scott-Moncrieff, 2001; Carr & Kidd, 2002; Weinkle *et. al.*, 2005; Scordino, 2016).

Spontanagglutination

Ett annat tecken att leta efter för att diagnosticera IMHA är spontanagglutination (autoagglutination). När en stor mängd av immunoglobuliner är bundna till erythrocyter gör detta att molekylerna aggregerar närliggande erythrocyter som också är täckta av immuoglobuliner. Detta kan testas genom att ta en droppe koksaltlösning och låta denna blandas med en liten droppe blod på ett objektsglas. Om erythrocyterna klumpar sig har vi en spontanagglutination, som är ett tydligt tecken på IMHA. En spontanagglutination måste verifieras genom mikroskopi (Carr & Kidd, 2002; Balch & Mackin, 2007; Garcia, 2010; Nelson & Couto, 2014).

Coomb's test

Ytterligare hjälpmedel i diagnostiken är ett så kallat Coomb's test, som specifikt identifierar antikropparna (immunoglobulinerna). Spontanagglutinationstest är lite av ett indirekt alternativ till Coomb's test. Det innebär att vid påvisad spontanagglutination är det inte aktuellt att utföra Coomb's test (Scott-Moncrieff, 2001; Balch & Mackin, 2007; Nelson & Couto, 2014).

Övriga analyser

För att utvärdera hemolys, förekomsten av DIC (disseminerad intravasal koagulation) och underliggande sjukdomar är rutinmässiga biokemiska parametrar och blödningstider användbara hjälpmedel (Balch & Mackin, 2007).

ALT/ALAT

På grund av leverpåverkan som IMHA kan orsaka är det vanligt att blodkemiska avvikelser inkluderar bland annat hyperbilirubinemi och ökad mängd leverenzym, speciellt alanin transaminas (ALT/ALAT) (Scott-Moncrieff *et. al.*, 2001).

CRP

För att följa graden av inflammation och behandlingseffekt kan CRP (C-reactive protein) vara ett användbart hjälpmedel (Griebsch *et. al.*, 2009).

Blödningstider och TEG

DIC och tromboembolism är vanliga komplikationer vid IMHA (Burgess *et. al.*, 2000; Carr & Kidd, 2002, Fischer *et. al.*, 2013). Trombos (på grund av hyperkoagulation), blödning (på grund av förbrukning av koagulationsfaktorer) samt anemi och trombocytopeni (på grund av destruktions av erythrocyter och trombocyter) är kännetecknen för DIC. Blödningstider (aktiverad partiell tromboplastin (APT) och protrombinkomplexet (PK)) och tromboelastografi (TEG) är användbara tester för att utvärdera patientens koagulation. Förlängda blödningstider i kombination med trombocytopeni vid IMHA är indikation på DIC. TEG kan ange om en patient är hyper- eller hypokoagulabel (Hoffman *et. al.*, 2005; Fischer, 2013). Mer om hyperkoagulation vid IMHA diskuteras under avsnittet behandling nedan.

Bilddiagnostik

Någon form av bilddiagnostik över thorax och abdomen rekommenderas för patienter som misstänks för IMHA. Detta innebär vanligen röntgen av thorax och ultraljud av buk, i vissa fall datortomografi (DT). Dessa undersökningar kan vara viktiga hjälpmedel när det gäller att hitta eller utesluta bakomliggande orsaker (Balch & Mackin, 2007).

Behandling av IMHA

Behandling vid IMHA hos hund består av att behandla en eventuell underliggande orsak till sjukdomen, hantera anemin med understödjande behandling främst i form av vätskebehandling och blodprodukter samt att direkt behandla patientens IMHA med läkemedel som verkar immunosupprimerande (Sturgess, 2013). Målet med den immunosuppressiva behandlingen är att hämma lymfocyternas antikroppsproduktion och/eller nedbrytningen av erythrocyter (Allison, 2000).

Som nämnt ovan är IgG den antikroppsclass som är vanligast hos hundar med IMHA. Eftersom halveringstiden av IgG hos hund är omkring en vecka är det mindre troligt att medicinering riktad mot att endast hämma antikroppsproduktionen påverkar utgången i sjukdomens akuta fas. Därav är den tidiga immunosuppressiva behandlingen vid IMHA främst riktad mot att minska nedbrytningen av erythrocyter (Al-Ghazlat, 2009).

Glukokortikoider

Grunden i den immunosuppressiva behandlingen vid immunmedierade sjukdomstillstånd är så gott som alltid glukokortikoider. Detta på grund av att de är effektiva, snabbverkande och billiga (Swann & Skelly, 2016; Nelson & Couto, 2014). I en studie gällande behandling vid IMHA som utfördes vid remissinstanser fann Swann & Skelly att glukokortikoider givits till samtliga hundar som deltagit i studien (2013).

Glukokortikoidernas verkningsmekanismer

Glukokortikoider verkar immunosuppressivt genom flera olika mekanismer. De har en hämmande effekt på B- och T-lymfocyter samt på fagocyter (såsom makrofager). De verkar genom både genomiska och icke-genomiska mekanismer och det är framförallt dosen som avgör vilken effekt som uppstår.

I den genomiska mekanismen binder glukokortikoiderna intracellulärt till och aktiverar den cytosoliska glukokortikoid-receptorn (cGCR). Receptorn dimeriserar och migrerar till cellkärnan och interagerar där med DNA och påverkar på så sätt gentranskriptionen. Detta resulterar i inhibering av proinflammatoriska proteiner (transrepression) och stimulering av många antiinflammatoriska proteiner (transaktivering). Transrepression leder till många av de önskvärda glukokortikoid-effekterna, medan transaktiveringen ger många av de oönskade bieffekterna.

De icke-genomiska effekterna (cellulära effekterna) innebär interaktion med cellmembran och innefattar påverkan av jonkanaler (Al-Ghazlat, 2009; Gensler, 2013; Nelson & Couto, 2014; Mitre-Aguilar, Cabrera-Quintero & Zentella-Dehesa, 2015).

Några av de främsta effekterna som glukokortikoider har vid behandling av IMHA är att hämma komplement och fagocytos av antikroppstäckta erythrocyter genom nedreglering av makrofagernas Fc-receptorer (Ruiz *et. al.*, 1991).

Behandling med glukokortikoider

För behandling av de flesta immunmedierade sjukdomarna (inklusive IMHA) är en intermediär glukokortikoid som prednisolon betraktad som förstahandsval. Intermediära kortikosteroider har en halveringstid på 12-36 timmar och kan därför ges varannan dag vid längre tids behandling, vilket är önskvärt då det minskar långsiktiga bieffekter av läkemedlet (Nelson & Couto, 2014).

Vanlig initial dosering för prednisolon när det sätts in akut vid IMHA hos hund är 2 mg/kg/dygn (Piek *et. al.*, 2011; Swann & Skelly, 2016). Nedtrappning av dosen beror på behandlingssvar och resultat av uppföljande blodprover. Total behandlingstid är inte standardiserad, men ligger ofta mellan tre och sex månader (Swann & Skelly, 2016).

Bieffekter av glukokortikoider

Glukokortikoidernas bieffekter kan delas in kortsiktiga och långsiktiga bieffekter. Några av de vanligaste kortsiktiga bieffekterna inkluderar polydipsi, polyuri, polyfagi, flåsighet och ökad trötthet.

När glukokortikoider används längre än tre-fyra månader och speciellt när de används i immunosuppremerande doser som är fallet vid IMHA, blir ytterligare bieffekter ett bekymmer. Dessa mer långsiktiga bieffekter inkluderar nedsatt egen kortisolproduktion, risk för urinvägsinfektion, förtunnad hud, alopeci, sämre sårhäkning, övervikt (på grund av polyfagi), calcinosis cutis (som beror på att kalcium deponeras i huden), ökad känslighet för sekundärinfektioner, gastrointestinala ulcerationer, pankreatit och predisponering för diabetes mellitus (Moriello, Bowen & Meyer, 1987; Al-Ghazlat, 2009; Ward, 2017). Oftast upplevs att de större hundraserna får kraftigare bieffekter än de mindre raserna (Al-Ghazlat, 2009).

Alternativ och komplement till glukokortikoider

Flera andra immunosuppressiva läkemedel har använts för att behandla IMHA. Dessa inkluderar bland andra azatioprin och ciklosporin. Det finns idag ingen generell standardbehandling som veterinärer rekommenderas att använda vid behandling av IMHA-drabbade hundar (Swann & Skelly, 2016). Azatioprin har dock generellt använts vid mer allvarlig IMHA och vid fall som inte svarat på immunosuppressiv behandling med enbart glukokortikoider (Piek *et. al.*, 2011).

Azatioprin

Behandling med azatioprin

Azatioprin används för behandling av bland annat IBS (inflammatory bowel disease), hudsjukdomar och IMHA hos hundar. Det används ofta tillsammans med prednisolon med målen att öka den immunosuppressiva effekten samt att kunna sänka doserna av båda läkemedlen (Forney, 2017). I några studier har effekten av azatioprin vid IMHA-behandling hos hund utvärderats och resultaten har ej varit enade. Slutsatserna har varit allt från en möjlig gynnande effekt till ingen effekt alls (Piek *et. al.*, 2011). Oklarhet råder inom veterinärmedicinen om när azatioprin har klinisk effekt, allt mellan en till åtta veckor efter insatt behandling finns beskrivet (Piek *et. al.*, 2011; Whitley & Day, 2011; Forney, 2017).

Azatioprin ges ofta i dosen 1,5–2 mg/kg/dygn (Piek *et. al.*, 2011; Swann & Skelly, 2013). Om det är stora hundar (över 20–25 kg) och doserna blir väldigt höga kan dosen minskas ned till 1,5 mg/kg/dag för en hund på ca 50 kg (Piek *et. al.*, 2011). Azatioprin ges vanligen i 2 mg/kg/dygn i högst 14 dagar och sänks därefter till 1 mg/kg/dygn eller 2 mg/kg varannan dag beroende på vad som är enklast att dosera då tablettorna inte bör delas (Swann & Skelly, 2013).

Azatioprins verkningsmekanismer

Azatioprin är en cytotoxisk antimetabolit som konverteras till 6-mercaptopurin (6MP) i levern. Det är en purin analog som fungerar som en purinantagonist och konkurrerar med puriner i nukleinsyrasyntesen. Detta leder till att det bildas icke-funktionella nukleinsyror som i sin tur resulterar i att DNA- och RNA-syntesen hämmas (Allison, 2000; Whitley & Day, 2011; Nelson & Couto, 2014).

Primära effekten av azatioprin är att den hämmar lymfocytaktivering och proliferation, vilket minskar antikroppsproduktionen. Azatioprin hämmar även makrofagernas funktion, vilket minskar inflammatorisk cytokinproduktion och fagocyteffektivitet (Heyman, 2000; Whitley & Day, 2011; Nelson & Couto, 2014). Vissa studier menar att på grund av azatioprins långsamma verkan, är det mindre troligt att azatioprin spelar någon roll i att öka överlevnaden i sjukdomens akuta stadium (Al-Ghazlat, 2009).

Bieffekter av azatioprin

Bieffekter som kan ses vid behandling med azatioprin inkluderar gastrointestinala störningar (kräkning och diarré), pankreatit, leverpåverkan och benmärgsdespression som kan leda till leukopeni och även i vissa fall anemi och trombocytopeni (Beale, 1988; Rinkardt & Kruth, 1996; Forney, 2017).

Azatioprin anses av International Agency for Research on Cancer (IARC) vara en möjlig eller trolig cancerogen substans och särskilda regler vid hantering av substansen föreligger (Piek *et. al.*, 2011).

Ciklosporin

Ciklosporins verkningsmekanismer

Ciklosporin A (CsA) är en polypeptidmetabolit från mögelsvampen *Tolypocladium inflatum* och har potenta immunosuppressiva egenskaper (Allison, 2000). CsA blockerar bland annat transkriptionen av cytokingener i aktiverade T-celler och hämmar vidare aktivering som är nödvändig för transkriptionen av flera cytokiner, inklusive interleukin-2 (IL-2). IL-2 är nödvändigt för proliferation och mognad av T-celler. CsA stimulerar även uttrycket av TGF- β (transforming growth factor β) som är en potent hämmare av IL-2-stimulerad T-cellsproliferation och produktionen av antigenspecifika cytotoxiska lymfocyter (Salom, Maquire & Hancock, 1993; Halloran, 1996; Kirk, 2000). CsA kan även hämma fagocytosen hos makrofager genom att hämma produktionen av interferon γ (Salom, Maquire & Hancock, 1993).

Behandling med ciklosporin

I en studie som utfördes på hundar med IMHA sågs en ökad överlevnad för hundar som behandlats med ciklosporin och glukokortikoider jämfört med de som endast behandlats med glukokortikoider, men skillnaden var inte statistiskt signifikant (Grundy & Barton, 2001). I en annan studie sågs ingen gynnande effekt att kombinera glukokortikoider med ciklosporin hos hundar med IMHA (Husbands, Polzin & Armstrong, 2004).

Rekommenderad dos ciklosporin för hundar med IMHA är 5–10 mg/kg/dygn eller 2,5–5 mg/kg två gånger per dygn (Kirk, 2000; Swann & Skelly, 2016). Rekommendationen är även att plasmakoncentrationen bör kontrolleras för att uppnå en både effektiv och säker nivå på omkring 400–500 ng/mL. Dock har inte en optimal koncentrationnivå vid behandling helt fastställts (Kirk, 2000; Al-Ghazlat, 2009).

Bieffekter av ciklosporin

De vanligaste bieffekterna av ciklosporin hos hund inkluderar gastrointestinala störningar, gingivahyperplasi, dermatit och papillomat (Kirk, 2000; Robson, 2003). Även lymfom har påvisats som en bieffekt (Blackwood *et. al.*, 2004).

Behandling av trombembolism

Trombembolier är en väldokumenterad komplikation och dödsorsak vid IMHA hos hund (Burgess *et. al.*, 2000; Carr & Kidd, 2002). Det är därför vanligt att IMHA-diagnosticerade hundar behandlas med läkemedel för att motverka detta, både symptomatiskt och profylaktiskt (Kidd & Mackman, 2013). Mekanismen bakom utvecklingen av tromboembolism vid IMHA är inte helt känd, men flera möjliga orsaker inkluderar ökad aktivitet av prokoagulatoriska faktorer, närvaro av fritt hemoglobin, minskad koncentration av fibrinolytiska eller antikoagulatoriska faktorer, vaskulit och ökad trombocyteaktivitet (Scott-Moncrieff *et. al.*, 2001; Carr & Kidd, 2002; Weiss & Brazzel, 2006; Helmond *et. al.*, 2010).

Preparaten som används för att motverka hyperkoagulation och trombembolier har antingen effekten att begränsa aktiveringen av koagulationsfaktorer (antikoagulantia) eller att hämma trombocytaktiveringen (antitrombotika). Likt den immunosuppressiva behandlingen råder ingen enighet mellan veterinärer om hur hyperkoagulation vid IMHA hos hund ska hanteras. Detta grundas troligtvis dels i att mekanismerna bakom hyperkoagulationen inte är helt känd samt i att bevis för att trombembolism innebär en ökad dödlighet saknas. Bevis kan dock vara svåra att få fram eftersom trombembolism är svårt att diagnosticera hos levande individer (Swann & Skelly, 2016).

Antikogulantia

Användning av heparin har några teoretiska fördelar gentemot antitrombotika eftersom venösa trombembolier klassiskt associeras mer med felaktig aktivering av koagulationskaskaden än med onormal trombocytaktivitet. En svårighet med heparinbehandling den ökade blödningsrisken för den redan anemiska patienten när koagulationsmekanismen störs (Kidd & Mackman, 2013; DuHadway, 2013).

Antitrombotika

Antitrombotika motverkar hyperkoagulationen genom att hämma trombocyternas funktion. Den vanligaste antitrombotiska behandlingen är acetylsalicylsyra som har en cyklooxygenas-hämmande effekt (Weinkle *et al.*, 2005; Swann & Skelly, 2016). Dosen behöver vara tillräckligt hög för att inaktivera trombocyterna men inte så hög så att risken för ulceration i magtarmkanalen ökas då acetylsalicylsyra och kortikosteroider generellt inte ska ges tillsammans (Mellett *et al.*, 2010). Rekommenderad dos för acetylsalicylsyra är 0,5 mg/kg/dygn. Denna dos har dock visats ineffektiv i en studie gjord på friska hundar (Shearer, Kruth & Wood, 2009).

Klopidogrel är ett nyare antitrombotiskt läkemedel som irreversibelt hämmar ADP-receptorerna P2Y₁₂ på trombocytmembranet och har på så sätt en unik mekanism gentemot den cyklooxygenashämmande effekten som acetylsalicylsyra har (Hogan, Andrews & Green, 2004). En enstaka dos på 10 mg/kg hämmar effektivt trombocyttaggregationen inom 24 timmar och en uppföljande daglig dos på 2 mg/kg ger en tillräcklig trombocythämning hos friska hundar (Goodwin, Hogan & Green, 2007).

Studier

I en retrospektiv studie av Weinkle *et al.* sågs en ökad överlevnad hos IMHA-diagnosticerade hundar som fick aspirin (acetylsalicylsyra) i en ”ultra-låg” dos på 0,5 mg/kg två gånger dagligen (BID) jämfört med de hundar som inte fick någon antikoagulantia alls, de som endast fick heparin eller de som fick en kombination av aspirin och heparin (2005).

En mindre prospektiv och slumpmässig studie utvärderade användningen av klopidogrel ensamt, ultra-låg dos av aspirin ensamt eller en kombination av de två läkemedlen. Resultatet visade ingen signifikant skillnad i överlevnad mellan dessa tre behandlingsmodeller (Mellett *et. al.*, 2010). Misstanke finns dock att en del hundar med IMHA kommer ha trombocyter som är relativt resistent mot aspirins verkningsmekanism, vilket är något som har rapporterats hos människor med IMHA (Swann & Skelly, 2016).

MATERIAL OCH METODER

Journalstudie

Utgångspunkten i detta arbete har varit att undersöka om olika immunosuppressiva behandlingar vid IMHA hos hund ger olika överlevnad över en längre tid. Detta har gjorts genom en retrospektiv journalstudie. Uppföljningstiden har valts till ett år för att det skulle vara genomförbart att följa upp så många patienter som möjligt. De två olika behandlingsalternativ som har jämförts är behandling med enbart glukokortikoider (prednisolon) och behandling med prednisolon i kombination med azatioprin.

Urval

De patienter som inkluderats i studien är hundar som behandlats vid Universitetsdjursjukhuset (UDS) i Uppsala och fått diagnosen immunmedierad (autoimmun) hemolytisk anemi (IMHA/AIHA). För att identifiera dessa patienter har sökning på denna diagnos gjorts i det digitala journalsystemet Trofast 8 (Trofast AB, Västerås, Sverige). För att inkluderas i studien har patienterna uppvisat tydliga tecken på IMHA både kliniskt och hematologiskt så att kliniker och laboratoriepersonal varit eniga om en säker IMHA-diagnos. De har uppvisat minst en måttlig anemi med tecken på regeneration och spontanagglutination och/eller sfärocyter. Deras immunosuppressiva behandling har varit prednisolon eller prednisolon i kombination med azatioprin. Patienter som behandlats immunosuppressivt med endast prednisolon har placerats i behandlingsgrupp A och de som behandlats immunosuppressivt med både prednisolon och azatioprin har placerats i behandlingsgrupp B.

Uppföljning

För att få en korrekt uppgift om patienternas överlevnad har försök att kontakta djurägarna till samtliga patienter som saknat uppföljning i journalen fram till ett år efter sjukdom gjorts. I de fall djurägarna inte har gått att nå har försök gjorts att kontakta lokala veterinärer som hållit i uppföljningen av patienterna.

Bearbetning av information

För att jämföra överlevnaden mellan de olika behandlingarna har beräkningar på procent överlevande hundar i behandlingsgrupp A respektive B gjorts vid olika tidpunkter, och fokus har lagts på överlevnaden ett år efter insatt behandling.

För att jämföra patienter som haft så lika utgångsläge som möjligt presenteras även överlevnaden för de patienter i studien som hade hematokritvärden mellan 13 och 19 % vid insatt behandling.

Dosering av den immunosuppressiva behandlingen har beräknats i mg/kg/dygn utifrån senast kända vikt för respektive patient. För behandlingsgrupp A och B presenteras prednisolondoseringen i övergripande diagram där medianen för dosering presenteras i kombination med de faktiska doseringarna för patienterna inom behandlingsgruppen. Medianer visas från behandlingsdag 1 till och med den sista behandlingsdag då minst fyra patienter fortfarande får prednisolonbehandling. I medianberäkningen har endast doser som överstiger 0,0 mg/kg/dygn tagits med. För azatioprin redovisas doseringen för varje patient i behandlingsgrupp B i ett övergripande diagram. Här visas inte medianen på grund av att azatioprinbehandlingen påbörjas vid så olika tidpunkter för patienterna. Dock anges median och variationsvidd för startdoseringen i löptexten.

Dosering för den immunosuppressiva behandlingen för varje känd behandlingsdag för var och en av patienterna redovisas i individuella dosdiagram tillsammans med patientens hematokritvärden. För de patienter som behandlats med antitrombotika presenteras dos och behandlingstid i figurunderskriften för respektive patients dosdiagram.

För att bearbeta data och redovisa dem i diagram har Apple Numbers (Version 5.2) använts.

RESULTAT

Diagnos IMHA/AIHA

Totalt identifierades 101 hundar som mellan 2006 och 2017 diagnosticerats med IMHA/AIHA vid Universitetsdjursjukhuset (UDS) i Uppsala. För hundar som diagnosticerades före år 2009 observerades dock bristfällig information i det digitala journalsystem som fanns då, bland annat avsaknad av blodprovssvar. Av denna anledning valdes perioden 2009–2017 för studien. Under dessa nio år fick 72 hundar diagnosen IMHA/AIHA. Baserat endast på diagnos har ras- köns- och åldersfördelning presenterats. Ingen vidare bedömning av hur diagnosticeringen har utförts har tagits hänsyn till här. För dessa 72 hundar har även angivits hur många som uppvisat sfärocytos, spontanagglutination, regenerativ anemi samt feber.

Rasfördelning

Av de 72 hundar som diagnosticerades med IMHA/AIHA vid UDS i Uppsala mellan åren 2009 och 2017 var blandras den vanligast diagnosticerade rasen med elva hundar (15,3 %), följt av cocker spaniel med åtta hundar (11,1 %). Därefter kom dvärgschnauzer och engelsk springer spaniel med vardera fem diagnosticerade hundar (6,9 %). Rasfördelning för de raser som haft två eller fler representerade individer redovisas i tabell 2.

Tabell 2. Rasfördelning för de raser som haft två eller fler representerade individer bland de 72 hundar som fått diagnosen IMHA/AIHA vid Universitetsdjursjukhuset (UDS) i Uppsala mellan åren 2009 och 2017

Ras	Antal IMHA-diagnosticerade hundar 2009–2017
Blandras	11
Cocker spaniel	8
Dvärgschnauzer	5
Engelsk springer spaniel	5
Amerikansk cocker spaniel	3
Flatcoated retriever	3
Border collie	2
Irländsk setter	2
Jack russel terrier	2
Saluki, långhårig	2
Schäfer	2
Shetland sheepdog	2
Storpudel	2

Könsfördelning

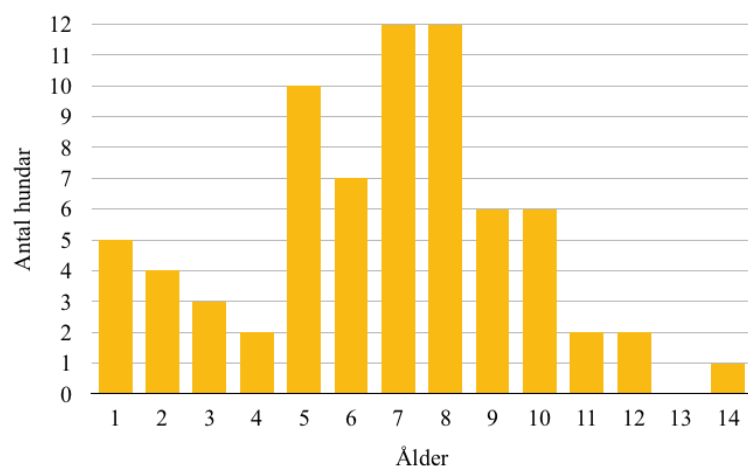
Av de 72 hundar som fick diagnosen IMHA/AIHA vid UDS i Uppsala mellan 2009 och 2017 var 62,5 % tikar och 37,5 % hanar. 77,8 % av tikarna och 70,4 % av hanarna var intakta. Fullständig könsfördelning i antal och procent redovisas i tabell 3.

Tabell 3. Könsfördelning i antal av de 72 hundar som fått diagnosen IMHA/AIHA vid UDS i Uppsala 2009–2017

Kön	Antal hundar	Procentuell andel hundar
Intakt tik	35	48,6 %
Honkastrat	10	13,9 %
Intakt hane	19	26,4 %
Hankastrat	8	11,1 %

Åldersfördelning

Medelålder bland de 72 hundar som diagnosticerades med IMHA/AIHA vid UDS i Uppsala 2009–2017 var 6,61 år. Lägsta ålder var 1 år och högsta 14 år. 73,6 % (53/72) av hundarna var i åldersspannet 5–10 år och 56,9 % i åldersspannet 5–8 år. Total åldersfördelning i antal redovisas i figur 1.



Figur 1. Stapeldiagram som visar åldersfördelning i antal hundar för de 72 hundar som fått diagnosen IMHA/AIHA vid UDS i Uppsala åren 2009–2017.

Diagnostiska parametrar

Av de 72 hundar som diagnosticerades med IMHA/AIHA vid UDS i Uppsala åren 2009–2017 uppvisade 65,3 % sfärocytos, 68,1 % spontanagglutination, 76,4 % regenerativ anemi och 41,7 % feber. I tabell 4 redovisas förekomsten av sfärocytos, spontanagglutination, regenerativ anemi och feber i antal hundar.

Tabell 4. *Förekomst av sfärocytos, spontanagglutination, regenerativ anemi och feber angivet i antal hundar av de 72 IMHA-diagnosticerade hundarna vid UDS i Uppsala 2009–2017*

Parameter	Antal hundar		
	Ja	Nej	Ej angivet/kan ej avgöra
Sfärocytos	47	14	11
Spontanagglutination	49	14	9
Regenerativ anemi	55	9	8
Feber	30	33	9

Behandlingsgrupp A och B

Ur gruppen med de 72 hundar som diagnosticerats med IMHA/AIHA mellan 2009 och 2017 utslöts de patienter som inte uppvisade tydliga tecken på IMHA (specificeras nedan) och de som inte påbörjat behandling (avlivades direkt efter diagnos). Kvar fanns då 46 patienter. Av dessa 46 var det 15 hundar som avlivades eller avled inom sju dagar från behandlingsstart. Dessa utslöts ur huvudstudien på grund av svårigheten att avgöra om behandling hunnit ge någon effekt. Gränsen för detta drogs vid en vecka. Resultat om dessa 15 hundar redovisas separat sist i resultatdelen.

Av de kvarvarande 31 hundarna var det tre stycken som utslöts ur huvudstudien på grund av att de även behandlats immunosuppressivt med ciklosporin. I två fall gjordes detta tillsammans med prednisolon och i ett fall tillsammans med både prednisolon och azatioprin. Dessa hundar har placerats i en egen behandlingsgrupp (behandlingsgrupp C). Sju hundar utslöts på grund av att de ej kunde följas upp gällande överlevnad ett år efter insatt behandling. Därefter återstod 21 hundar som diagnosticerats med IMHA och som ingått i den långsiktiga överlevnadsstudien. Utifrån behandling har dessa hundar delats in i två behandlingsgrupper. Behandlingsgrupp A inkluderar de nio patienter som behandlats immunosuppressivt med endast prednisolon och behandlingsgrupp B inkluderar de tolv patienter som behandlats immunosuppressivt med både prednisolon och azatioprin.

Behandling, inklusive dosering

Immunosuppressiv behandling

Av de 21 hundar som deltog i den långsiktiga överlevnadsstudien uppvisade samtliga vid något tillfälle spontanagglutination och 19 av dem tydlig sfärocytos. För två patienter i behandlingsgrupp A var blodutstryken svårbedömda för sfärocytos, men det kunde ej uteslutas. För de 21 hundarna har uppgifter om dosering för prednisolon (behandlingsgrupp A) samt prednisolon och azatioprin (behandlingsgrupp B) hanterats och presenterats i övergripande diagram för respektive behandlingsgrupp. Dosering för den immunosuppressiva behandlingen för varje patient i behandlingsgrupp A, B och C redovisas i individuella diagram tillsammans med hematokritvärdena för patienten. Informationen i diagrammen är begränsad till de dagar där det angivits i patientens journal vilka dagar den fick behandling. För de patienter som tidigt började följas upp av annan veterinär saknas information om nedtrappning och därav finns endast ett fåtal dagar med i deras diagram.

Antitrombotisk behandling

10 av de 21 patienterna som ingick i behandlingsgrupp A eller B fick behandling med antitrombotiskt läkemedel, antingen acetylsalicylsyra (Trombyl®) eller klopidogrel (Plavix®). Sju av dessa patienter fick behandling med acetylsalicylsyra och tre med klopidogrel. En patient fick först acetylsalicylsyra men bytte sedan till klopidogrel. I behandlingsgrupp C behandlades samtliga med antitrombotika, en med acetylsalicylsyra och två med klopidogrel. Behandlingstiden för antitrombotika i behandlingsgrupp A, B och C varierade mellan tre och 59 behandlingsdagar. Doserna för acetylsalicylsyra varierade mellan 0,52 och 1,9 mg/kg/dygn och för klopidogrel mellan 1,0 och 2,9 mg/kg/dygn. I beskrivningen för respektive behandlingsgrupp nedan anges vilka patienter i vardera behandlingsgruppen som behandlades med antitrombotika, vilket läkemedel som användes samt dos och behandlingstid för läkemedlet.

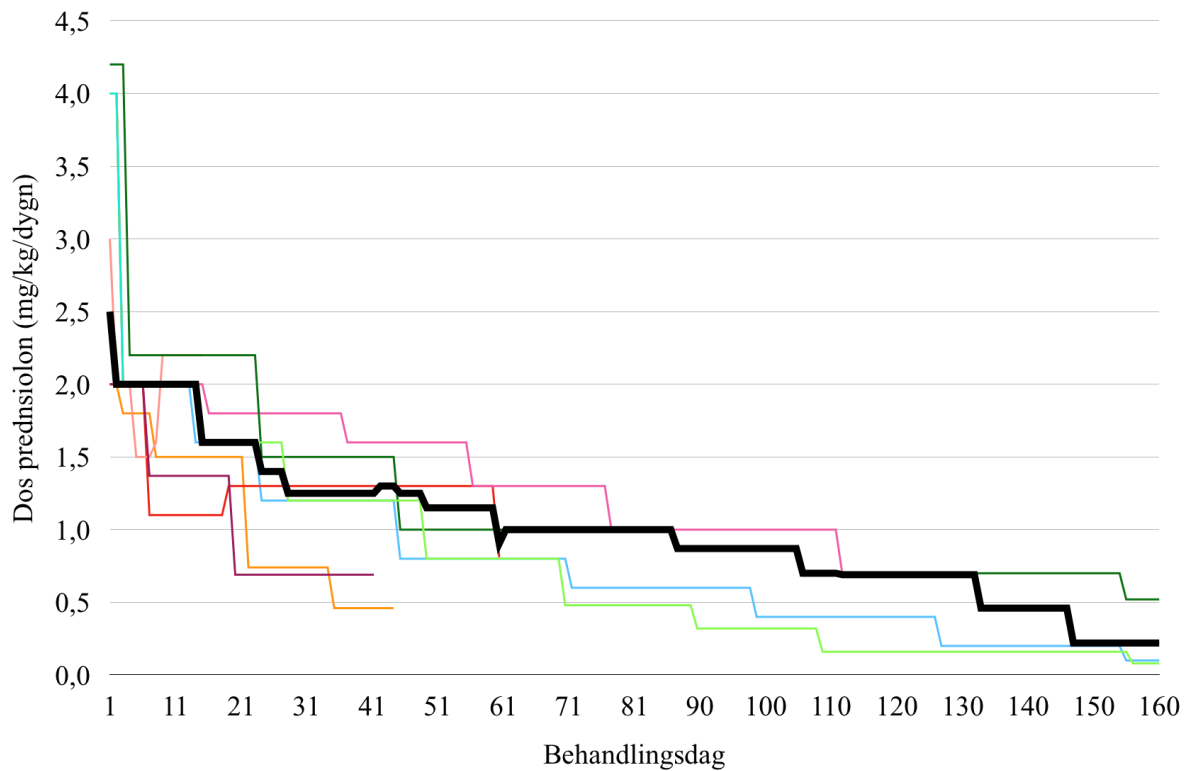
Behandlingsgrupp A

Prednisolon

Startdosen för prednisolon i behandlingsgrupp A varierade mellan 2,0 och 4,2 mg/kg/dygn. Median för startdoserna var 2,5 mg/kg/dygn (variationsvidd 2,2). Redan behandlingsdag två var medianen dock nere på 2,0 mg/kg/dygn (variationsvidd fortfarande 2,2). Behandlingsdag fyra var medianen fortsatt 2,0 mg/kg/dygn, men med en variationsvidd på endast 0,4. Efter två månader var medianen cirka 1,0 mg/kg/dygn, vid drygt fyra månader under 0,5 mg/kg/dygn och vid knappt sex månader cirka 0,2 mg/kg/dygn.

I figur 2 visas medianer för prednisolondosering i behandlingsgrupp A samt de faktiska doseringarna för samtliga patienter inom behandlingsgruppen för 160 behandlingsdagar. Endast doser som överstiger 0,0 mg/kg/dygn är medräknade i medianen. Efter 160 behandlingsdagar var det färre än fyra patienter som fortsatt fick prednisolonbehandling. Linjer som visar doseringen för specifika patienter i diagrammet kan sluta mitt i behandling på grund av

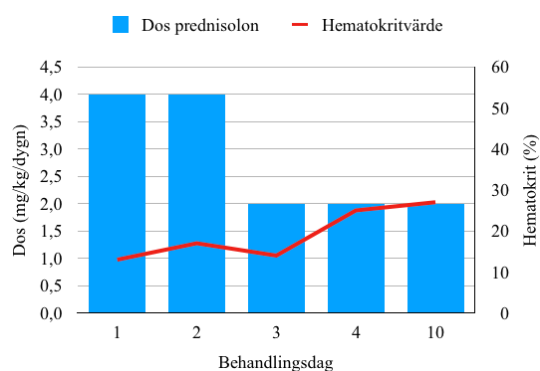
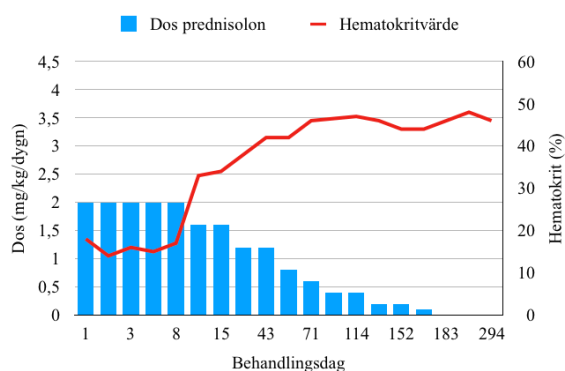
bristande information om nedtrappning. För information om individuell dosering för patienters hela kända behandlingstid hänvisas till dosdiagram för respektive patient i behandlingsgrupp A (figur 3).



Figur 2. Linjediagram över prednisolondoseringen de första 160 behandlingdagarna för de nio IMHA-drabbade hundarna som ingick i behandlingsgrupp A (behandlades immunosuppressivt med endast prednisolon) i den långsiktiga överlevnadsstudien. Svart linje anger median för prednisolondoseringen inom behandlingsgrupp A och färgade linjer visar de faktiska doseringarna för varje patient inom behandlingsgruppen. Linjer som slutar mitt i behandling beror på bristande information om nedtrappning.

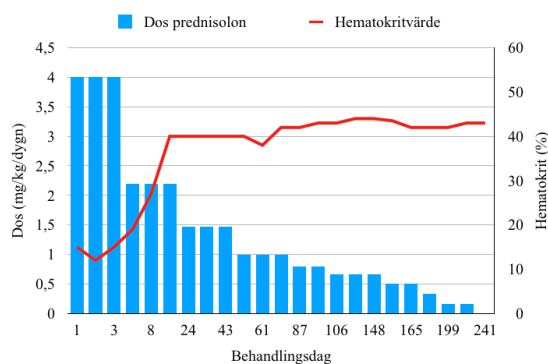
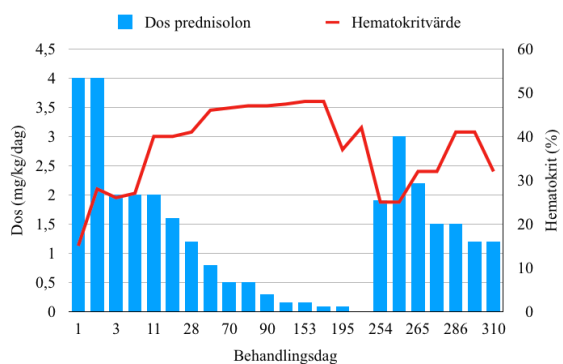
Doser och hematokritvärden för patient A1-A9

Figur 3 visar kända prednisolondoseringar (mg/kg/dygn) och hematokritvärden (%) för varje patient i behandlingsgrupp A (patient A1-A9). Alla hundar i denna behandlingsgrupp utom patient A3 och A8 var vid liv ett år efter behandlingsstart. Patient A1, A2, A3, A6 och A7 behandlades även med acetylsalicylsyra och patient A4 med klopidogrel. Doser och behandlingstid för antitrombotika anges under respektive patients diagram.



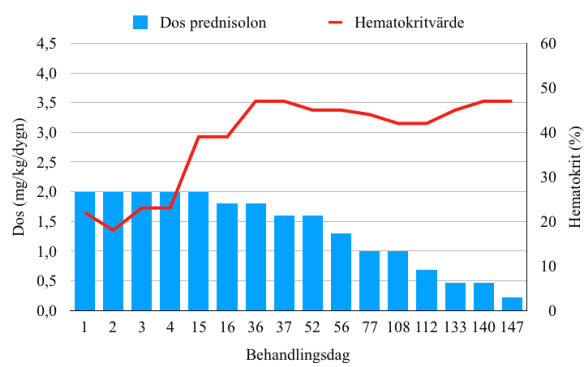
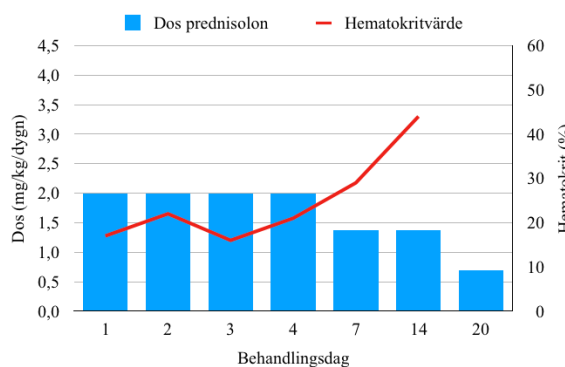
3 a) Patient A1. Acetylsalicylsyra (0,6 mg/kg/dygn) behandlingsdag 2, 3 och 4.

3 b) Patient A2. Acetylsalicylsyra (0,52 mg/kg/dygn) behandlingsdag 1–6.



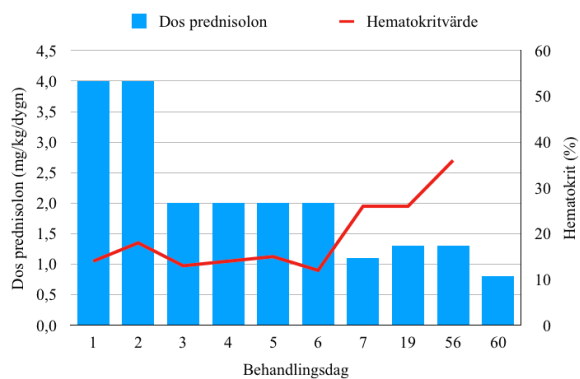
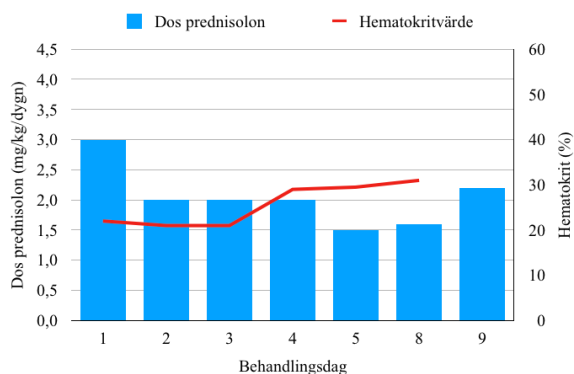
3 c) Patient A3. Acetylsalicylsyra (0,6 mg/kg/dygn) behandlingsdag 4, 5 och 6.

3 d) Patient A4. Klopidogrel (2,5 mg/kg/dygn) behandlingsdag 2–24.



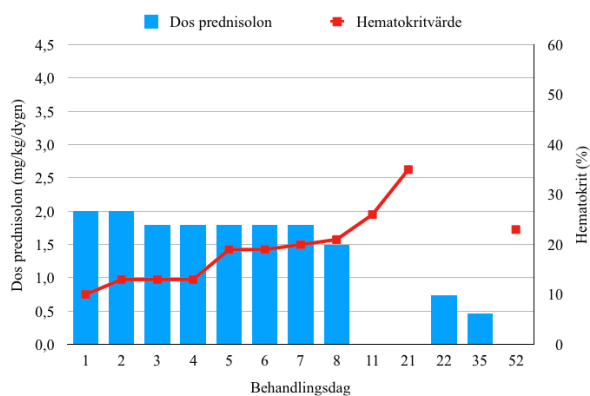
3 e) Patient A5.

3 f) Patient A6. Acetylsalicylsyra (1,9 mg/kg/dygn) behandlingsdag 4–15.



3 g) Patient A7. Acetylsalicylsyra (1,9 mg/kg/dygn) från behandlingsdag 3.

3 h) Patient A8.



3 i) Patient A9.

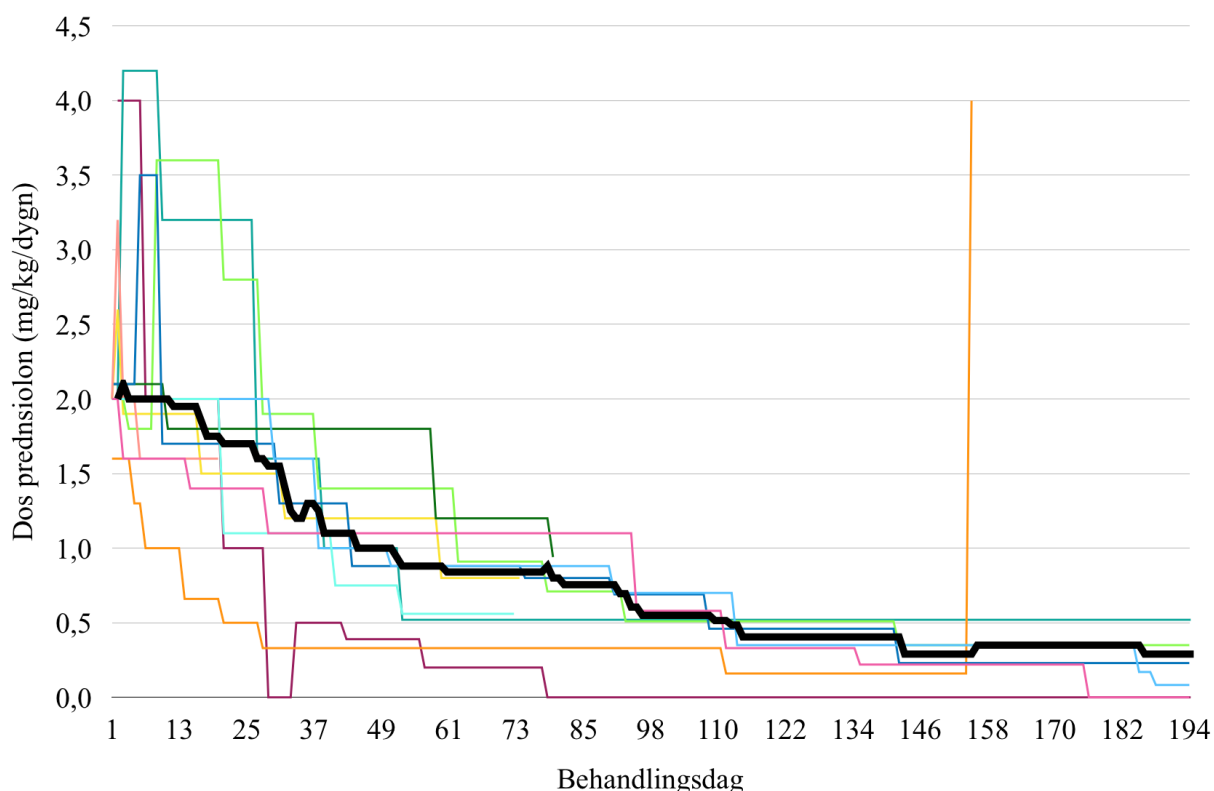
Figur 3. Individuella diagram som visar kända prednisolondoseringar (mg/kg/dygn) och hematokritvärden (%) för var och en av de nio IMHA-drabbade hundarna (patient A1-A9) som ingick i behandlingsgrupp A (behandlades immunosuppressivt med endast prednisolon) i den långsiktiga överlevnadsstudien. Kännedom om nedtrappning av behandling och hematokritvärden varierar från patient till patient och de dagar som anges i diagrammet är alla dagar med känd information för respektive patient. Om patienten behandlats med antitrombotika anges detta under respektive diagram med typ av läkemedel (acetylsalicylsyra eller klopido-rel) tillsammans med dos och behandlingstid.

Behandlingsgrupp B

Prednisolon

Startdosen för prednisolon i behandlingsgrupp B varierade mellan 1,6 och 4,0 mg/kg/dygn. Medianen för startdoserna var 2,0 mg/kg/dygn (variationsvidd 2,4). Därefter sjunker medianen successivt och är efter tre veckor nere på 1,7 mg/kg/dygn (variationsvidd 2,7). Efter cirka en och en halv månad var medianen 1,0 mg/kg/dygn, vid tre månader cirka 0,5 mg/kg/dygn och vid cirka sex månader under 0,3 mg/kg/dygn. Efter drygt sju månader fick endast en patient i behandlingsgrupp B (patient B9) fortsatt prednisolonbehandling.

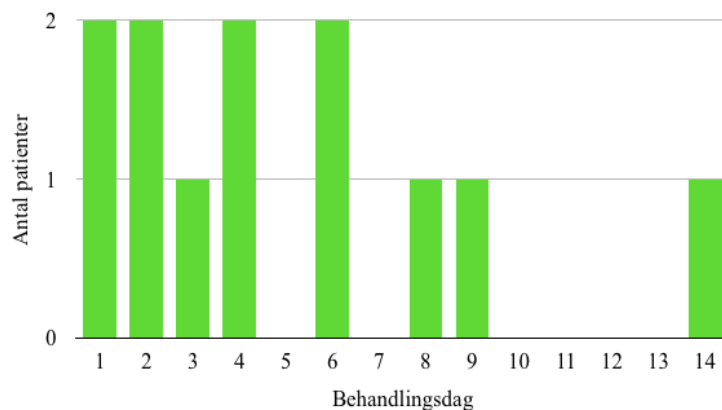
I figur 4 visas medianer för prednisolondosering behandlingsgrupp B samt spridning av faktiska doseringar inom behandlingsgruppen för 194 behandlingsdagar. Endast doser som överstiger 0,0 mg/kg/dygn är medräknade i medianen. Efter behandlingsdag 194 får färre än fyra patienter fortsatt prednisolonbehandling. Linjer som visar doseringen för specifika patienter i diagrammet kan sluta mitt i behandling på grund av bristande information om nedtrappning. För information om individuell dosering för patienters hela kända behandlingstid hänvisas till dosdiagram för respektive patient i behandlingsgrupp B (figur 7).



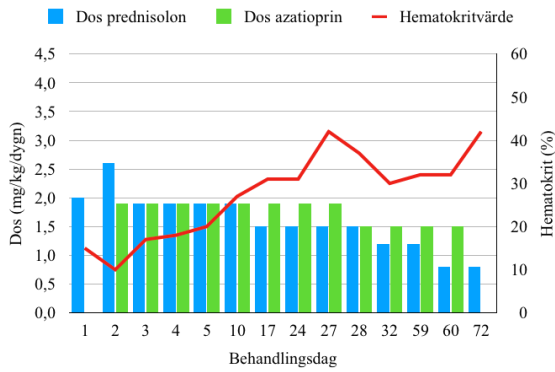
Figur 4. Linjediagram över prednisolondoseringen de första 194 behandlingsdagarna för de tolv IMHA-drabbade hundarna som ingick i behandlingsgrupp B (behandlades immunosuppressivt med både prednisolon och azatioprin) i den långsiktiga överlevnadsstudien. Svart linje anger median för prednisolondoseringen inom behandlingsgrupp B och färgade linjer visar de faktiska doseringarna för varje patient inom behandlingsgruppen. Linjer som slutar mitt i behandling beror på bristande information om nedtrappning. En patient hade tillfälligt uppehåll i sin behandling behandlingsdag 28–32.

Azatioprin

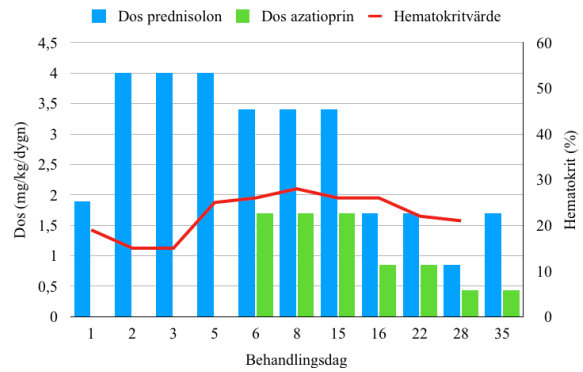
Vilken behandlingsdag (där behandlingsdag ett är den dag prednisolonbehandling påbörjats) som azatioprin sätts in för patienterna i behandlingsgrupp B varierade från dag ett till dag 14. I figur 5 presenteras vilka dagar azatioprin sattes in hos de 12 patienter som ingår i behandlingsgrupp B. Startdosen azatioprin varierade mellan 1,5 och 2,6 mg/kg/dygn (median 2,0 mg/kg/dygn, variationsvidd 1,1). Patienterna i behandlingsgrupp B fick azatioprinbehandling i allt ifrån nio till 194 dagar. I figur 6 visas de faktiska doseringarna för azatioprin i behandlingsgruppen för 194 behandlingsdagar. Efter 194 behandlingsdagar behandlades färre än två patienter i behandlingsgruppen med azatioprin. Linjer som visar doseringen för specifika patienter i diagrammet kan sluta mitt i behandling på grund av bristande information om nedtrappning. Azatioprindosering för patienters hela kända behandlingstid visas i individuella dosdiagram för respektive patient i behandlingsgrupp B (figur 7).



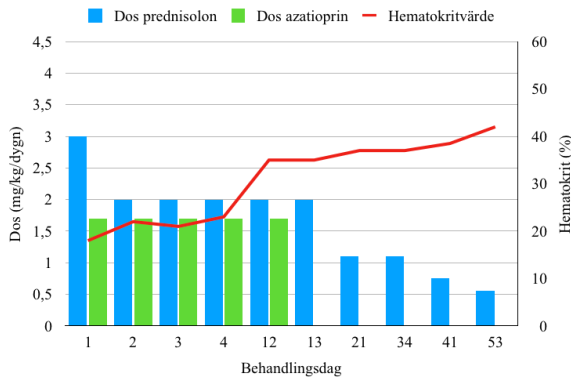
Figur 5. Stapeldiagram som visar behandlingsstart för azatioprin för de tolv IMHA-drabbade hundarna som ingick i behandlingsgrupp B (behandlades immunosuppressivt med både prednisolon och azatioprin) i den långsiktiga överlevnadsstudien. Med behandlingsdag 1 menas den dag prednisolonbehandling påbörjades.



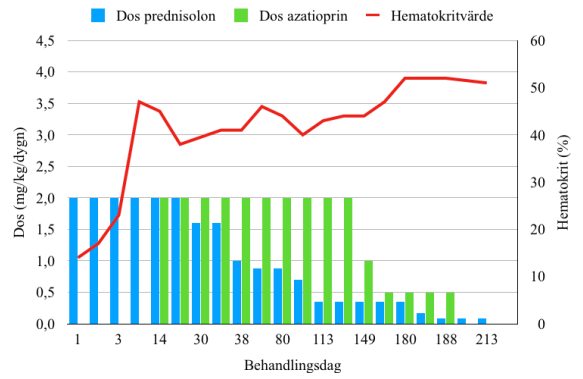
7 a) Patient B1. Acetylsalisylsyra (1,9 mg/kg/dygn) behandlingsdag 3–32.



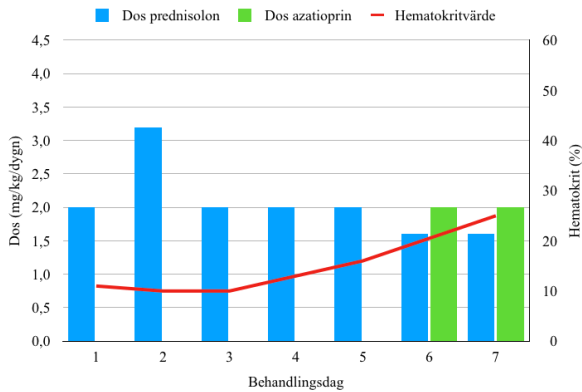
7 b) Patient B2.



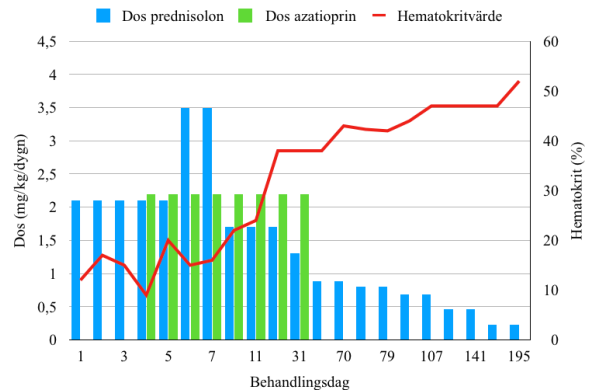
7 c) Patient B3.



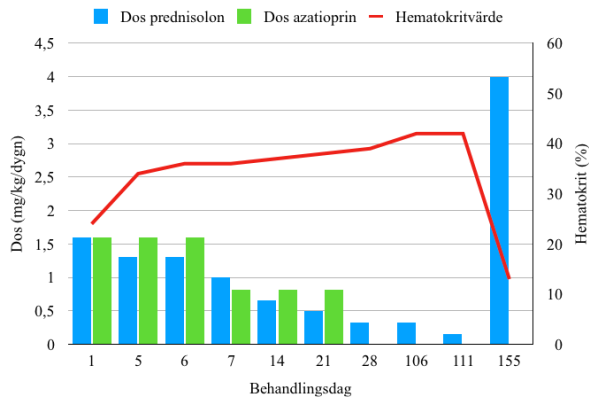
7 d) Patient B4. Klopidogrel (2,9 mg/kg/dygn) behandlingsdag 1–38.



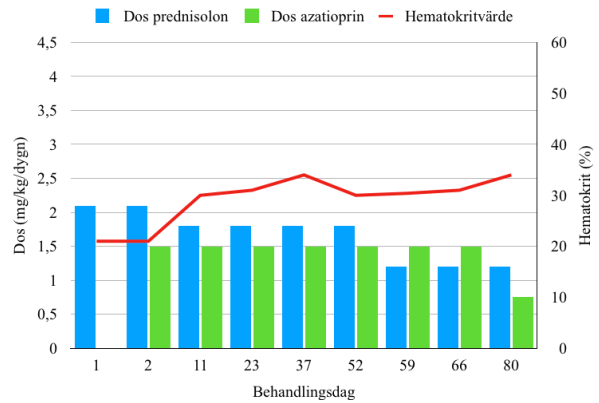
7 e) Patient B5. Acetylsalisylsyra (1,2 mg/kg/dygn) behandlingsdag 1 och 2. Klopidogrel (3,1 mg/kg/dygn) behandlingsdag 3, 4 och 5.



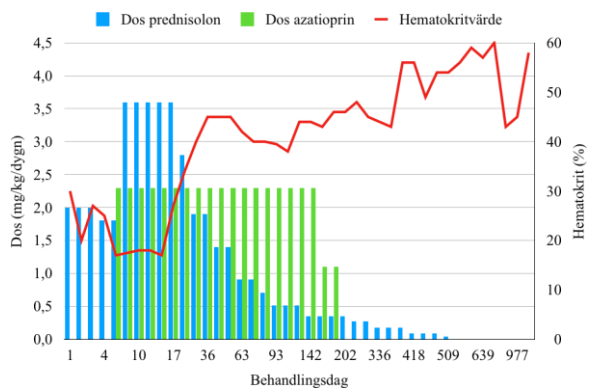
7 f) Patient B6.



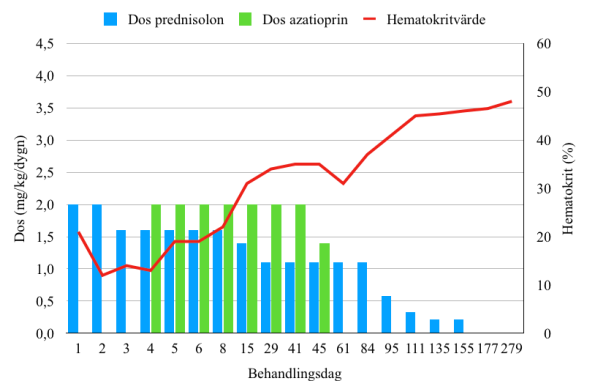
7 g) Patient B7.



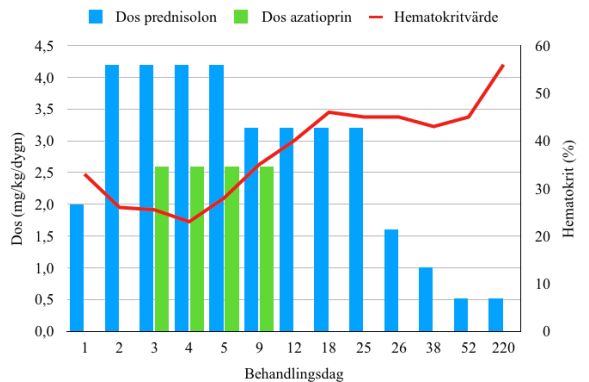
7 h) Patient B8.



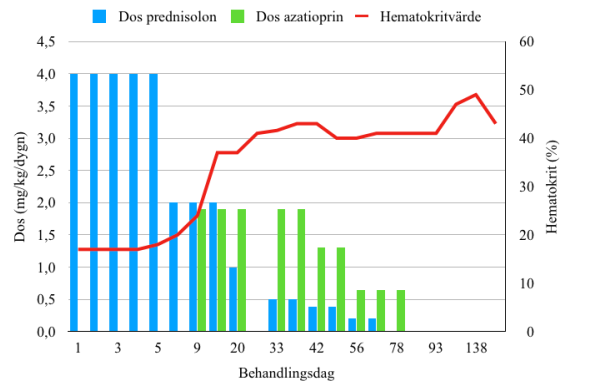
7 i) Patient B9.



7 j) Patient B10. Acetylsalicylsyra (0,52 mg/kg/dygn) behandlingsdag 2–61.



7 k) Patient B11.

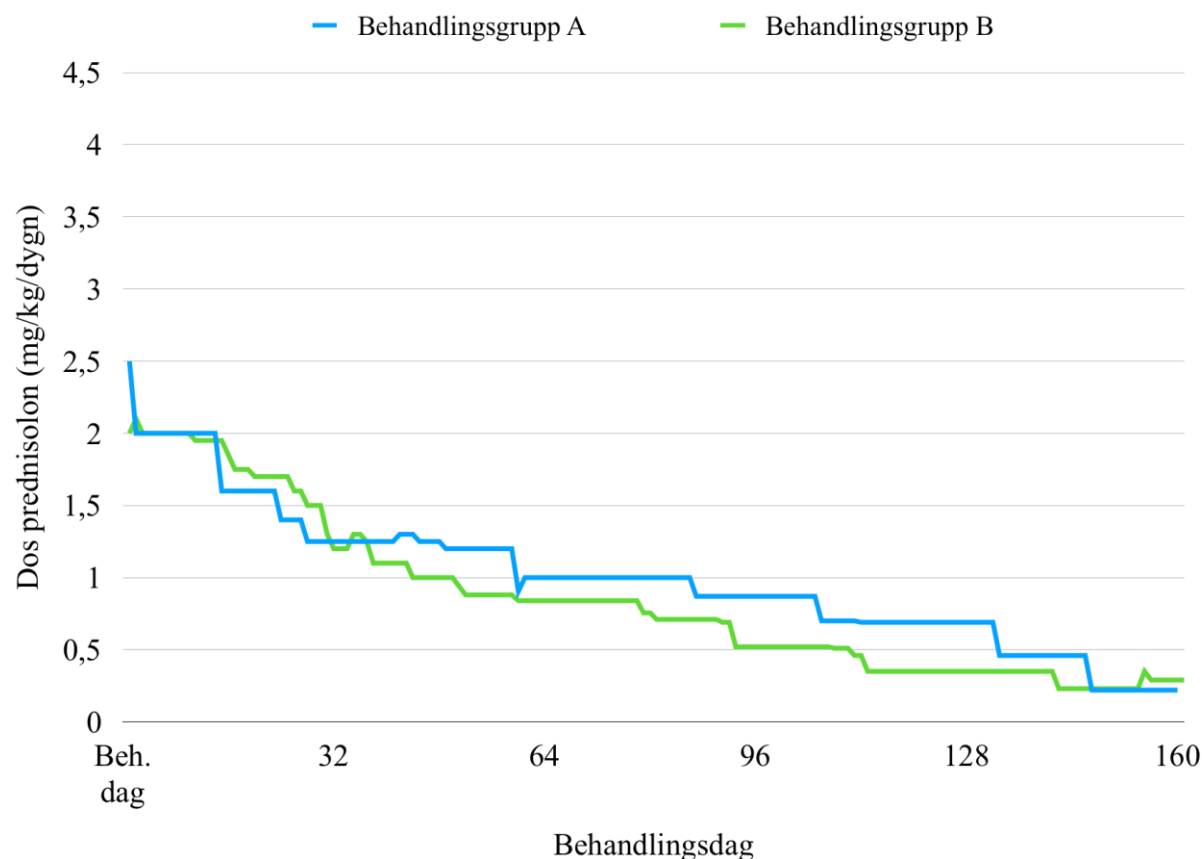


7 l) Patient B12.

Figur 7. Individuella diagram som visar kända prednisolon- och azatioprindoseringar (mg/kg/dygn) samt hematokritvärden (%) för var och en av de tolv IMHA-drabbade hundarna (patient B1-B12) som ingick i behandlingsgrupp B (behandlades immunosuppressivt med både prednisolon och azatioprin) i den långsiktiga överlevnadsstudien. Kännedom om nedtrappning av behandling och hematokritvärden varierar från patient till patient och de dagar som anges i diagrammet är alla dagar med känd information för respektive patient. Om patienten behandlats med antitrombotika anges detta under respektive diagram med typ av läkemedel (acetylsalicylsyra eller klopidogrel) tillsammans med dos och behandlingstid.

Jämförelse av medianvärden för prednisolondosering

I figur 8 presenteras jämförande medianer för prednisolondosering i behandlingsgrupp A och B under de första 160 behandlingdagarna. Efter 160 behandling dagar var det färre än fyra patienter som fortsatt fick prednisolonbehandling i behandlingsgrupp A, därav visas 160 behandling dagar för båda behandlingsgrupperna. Vid beräkning av median har endast kända doser som överstiger 0,0 mg/kg/dygn inkluderats.

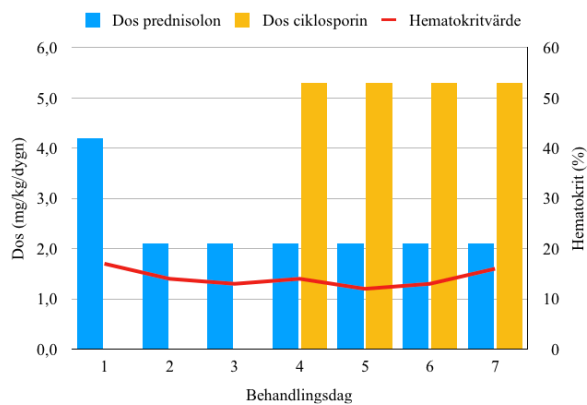


Figur 8. Linjediagram som visar medianer för prednisolondoseringen de första 160 behandlingdagarna för de nio IMHA-drabbade hundarna som ingick i behandlingsgrupp A (behandlades immunosuppressivt med endast prednisolon) och de tolv IMHA-drabbade hundarna som ingick i behandlingsgrupp B (behandlades immunosuppressivt med både prednisolon och ciklosporin) i den långsiktiga överlevnadsstudien. Median för behandlingsgrupp A visas som blå linje och median för behandlingsgrupp B som grön linje.

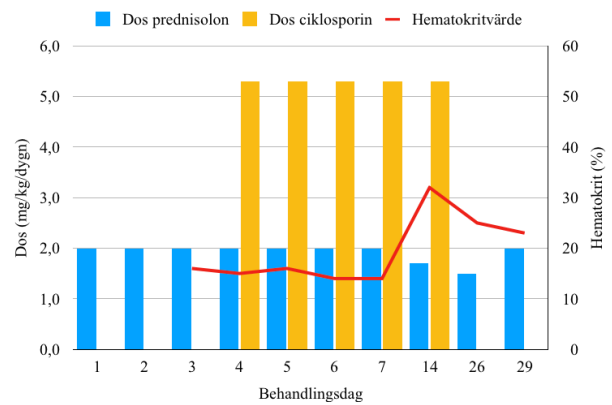
Ciklosporinbehandling, behandlingsgrupp C

Tre patienter har placerats i en egen behandlingsgrupp (behandlingsgrupp C) utanför överlevnadsstudien då de behandlades immunosuppressivt även med ciklosporin. I två fall har ciklosporin getts i kombination med prednisolon och i ett fall har ciklosporin getts i samband med både prednisolon och azatioprin.

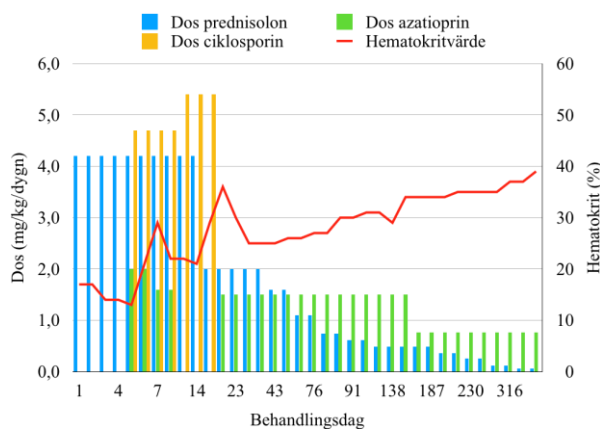
Figur 9 visar prednisolon- och azatioprindosering (mg/kg/dygn) samt hematokritvärde (%) för varje patient i behandlingsgrupp C (patient C1-C3). Ett år efter behandlingsstart levde patient C1 och C3, medan patient C2 avlivades efter cirka en månads behandling. Patient C1 behandlades med acetylsalicylsyra och patient C2 och C3 med klopidogrel. Doser och behandlingstid för antitrombotika anges i figurtexten för respektive patients diagram.



9 a) Patient C1. Acetylsalicylsyra 1,0 mg/kg/dygn från behandlingsdag 4.



9 b) Patient C2. Klopidogrel 1,0 mg/kg behandlingsdag 4–15.



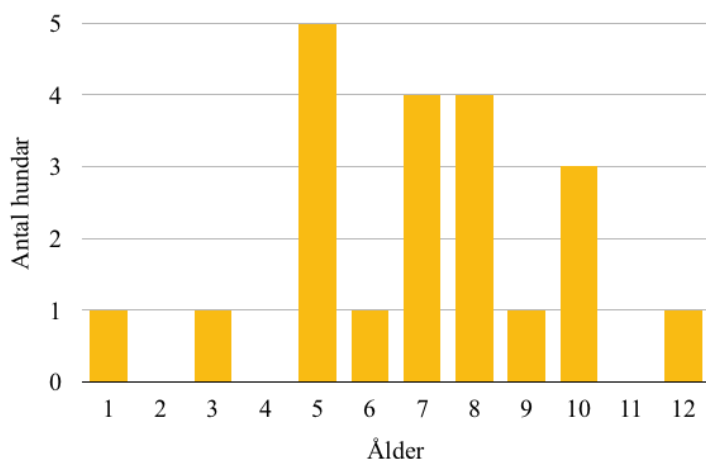
9 c) Patient C3. Klopidogrel 1,8 mg/kg behandlingsdag 1–21.

Figur 9. Individuella diagram som visar kända doseringar för immunosuppressiv behandling (mg/kg/dygn) och hematokritvärden (%) för var och en av de tre IMHA-drabbade hundarna (patient C1-C3) som ingick i behandlingsgrupp C (behandlades immunosuppressivt med prednisolon och ciklosporin (samt azatioprin i ett av fallen)). Kännedom om nedtrappning av behandling och hematokritvärden varierar från patient till patient och de dagar som anges i diagrammet är alla dagar med känd information för respektive patient. Om patienten behandlats med antitrombotika anges detta under respektive diagram med typ av läkemedel (acetylsalicylsyra eller klopidogrel) tillsammans med dos och behandlingstid.

Överlevnadsstudie på 21 hundar, behandlingsgrupp A och B

Urval

Totalt inkluderades 21 hundar i den långsiktiga överlevnadsstudien, varav 15 var tikar och sex var hanar. Åldern låg mellan ett och tolv år med en medelålder på 6,95 år. 71,4 % av hundarna var i åldersspannet 5–10 år och 66,7 % i 5–8 år. Total åldersfördelning för de 21 hundarna redovisas i figur 10.



Figur 10. Stapeldiagram som visar åldersfördelningen för de 21 IMHA-drabbade hundarna som ingick i behandlingsgrupp A (behandlades immunosuppressivt med endast prednisolon) eller behandlingsgrupp B (behandlades immunosuppressivt med både prednisolon och azatioprin) och deltog i den långsiktiga överlevnadsstudien.

Raserna inkluderade cocker spaniel (3), amerikansk cocker spaniel (2), shetland sheepdog (2), blandras (2), flatcoated retriever (1), irländsk setter (1), dvärgschnauzer (1), mellanschnauzer (1), saluki (1), norsk lundehund (1), volpino italiano (1), svart terrier (1), västgötaspets (1), grand danois (1), storpudel (1), schäfer (1). Rasfördelning avseende överlevnad redovisas under underrubriken ”rasfördelning”.

Överlevnad

Av de 21 hundar som deltog i studien behandlades nio immunosuppressivt med endast prednisolon (behandlingsgrupp A) och tolv med prednisolon i kombination med azatioprin (behandlingsgrupp B).

Totalt var det sex hundar som avlivades under ettårsperioden. Två av dessa tillhörde behandlingsgrupp A och fyra behandlingsgrupp B. Överlevnaden i tid för antal hundar visas i tabell 5 nedan. Procentuell överlevnad efter ett år var för behandlingsgrupp A 77,8 % (7/9) och behandlingsgrupp B 66,7 % (8/12). Total överlevnad oberoende av behandling var 71,4 %.

Tabell 5. Överlevnad vid olika tidpunkter för de 21 IMHA-drabbade hundarna som ingick i behandlingsgrupp A (immunosuppressiv behandling med prednisolon) och behandlingsgrupp B (immunosuppressiv behandling med prednisolon och azatioprin) i den långsiktiga överlevnadsstudien

Behandlingsgrupp	Antal levande hundar				
	1 vecka	1 månad	3 månader	6 månader	1 år
A	9	9	8	8	7
B	12	12	10	9	8
Totalt	21	21	18	17	15

Rasfördelning

Rasfördelningen avseende överlevnaden ett år efter insatt behandling redovisas i tabell 6.

Tabell 6. Antal av de 21 IMHA-drabbade hundarna som ingick i behandlingsgrupp A (immunosuppressiv behandling med prednisolon) och behandlingsgrupp B (immunosuppressiv behandling med prednisolon och azatioprin) som deltagit i den långsiktiga överlevnadsstudien och överlevt ett år efter behandling, fördelat på hundras och behandlingsgrupp

Hundras	Behandlingsgrupp A		Behandlingsgrupp B	
	Deltagande	Överlevande	Deltagande	Överlevande
Cocker spaniel	2	2	1	1
Amerikansk cocker spaniel	2	1	1	1
Blandras	-	-	2	1
Shetland sheepdog	1	1	1	1
Dvärgschnauzer	1	1	-	-
Flatcoated retriever	-	-	1	0
Grand danois	1	1	-	-
Irländsk setter	-	-	1	0
Mellanschanuzer	1	0	-	-
Norsk lundehund	-	-	1	1
Saluki	-	-	1	1
Schäfer	-	-	1	1
Storpuddel	-	-	1	0
Svart terrier	1	1	-	-
Volpino italiano	-	-	1	1
Västgötaspets	1	0	-	-

Könsfördelning

15 av studiens 21 deltagande hundar var tikar (71,4 %). För dessa 15 var överlevnaden efter ett år 73,3 % (11/15). För tikarna i behandlingsgrupp A var överlevnaden 80,0 % (4/5) och för de i behandlingsgrupp B var överlevnaden 70,0 % (7/10). Hanarna hade en total överlevnad efter ett år på 66,7 % (4/6). För hanarna i behandlingsgrupp A var överlevnaden 80 % (3/4) och de i behandlingsgrupp B var överlevnaden 50 % (1/2). Könsfördelningen, även med hänsyn till om djuret var intakt eller kastrat, redovisas i tabell 7.

Tabell 7. Antal av de 21 IMHA-drabbade hundarna som ingick i behandlingsgrupp A (immunosuppressiv behandling med prednisolon) och behandlingsgrupp B (immunosuppressiv behandling med prednisolon och azatioprin) som deltagit i den långsiktiga överlevnadsstudien och överlevt ett år efter behandling, fördelat på kön

Kön	Behandlingsgrupp A		Behandlingsgrupp B	
	Deltagande	Överlevande	Deltagande	Överlevande
Tik	3	3	7	5
Honkastrat	2	1	3	2
Hane	3	2	1	1
Hankastrat	1	1	1	0

Uppföljning

Av de hundar som tillfrisknade och var vid liv ett år efter behandlingsstart drabbades en i vardera behandlingsgruppen (A och B) senare av IMHA-recidiv, båda med dödlig utgång. En hund i behandlingsgrupp A drabbades av immunmedierad trombocytopeni (IMT) och behandlades framgångsrikt immunosuppressivt med prednisolon.

Hematokrit mellan 13 och 19 % i behandlingsgrupp A och B

För att jämföra patienter som haft så lika utgångsläge som möjligt jämfördes även en undergrupp av de 21 hundarna. Här inkluderades endast de hundar i behandlingsgrupp A och B som hade ett hematokritvärde mellan 13 och 19 %. Bland dessa 14 hundar sågs en överlevnad i behandlingsgrupp A på 71,4 % (5/7) och i behandlingsgrupp B på (57,1 % 4/7). Resultatet redovisas i tabell 8.

Tabell 8. Antal överlevande hundar vid olika tidpunkter bland de 14 IMHA-drabbade hundarna i behandlingsgrupp A (immunosuppressiv behandling med prednisolon) och behandlingsgrupp B (immunosuppressiv behandling med prednisolon och azatioprin) som vid insatt behandling uppvisade hematokritvärden mellan 13 och 19 %

Behandlingsgrupp	Antal levande hundar				
	1 vecka	1 månad	3 månader	6 månader	1 år
A	7	7	6	6	5
B	7	7	5	4	4
Totalt	14	14	11	10	9

Hundar som avled eller avlivades första behandlingsveckan

Nedan beskrivs de patienter som avled eller avlivades under den första behandlingsveckan och som därför inte inkluderades i behandlingsgrupp A eller B. Av dessa 15 hundar uppvisade fem en hematokrit på <13 %. Här benämns de som behandlades med endast prednisolon som behandlingsgrupp P och de som behandlades med både prednisolon och azatioprin som behandlingsgrupp PA.

Dödsorsaker

Tre av dessa 15 hundar avlivades redan dag två på grund av kraftig försämring (samtliga i behandlingsgrupp P). Sju hundar avlivades på grund av att de successivt blev sämre och veterinär och djurägare kom överens om avlivning (två i behandlingsgrupp PA, fem i behandlingsgrupp P). Två hundar självdog, en dag två och en dag tre (båda i behandlingsgrupp PA). En hund avlivades när den fick kramper och var på väg att självdö (behandlingsgrupp PA). En hund avlivades dag fyra på grund av en trolig triggande pyometra som försämrar prognosen utan operation (behandlingsgrupp P). En hund hade samtidig diabetes mellitus samt livmoderförändringar och avlivades dag tre (behandlingsgrupp P).

Överlevnad

När dessa 15 hundar läggs samman med de 21 hundar som ingick i behandlingsgrupp A och B hamnar det 18 hundar vardera i behandlingsgrupp P respektive PA. Överlevnad från behandlingsdag 1 till 8 var 50 % i behandlingsgrupp P och 66,7 % i behandlingsgrupp PA. Resultaten visas i tabell 9.

Tabell 9. Antal överlevande hundar första behandlingsveckan av de 15 IMHA-drabbade hundarna i behandlingsgrupp P (immunosuppressiv behandling med prednisolon) och behandlingsgrupp PA (immunosuppressiv behandling med prednisolon och azatioprin)

Behandlingsgrupp	Antal levande hundar	
	Behandlingsdag 1	Behandlingsdag 8
P	18	9
PA	18	12
Totalt	36	21

DISKUSSION

Överlevnadstudie på 21 hundar

Överlevnad

I den retrospektiva journalstudie som utförts för perioden 2009–2017 sågs ingen tydlig skillnad i överlevnad efter ett år mellan de hundar som behandlats immunosuppressivt för IMHA med prednisolon jämfört med de som behandlats med prednisolon i kombination med azatioprin. Fördelningen av vilken behandling hundarna hade fått vid UDS i Uppsala var mycket jämn mellan de två alternativen. 42,9 % (9 av 21 hundar) behandlades med endast prednisolon och 52,1 % (12 av 21) med prednisolon och azatioprin. Överlevnaden för prednisolonbehandlade hundar var 77,8 % (7/9 hundar) och för prednisolon- och azatioprinbehandlade 66,7 % (8/12 hundar). Trots att det är en något högre överlevnad för prednisolonbehandlingen är urvalet så pass litet att det inte går att säga något om vilken behandling som ger högst överlevnad. Dessutom var inte dosregimen standardiserad vilket ytterligare försvårar jämförelsen av de två behandlingarna. Resultatet indikerar dock att behandling med azatioprin inte verkar ha någon positiv effekt för en ökad överlevnad hos hundarna i denna studie. Samma indikation blev resultatet i en kohortstudie med 222 fall av Piek *et. al.* där ingen statistisk signifikant skillnad kunde ses mellan immunosuppressiv behandling med prednisolon eller prednisolon i kombination med azatioprin hos hundar med IMHA (2011). En annan retrospektiv studie med 151 fall fann dock att behandling med en kombination av glukokortikoider, azatioprin och lågdos acetylsalicylsyra markant ökade överlevnaden hos hundar med IMHA (Weinkle *et. al.*, 2015). I studien av Piek *et. al.* (2011) anges inga uppgifter om antitrombotika vilket gör det svårt att jämföra dessa studier enbart utifrån resultatet av den immunosuppressiva behandlingen. Slutsatsen som går att dra är dock att resultat i tidigare studier inte varit enade.

Immunosuppressiv behandling och dosering

En annan aspekt förutom den faktiska överlevnaden är hundarnas livskvalitet. Om patienterna har många och/eller starka biverkningar av prednisolon när det ges i hög dos kan eventuellt en kombination med azatioprin ge en bättre livskvalitet om detta gör att prednisolondosen kan sänkas. Generellt skiljer sig dock inte prednisolondoserna i denna studie så mycket mellan behandlingsgrupperna. Medianen för prednisolondoseringen är till och med högre i behandlingsgrupp B än i behandlingsgrupp A vid vissa tidpunkter. Detta är lite överraskande

eftersom en av orsakerna till att azatioprin ges i kombination med prednisolon är att kunna minska dosen prednisolon och då också dess biverkningar (Forney, 2017). Eftersom azatioprin sätts in vid olika tidpunkter skulle det dock kunna förklara att prednisolondoserna generellt är högre i behandlingsgrupp B de första behandlingsdagarna innan azatioprin sätts in. Behandlingsdag 14 sattes dock sista patienten i behandlingsgrupp B in på azatioprin och då hade istället en sänkning av prednisolondoseringen kunnat förväntas. Vid denna tidpunkt var det dock två patienter i behandlingsgrupp B som behandlades med prednisolon i doser på över 3,0 mg/kg/dygn i kombination med azatioprin. Jämför man med behandlingsgrupp A vid denna tidpunkt så var högsta prednisolondosering 2,2 mg/kg/dygn.

Inget tydligt samband kunde ses mellan dosering, nedtrappning av behandling och överlevnaden hos patienterna. I behandlingsgrupp A finns dock ett fall med anmärkningsvärt tidig nedtrappning från 4,0 mg/kg/dygn till 1,1 mg/kg på en vecka. Denna patients hematokritvärden har då endast gått upp till 23 % och patienten avlivas efter två månaders behandling. Ett liknande fall ses i behandlingsgrupp B där prednisolondosen efter en vecka är nere på 1,0 mg/kg/dygn. Nedtrappningen är dock inte lika kraftig som i det andra fallet då initial dos var 1,6 mg/kg/dygn, men här trappas även azatioprindosen ned efter en vecka från 1,6 mg/kg/dygn till 1,6 mg/kg varannan dag, vilket totalt i immunosuppressiv behandling är en kraftig sänkning. Denna hund lever dock i fem månader innan den avlivas. Utgången för dessa hundar kunde såklart ha blivit densamma även om inte sänkningen varit så brant, men det är ändå något som uppmärksammas. Ingen speciell anledning eller motivering till de snabbare nedtrappningarna har angivits i journalerna.

Rasfördelning

Bland de 72 hundarna som diagnosticerats med IMHA/AIHA vid UDS åren 2009–2017 var det (förutom blandras) cocker spaniel som var den mest IMHA-diagnosticerade rasen. Detta stämmer överens med att det är en ras som är känt predisponerad för sjukdomen. Av de raser som innefattades i den långsiktiga överlevnadsstudien var även här det största antalet cocker spaniel (3), följt av amerikansk cocker spaniel (2) och shetland sheepdog (2). Överlevnaden efter ett år var för dessa raser 100 % oavsett behandling. Av dessa är både cocker spaniel och amerikansk cocker spaniel känt predisponerade för sjukdomen. Tidigare studier har dock inte kunnat påvisa någon ökad dödlighet för dessa raser jämfört med andra raser (Weinkle *et. al.*, 2005). Resultatet i denna studie styrker detta och antyder till och med att det skulle vara gynnsamt för överlevnaden att vara av en predisponerad ras. Detta kan vara så enkelt som att diagnos i regel ställs tidigare hos dessa hundar på grund av deras kända predisponering för sjukdomen. Att raserna genetiskt skulle vara mer mottagliga för behandlingen känns mindre troligt. Däremot kanske dessa hundar oftare drabbas av en typ av IMHA som är mer mottaglig för behandling. Eventuellt skulle en predisponering för autoantikroppar av specifika Ig-klasser kunna spela roll här. Det skulle i sådana fall innebära att dessa raser lättare utvecklar IMHA på grund av autoantikroppar av en viss Ig-klass som också skulle vara mer mottaglig för behandling. Studier angående Ig-klasser vid IMHA har utförts där man kommit fram till att IgG ensamt eller IgG i kombination med IgM är vanligast vid IMHA (Wilkerson *et. al.*, 2000,

Morley *et. al.*, 2008). Dock har inga studier som utfört liknande tester med avseende på specifika raser kunnat hittas.

Shetland sheepdog, som också ligger i topp i studien med två hundar, är däremot ingen känd predisponerad ras för IMHA. Dock var det endast dessa två hundar av rasen som fanns med bland de 72 IMHA-diagnosticerade från början, så att två av 21 hundar i studien är av rasen shetland sheepdog kan vara en tillfällighet.

Könsfördelning

Det finns beskrivet i flera studier att IMHA oftare drabbar tikar än hanar (Balch & Mackin, 2007). I denna studie har resultatet visat detsamma. Andelen överlevande hundar efter ett år är dock högre hos tikar (73,3 %) än hos hanar (66,7 %) trots att ett större antal tikar drabbas. Skillnaden i överlevnad är dock inte markant (och urvalet litet). Däremot kan en liknande slutsats dras som för de predisponerade raserna att även om tikar är mer benägna att drabbas av IMHA så betyder inte det att de har en sämre chans att överleva sjukdomen.

Det är också i större utsträckning intakta hundar som drabbas. Detta är dock inte så konstigt eftersom hundar inte kastreras rutinmässigt i Sverige. En felkälla för könsfördelningen mellan intakta och kastrerade hundar för de 72 IMHA-diagnosticerade hundarna kan dock vara att könet förts in fel i journalsystemet. Om en tik är kastrerad är det inget som syns vid undersökning och om en hund kastreras kan det behöva föras in manuellt i journalsystemet för att könet ska ändras i journalen. Enstaka kastrerade hundar som inte angivits som kastrerade i journalen har uppdagats bland patienterna som deltagit i studien när journalen lästs mer ingående, så risken att det finns ett mörkertal med kastrerade hundar bland de 72 IMHA/AIHA-diagnosticerade hundarna är ganska stor.

Inklusionskriterier och vidare studier

Inklusionskriterierna har varit relativt strikta för att urvalet ska vara så säkra fall av IMHA som möjligt. Det finns dock risk för att fall av IMHA kan ha missats på grund av detta. De fall där det inte funnits någon annan förklaring till sjukdomen än IMHA men där bilden inte varit typisk för IMHA har till exempel sorterats bort. Detta för att inte riskera att få med hundar som blivit felaktigt diagnosticerade. Hade inklusionskriterierna varit annorlunda hade urvalet blivit större, men utfallet hade inte varit lika pålitligt. Nu blev resultatet att vi inte kan se någon skillnad mellan behandlingarna, så ett större urval kunde ha varit intressant. Att göra inklusionskriterierna mindre strikta skulle dock minska pålitligheten av studien och resultatet. En studie där urvalet utökas med samma inklusionskriterier skulle vara desto mer intressant. Detta skulle till exempel kunna uppnås genom ett samarbete mellan flera djursjukhus.

Liknande studier som denna har utförts bland annat av Piek *et. al.* (2011). I en retrospektiv studie undersöktes där också huruvida det gick att se någon skillnad i överlevnad mellan IMHA-drabbade hundar som behandlats immunosuppressivt med enbart glukokortikoider eller glukokortikoider i kombination med azatioprin. I den studien fann man inte heller någon

signifikant skillnad mellan grupperna. Slutsatsen ur den studien blev att det kan vara så att azatioprin inte har någon gynnsam effekt vid IMHA-behandling hos hund, men att det skulle behöva göras en blind slumpmässig klinisk studie för att helt avgöra. Det är såklart det som är mest önskvärt för att få ett så korrekt resultat som möjligt. Med de retrospektiva studier som gjorts kan ingen skillnad mellan behandlingarna ses, men det kan ej heller avgöras att azatioprin inte har någon gynnsam effekt. Det finns inte heller grund för att sluta behandla med azatioprin. Azatioprin är dock ett preparat som personal och djurägare bör hantera med försiktighet på grund av att det anses vara en möjlig eller trolig cancerogen substans (Piek *et. al.*, 2011). Detta är ytterligare en anledning att fortsätta ta reda på mer angående effekten av dessa behandlingar.

Behandling med antitrombotika

Ingen tydlig skillnad i överlevnad mellan de hundar som behandlats med antitrombotika och de som inte gjort det har heller kunnat observeras. Däremot har det observerats att doseringen för både acetylsalicylsyra och klopidogrel varierat mycket. Rekommenderad dos för acetylsalicylsyra är 0,5 mg/kg/dygn (Shearer, Kruth & Wood, 2009). I denna studie har doseringen för acetylsalicylsyra varierat mellan 0,52 och 1,9 mg/kg/dygn. För klopidogrel finns studier som visat att en initial dos på 10 mg/kg effektivt hämmar trombocyttaggregationen inom 24 timmar och en uppföljande daglig dos på 2 mg/kg ger en tillräcklig trombocythämning hos friska hundar (Goodwin, Hogan & Green, 2007). I denna studie har doserna legat mellan 2,5 och 3,1 mg/kg/dygn (och i behandlingsgrupp C finns även doser så låga som 1,0 mg/kg/dygn), vilket är ganska lika mot rekommenderad underhållsdos, men inga fall har påvisats där initialdosen varit högre än underhållsdosen.

För att bättre kunna bedöma om antitrombotika påverkar överlevnaden vid IMHA skulle en studie mer fokuserad på detta behöva göras och med ett mycket större urval.

Hundar som avled eller avlivades första behandlingsveckan

I den separata studie som utöver de 21 hundarna i behandlingsgrupp A och B inkluderade de 15 patienter som avled eller avlivades under den första behandlingsveckan sågs en något större skillnad i överlevnad mellan behandlingarna (prednisolon 52,4 % och prednisolon och azatioprin 66,7 %). Första behandlingsveckan var alltså överlevnaden för prednisolon lägre än för prednisolon i kombination med azatioprin. Azatioprin beskrivs ha en långsam effekt när man använder endast detta preparat och exakt efter hur lång tid man kan förvänta sig en behandlingseffekt är inte helt klart. Ofta beskrivs dock azatioprins effekt sätta in efter omkring 2–4 veckor, men man tror att en kombination med prednisolon ger en snabbare insatt effekt (Piek *et. al.*, 2011; Whitley & Day, 2011; Archer & Mackin, 2014).

Att resultatet i denna studie antyder att en något högre överlevnad skulle kunna ses den första behandlingsveckan hos patienter behandlade med kombinationen av prednisolon och azatioprin än med endast prednisolon är därför lite av en överraskning. Detta speciellt eftersom de flesta avlidit inom de första fyra behandlingsdygnen. Om azatioprin har så långsam behandlingseffekt som flera dagar skulle det ej vara troligt att azatioprin spelat någon roll i den kortsiktiga

överlevnaden. En möjlighet skulle dock kunna vara att man ser en snabbare effekt vid kombinationen av preparaten än vad man trott och att fler hundar klarar denna första kris av sjukdomen bättre med ett tidigt insatt azatioprin. Detta är en spekulering med tanke på att skillnaden inte är så stor att den inte skulle kunna bero på slumpen, men ändå en intressant sådan. Detta skulle i sådana fall innebära att det är extra viktigt att sätta in azatioprin tidigt om det överhuvudtaget ska sättas in.

Det observerades under granskningen av journalerna att det är väldigt olika från patient till patient när azatioprin sattes in i de fall där detta gjordes. Insättande allt ifrån dag 1 till dag 14 och i extremfallet efter dryga månaden har observerats. Om det skulle ligga något i att azatioprin i kombination med prednisolon har effekt på sjukdomen tidigare än man trott skulle just när azatioprin sätts in spela en stor roll för vilka hundar som överlever den första kritiska fasen. Om en prospektiv studie skulle genomföras skulle det vara önskvärt att azatioprin, i de fall det används, sattes in direkt, och vid samma tidpunkt för samtliga hundar. Enligt denna studie har ett tidigt insatt azatioprin åtminstone inte verkat ha en negativ effekt på patienten, även om vinsten är oklar.

Ciklosporinbehandling

Tre patienter som behandlades med ciklosporin i kombination med prednisolon, och i ett av dessa fall även i kombination med azatioprin, placerades i en egen behandlingsgrupp (behandlingsgrupp C). Mellan dessa tre hundar kunde inget tydligt samband ses och antalet är också mycket litet. En patient som behandlades med prednisolon och ciklosporin levde fortfarande knappt ett år efter insatt behandling och en avlivades efter drygt en månad. Den patient som fick behandling med både prednisolon och azatioprin utöver ciklosporin levde fortfarande knappt ett år efter insatt behandling. Behandlingen med ciklosporin och azatioprin för denna patient överlappade dock endast två dagar, så det är svårt att veta hur stor ”gemensam effekt” läkemedlen haft.

Kombinationsbehandling med ciklosporin bland IMHA-drabbade hundar vid UDS mellan 2009–2017 var inte alls vanlig i förhållande till kombinationsbehandling med azatioprin. Ciklosporin har dock potenta suppressiva effekter på lymfocytproliferation och autoantikroppproduktion och kan även hämma fagocytos (Salom, Maquire & Hancock, 1993; Kirk, 2000). Teoretiskt skulle det kunna ha effekt både i början av behandlingen samt vara bra som underhållsbehandling då biverkningarna är relativt milda i många fall.

Övriga begränsningar och felkällor

Det kan inte helt klarläggas att de patienter som avlidit eller avlivats har gjort detta endast på grund av IMHA. Enligt journalerna bland de som inkluderats i studien har det i de allra flesta fall utförts någon form av bilddiagnostik där inga andra fynd som skulle vara dödliga för patienten har hittats. I vissa fall har inte lika många undersökningar hunnit utföras eller har djurägaren inte varit intresserad av vidare undersökningar vilket såklart gör detta mer osäkert, speciellt när avlivning skett tidigt i behandlingen. I ett fall i studien utfördes ingen

bilddiagnostik vid insättning av behandling utan detta gjordes först när hunden försämrades efter flera månaders behandling. Vid denna tidpunkt sågs fynd som gav en stark misstanke om neoplasi i flera organ. Hade bilddiagnostik utförts tidigare kanske detta hade resulterat i att behandling inte påbörjats. Dock går det inte att veta om dessa förändringar fanns vid behandlingsstart eller inte, även om det kan ses som troligt att de hade med triggandet av sjukdomen att göra.

Triggande allvarliga sjukdomar som inte hittats skulle också kunna vara en felkälla till att fler patienter som behandlats med prednisolon i kombination med azatioprin än de som behandlats endast med prednisolon överlevt den första behandlingsveckan. Detta borde påverka båda behandlingsalternativen likvärdigt, men slumpen kan ha gjort att fördelningen blivit som den blivit. En teori skulle också kunna vara att där både prednisolon och azatioprin satts in har man varit mer säker på en IMHA-diagnos och därför gett denna behandling som kan uppfattas som mer aggressiv. Dock kan inget tydligt samband mellan hundens allvarlighetsgrad av IMHA och val av insatt behandling ses i denna studie.

De patienter som uteslutits ur studien på grund av bristande information samt bristande uppföljning är också en felkälla. Detta var inget som gick att påverka i denna studie, men kan vara en påminnelse om att vara så noggrann som möjligt med journaler och återkoppling av patienter.

Konklusion

I studien som utfördes i detta arbete kan ingen tydlig skillnad i överlevnad efter ett år ses mellan hundar med IMHA som behandlats immunosuppressivt med prednisolon jämfört med de som behandlats med prednisolon i kombination med azatioprin. Detta kan betyda att de två olika behandlingarna faktiskt är likvärdiga, men det kan också ifrågasätta värdet av azatioprin i behandlingen. Det låga antalet patienter och bristen av standardisering i doseringar i respektive behandlingsgrupp gör det dock svårt att dra några slutsatser när det gäller val av behandling. Den stora skillnaden i vilken startdos prednisolon som den behandlande veterinären valt är något som vore intressant att undersöka mer. En studie med större urval och fokus på preparat, dosering och överlevnad är önskvärt för att ge bättre information. Ett samarbete mellan flera djursjukhus skulle gärna ses för att öka antalet deltagande hundar.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Ah-Moye, D., Davies, C., Goody, J., Hayward, P., Frewin, R. (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*, 3. uppl. Amsterdam: Churchill Livingstone, Elsevier.
- Al-Ghazlat, S. (2009). Immunosuppressive therapy for canine immune-mediated hemolytic anemia. *Compendium Continuing Education for Veterinarians*, 31(1):33-41, 44; quiz 44.
- Allison, A.C. (2000). Immunosuppressive drugs: the first 50 years and a glance forward. *Immunopharmacology*, 47(2-3):63-83.
- Archer, T. & Mackin, A. (2014). Management of immune-mediated hemolytic anemia: a common hematologic disorder in dogs & cats. *Today's Veterinary Journal*, 4(2):41-46.
- Balch, A. & Mackin, A. (2007). Canine immune-mediated hemolytic anemia: pathophysiology, clinical signs, and diagnosis. *Internal Medicine Compendium*, 29(4):217-25.
- Beale, K.M. (1988). Azathioprine for treatment of immune-mediated disease of dogs and cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 192(9):1316-18.
- Blackwood L., German A.J., Stell A.J., O'Neil T. (2004). Multicentric lymphoma in a dog after cyclosporine therapy. *Journal of Small Animal Practice*, 45(5):259-62.
- Bring, J., Taube, A., Wikman, P. (2015). *Introduktion till medicinsk statistik*, 2. uppl. Lund: Studentlitteratur.
- Burgess, K., Moore, A., Rand, W., Cotter, S. (2000). Treatment of immune-mediated hemolytic anemia with cyclophosphamide. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14(4):456-62.
- Carr, A.P., Panciera, D.L., Kidd, L. (2002). Prognostic factors for mortality and thromboembolism in canine immune-mediated hemolytic anemia: a retrospective study of 72 dogs. *Journal of Veterinary Medicine*, 16(5):504-9.
- Castoldi, G.L. & del Senno, L. (1998). Erythrocytes. I: Delves, P.J. & Roitt, I.M. (red.). *Encyclopedia of Immunology*, 2. uppl. St Louis: Mosby Elsevier Inc. ss. 833-841.
- Conrad, P., Thomford, J., Yamane, I., Whiting, J., Bosma, L., Uno, T., Holshuh H.J., Shelly, S. (1991). Hemolytic anemia caused by Babesia gibsoni infection in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 199(5):601-5.
- Day, M.J. (2010). Immune-mediated anemias in the dog. I: Weiss, D.J. & Wardrop, K.J. (red.). *Schalm's Veterinary Hematology*, 6. uppl. Philadelphia: Williams & Wilkins, ss. 216-25.
- DuHadway, M. (2013). *The Hypercoagulable State in Canine Immune-Mediated Hemolytic Anemia*, College of Veterinary Medicine, Michigan State University.
<https://www.semanticscholar.org/paper/The-Hypercoagulable-State-in-Canine-Immune-Mediated-DuHadway/7539bc794ce8eb8f69e4bd8b51f3aa5f9740a3f1> [Hämtad 2018-10-13].
- Ettinger, S.J. & Feldman, E.C. (2005). *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 6. uppl. St Louis: Saunders.
- Fisher, V.R., Scott, M.K., Tremblay, C.A., Beaulieu, G.P., Ward, C.D., Byrne, K.M. (2013). Disseminated intravascular coagulation: laboratory support for management and treatment, *Laboratory Medicine*, 44(1):10-14.

- Forney, B. (2017). *Azathioprine for Veterinary Use*. Wedgewood Pharmacy: For Veterinary Practices. <https://www.wedgewoodpetrx.com/learning-center/professional-monographs/prednisone-for-veterinary-use.html> [Hämtad 2018-08-23].
- Garcia, J.L. (2010). *Just Ask the Expert: A few tips on diagnosing IMHA*, *Veterinary Medicine*, <http://veterinarymedicine.dvm360.com/just-ask-expert-few-tips-diagnosing-imha> [Hämtad 2018-09-05].
- Gensler, L.S. (2013). Glucocorticoids - complications to anticipate and prevent. *Neurospecialist*, 3(2):92-7.
- Grundy, S.A., Barton, C. (2001). Influence of drug treatment survival of dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 88 cases (1989-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(4):543-6.
- Kirk, R.W. (2000). *Kirk's Current Veterinary Therapy XIII*. Philadelphia: Saunders.
- Goodwin J.C., Hogan D.F., Green H.W. (2007). The pharmacodynamics of clopidogrel in the dog. *Journal of Veterinary Medicine*, 21:609 (sammanfattning).
- Griebisch, C., Arndt, G., Raila, J., Schweigert, F.J., Kohn, B. (2009). C-reactive protein concentration in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Veterinary Clinical Pathology*, 38(4):421-5.
- Grimes, C.N., Fry, M.M. (2015). Nonregenerative anemia: mechanisms of decreased or ineffective erythropoiesis. *Veterinary Pathology*, 52(2):298-311.
- Halloran, P.F. (1996). Molecular mechanisms of new immunosuppressants. *Clinical Transplant*, 10(1):118-23.
- Harvey, J.W., Rackear, D. (1985). Experimental onion-induced hemolytic anemia in dogs. *Veterinary Pathology*, 22(4):387-92.
- Helmond, S.E., Polzin, D.J., Armstrong, P.J., Finke, M., Smith, S.A. (2010). Treatment of immune-mediated hemolytic anemia with individually adjusted heparin dosing in dogs. *Journal of Veterinary Medicine*, 24(3):597-605.
- Heyman, B. (2000). Regulation of antibody responses via antibodies, complement and Fc receptors. *Annual Review of Immunology*, 18:709-37.
- Hoffman, R., Benz, E. Jr., Shattil, S., Furie, B., Silberstein, L.E., McGlave, P., Heslop, H.E. (2005). *Hematology – Basic Principles and Practice*, 5. uppl. Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier.
- Hogan D.F., Andrews D.A., Green H.W. (2004). Antiplatelet effects and pharmacodynamics of clopidogrel in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 225(9):1406–11.
- Husbands, B., Polzin, D., Armstrong, P.J. (2004). Prednisone and cyclosporine vs prednisone alone alone for treatment of canine immune-mediated hemolytic anemia (IMHA). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18(3):389.
- Johnson-Wimbley, T.D. & Graham, D.Y. (2011). Diagnosis and management of iron deficiency anemia in the 21st century. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 4(3):177–84.
- Kidd, L. & Mackman, N. (2013). Prothrombotic mechanisms and anticoagulant therapy in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of Veterinary Emergency Critical Care*, 23(1):3-13.

- Klag, A., Gieger, U., Shofer, F. (1993). Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 42 cases (1986-1990). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 202(5):783-8.
- Kuhn, V., Diederich, L., Stevenson Keller, T.C., Kramer, C.M., Lückstädt, W., Panknin, C., Suvorava, T., Isakson, B.E., Kelm, M., Cortese-Krott, M.M. (2017). Red blood cell function and dysfunction: redox regulation, nitric oxide metabolism, anemia. *Antioxidants and Redox Signaling*, 26(13):718–42.
- Lucidi, C.A., Rezende, C.L.E., Jutkowitz, L.A., Scott M.A. (2017). Histologic and cytologic bone marrow findings in dogs with suspected precursor-targeted immune-mediated anemia and associated phagocytosis of erythroid precursors. *Veterinary Clinical Pathology*, 46(3):401-15.
- Mackin, A. (2014). *Immune-Mediated Hemolytic Anemia: Pathophysiology and Diagnosis*. Delaware Valley Academy of Veterinary Medicine, <http://www.delawarevalleyacademyvm.org/pdfs/oct14/Autoimmune.pdf> [Hämtad 2018-07-01].
- Mason, N., Duval, D., Shofer, F.S., Giger, U. (2003). Cyclophosphamide exerts no beneficial effect over prednisone alone in the initial treatment of acute immune-mediated hemolytic anemia in dogs: a randomized controlled clinical trial. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17(2):206-12.
- Mellet, A.M., Fenimore, A.C., Nakamura, R.K., Bianco, D. (2010). Prospective evaluation of clopidogrel, ultra-low-dose aspirin, or both in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(3):755.
- Mellet, A.M., Nakamura, R.K., Bianco, D. (2011). A prospective study of clopidogrel therapy in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(1):71-5.
- Mitre-Aguilar, I.B., Cabrera Quintero, A.J., Zentella-Dehesa, A. (2015). Genomic and non-genomic effects of glucocorticoids: implications for breast cancer. *Internal Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(1):1-10.
- Moriello, K.A., Bowen, D., Meyer, D.J. (1987). Acute pancreatitis in two dogs given azathioprine and prednisone. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 191(6):695-6.
- Morley, P., Mathes, M., Guth, A., Dow, S. (2008). Anti-erythrocyte antibodies and disease associations in anemic and nonanemic dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(4):886-92.
- Nelson, R.W., Couto, C.G. (2014). *Small Animal Internal Medicine*, 4. uppl. St Louis: Mosby Elsevier Inc.
- Piek, C.J., Junius, G., Dekker, A., Schrauwen, E., Slappendel, R.J., Teske, E. (2008). Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: treatment. outcome and prognostic factors in 149 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(2):366-73.
- Piek C.J., Van Spil, W.E., Junius G., Dekker, A. (2011). Lack of evidence of a beneficial effect of azathioprine in dogs treated with prednisolone for idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: a retrospective cohort study. *BMC Veterinary Research*, 7(15):1-9.
- Reimer, M.E., Troy G.C., Warnick, L.D. (1999). Immune-mediated hemolytic anemia: 70 cases (1988-1996). *Journal of the American Animal Hospital Association*, 35(5):384-90.
- Rinkardt, N.E. & Kruth, S.A. (1996). Azathioprine-induced bone marrow toxicity in four dogs. *The Canadian Veterinary Journal*, 37(10):612-3.

- Robson, D. (2003). Review of the pharmacokinetics, interactions and adverse reaction of cyclosporine in people, dogs and cats. *Veterinary Record*, 152(24):739-48.
- Rothuizen, J., Van Den Brom, W.E. (1987). Bilirubin metabolism in canine hepatobiliary and haemolytic disease. *The Veterinary Quarterly*, 9(3),235-40.
- Ruiz, P., Gomez, F., King, M., Lopez, R., Darby, C., Schreiber, A.D. (1991). In vivo glucocorticoid modulation of guinea pig splenic macrophage Fc gamma receptors. *The Journal of Clinical Investigation*, 88(1):149-57.
- Salom, R.N., Maquire, J.A., Hancock W.W. (1993). Mechanism of a clinically relevant protocol to induce tolerance of cardiac allografts. Perioperative donor spleen cells plus cyclosporine suppress IL-2 and interferon gamma production. *Transplantation*, 56(6):1309-14.
- Scordino, T. (2016). *Spherocytes - Hereditary Spherocytosis*. American Society of Hematology, <https://imagebank.hematology.org/image/60308/spherocytes--hereditary-spherocytosis?type=atlas> [Hämtad 2017-03-12].
- Scott-Moncrieff, J.C., Treadwell, N. ., McCullough, S.M., Brooks, M.B. (2001). Hemostatic Abnormalities in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of American Animal Hospital Association*, 37(3):220-7.
- Shearer L., Kruth S.A., Wood D. (2009). Effects of aspirin and clopidogrel on platelet function in healthy dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(3):745 (sammanfattning).
- Stewart, A. & Feldman, B. (1993). Immune-mediated hemolytic anemia, Part I: An overview. *Compendium of Continuing Education for Practicing Veterinarians*, 15(3):372-81.
- Stokol, T., Blue, J.T., French T.W. (2000). Idiopathic pure red cell aplasia and nonregenerative immune-mediated anemia in dogs: 43 cases (1988-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 216(9):1429-36.
- Sturgess, K. (2013). *Immune Mediated Haemolytic Anaemia (IMHA) in Dogs*. Veterinary Expert, <http://www.theveterinaryexpert.com/anaemia/immune-mediated-haemolytic-anaemia-imha-in-dogs/> [Hämtad 2018-06-12].
- Swann, J.W. & Skelly, B.J. (2013). Systematic review of evidence relating to the treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(1):1-9.
- Swann, J. W. & Skelly, B. J. (2016). Canine autoimmune hemolytic anemia: management challenges. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 7:101-12.
- Tang, X., Xia, Z., Yu, J. (2008). An experimental study of hemolysis induced by onion (*Allium cepa*) poisoning in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 31(2):143-9.
- Thomason, J., Archer, T., Wills, R., Press, S., Mackin, A. (2016). The effects of cyclosporine and aspirin on platelet function in normal dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(4):1022-30.
- Ward, E. (2017). Anemia in dogs. *Medical Conditions*, VCA Animal Hospital, <https://vcahospitals.com/know-your-pet/anemia-in-dogs> [Hämtad 2018-06-12].
- Weinkle, T.K., Center, S.A., Randolph, J.F., Warner, K.L., Barr, S.C., Erb, H.N. (2005). Evaluation of prognostic factors, survival rates, and treatment protocols for immune-mediated hemolytic anemia

- in dogs: 151 cases (1993–2002). *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 226(11):1869-80.
- Weiss, D.J. (2002). Primary pure red cell aplasia in dogs: 13 Cases (1996-2000). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221(1):93-5.
- Weiss, D., Brazzell J. (2006). Detection of activated platelets in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(3):682-6.
- Weiss, D.J. (2008). Bone marrow pathology in dogs and cats with non-regenerative immune-mediated haemolytic anemia and pure red cell aplasia. *Journal of Comparative Pathology*, 138(1):46-53.
- Whitley, N.T. & Day, M.J. (2011). Immunomodulatory drugs and their application to the management of canine immune-mediated disease. *Journal of Small Animal Practice*, 52(2):70-85.
- Wilkerson, M.J., Davis, E., Shuman, W., Harkin, K., Cox, J., Rush, B. (2000). Isotype-specific antibodies in horses and dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14(2):190-6.
- Zachary, J.F. & McGavin, D.M. (2012). *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. St. Louis: Elsevier Mosby.