



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Polyuri och polydipsi vid pyometra hos tik - Etiologi och patogenes

Emma Hedlund

*Uppsala
2016*

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2016:28

Polyuri och polydipsi vid pyometra hos tik

- Etiologi och patogenes

The polydipsia and polyuria at pyometra among bitches

- Etiology and pathogenesis

Emma Hedlund

Handledare: Karin Vargmar, Institution för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator: Eva Tydén, Institution för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: grundnivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2016

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serie: 2016:28

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

Nyckelord: Pyometra, livmoderinfektion, hund, tik, njure, etiologi, patogenes

Key words: Pyometra, dog, bitch, kidney, etiology, pathogenesis

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

INNEHÅLL

SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	2
INLEDNING	3
MATERIAL OCH METODER	3
LITTERATURÖVERSIKT	4
PYOMETRA.....	4
<i>Patogenes</i>	4
<i>Symtom och patologiska fynd</i>	5
<i>Cystisk endometriehyperplasi (CEH)</i>	5
NJURARNAS FYSIOLOGI.....	6
<i>Glomerulus</i>	6
<i>Tubulus</i>	6
PROTEINURI	7
PYOMETRAPATOGENESENS PÅVERKAN PÅ NJURARNA.....	10
NJURSKADOR.....	10
<i>Tubulär dysfunktion</i>	10
<i>Glomerulär dysfunktion</i>	11
URINVÄGSINFEKTION	13
POLYURI/POLYDIPSI	13
DISKUSSION	14
LITTERATURFÖRTECKNING	17

SAMMANFATTNING

Pyometra är en inflammation i livmodern som drabbar medelålders till äldre tikar under diöstrus (en av de 4 faserna i hundens brunstcykel). Det är en av de vanligaste sjukdomarna hos äldre tikar och uppstår efter långvarig progesteronstimulans av endometriet (livmoderslemhinnan). Hög halt progesteron inhiberar leukocyter vilket ger understöd för bakteriell tillväxt. Cystisk endometriehyperplasi (CEH) är en patologisk process i livmodern som kan predisponera för pyometra och upptäcks ofta i samband med denna. Vanligaste orsaken bakom infektionen är *Escherichia coli* (*E. coli*). Symtombilden kännetecknas framför allt av flytningar (vid en öppen cervix), polydipsi och polyuri. Då tiken ofta urinerar mycket i samband med infektionen i livmodern måste det antingen ske en direkt eller indirekt påverkan på njurarna eftersom urinen produceras där, men vilken mekanism i patogenesen bakom pyometra ligger bakom polyurin och polydipsin?

Njuren består av en mängd olika urinproducerande enheter, s.k. nefron. Ett nefron består av glomerulus och tubulus, vilka på olika sätt kan påverkas i samband med infektionen i livmodern. Med hjälp av biomarkörer i urinen och UPC (förhållandet mellan urinprotein och kreatinin i urinen) kan skador på njuren upptäckas samt vilken del av njuren som är drabbad kan lokaliseras. $UPC > 0.5$ är inte normalt och tyder på proteiner i urinen, s.k. proteinuri, som är ett patologiskt fynd i samband med pyometra. Är det en hög koncentration av biomarkörer med hög molekylvikt indikerar det på en skada på glomerulus eftersom stora proteiner normalt inte ska kunna ta sig genom det glomerulära filtret. Är koncentrationen av biomarkörer hög av proteiner med låg molekylvikt tyder det istället på skador på tubuli.

Skadorna på njurarna är reversibla och försvinner efter behandling av pyometra, s.k. ovariohysterektomi. Forskare är inte helt eniga om vilken/vilka typer av njurskador som uppstår i samband med livmoderinfektionen och vad skadorna beror på. Endotoxiner som frisätts från gramnegativa bakterier, t.ex. *E. coli*, kan vara en orsak till påverkan på njurarna. Endotoxinerna sätter sig på ADH-receptorerna i njurtubuli och hindrar vattenkanaler från att öppnas. Det resulterar i en väldigt utspädd urin och större mängder vatten förloras, s.k. polyuri. För att kompensera dricker djuret mycket, polydipsi. Det finns starkare association mellan vissa typer av inflammationer i njuren, tubulointerstitiella nefrit, och pyometra, än andra exempelvis glomerulonefrit. Många studier påvisar ett samband mellan njurpåverkan och pyometra baserat på undersökningar av tikar med pyometra jämfört med jämnåriga kontrollhundar.

SUMMARY

Pyometra is an inflammation of the uterus that affects middle-aged to older bitches during diestrus (one of the four phases in the reproductive cycle of the dog). It is one of the most common diseases in older bitches and occurs after prolonged progesterone stimulation of the endometrium. High levels of progesterone inhibits leukocytes, which provides support for bacterial growth. Cystic endometrial hyperplasia (CEH) is a pathological process in the uterus that can predispose to pyometra. CEH is therefore often discovered in connection with the disease. *Escherichia coli* (*E. coli*) is the most common cause of the disease. The symptoms are characterized primarily by discharges (if the cervix is open), polydipsia and polyuria. Because the bitch is urinating more frequently during the infection in the uterus, it must be either a direct or an indirect influence on the kidneys (urine produced there). What is the underlying mechanism leading to polyuria/polydipsia and how does it relate to the pathogenesis of pyometra?

The kidney is made up of a variety of urinary producing units, called nephrons. A nephron is composed of the glomerulus and tubules, which can be affected in many different ways during an infection of the uterus. With the help of biomarkers in urine and UPC (Urine Protein to Creatinine Ratio) kidney damage can be discovered and localized. UPC > 0.5 is not normal and suggests proteins in the urine, so called proteinuria, which is a pathological finding associated with pyometra. High concentration of biomarkers with high molecular weight present in the urine indicates glomerular damage. Normally, large proteins are not able to pass through the glomerular filter. If the concentration of biomarkers with a low molecular weight is high, tubular damage is suggested.

The kidney damage is reversible and disappear after treatment of pyometra, called ovariohysterectomy. Researchers are not unanimous on what types of kidney damage that occurs in connection with the uterine infection and what the damage depends on. Endotoxins released by gram negative bacteria, for example *E. coli*, can be one cause of the effect on the kidney. Endotoxins binds to the ADH receptors in the renal tubules and prevents water channels from opening. It results in a very dilute urine and lots of water is lost, called polyuria. To compensate the animal drink a lot, polydipsia. There is a stronger association between specific renal lesions and pyometra such as tubulointerstitial nephritis than other inflammatory patterns eg. glomerulonephritis. Many studies suggest effects on the kidneys in connection with pyometra. The results is based on studies with bitches which has pyometra compared to control dogs in the same ages.

INLEDNING

Pyometra är en akut eller kronisk inflammation i livmodern. Det är en av de vanligaste sjukdomarna hos medelålders till äldre tikar. (Maddens *et al.*, 2010; Macintire, 1994; Maddens *et al.*, 2011; Hagman & Kühn, 2002). Sjukdomsförloppet involverar ansamlingar av purulent exsudat (var) i livmoderlumen (Maddens *et al.*, 2010) och symtombilden kännetecknas bl.a. av flytningar, polyuri och polydipsi (Heiene *et al.*, 2007).

Något som uppmärksammas är att hundar med pyometra uppvisar olika typer av njurskador som skulle kunna vara en bakomliggande orsak till polyurin och polydipsin. Det har konstaterats att immunresponsen på infektionen i livmodern påverkar tiken systemiskt och att den glomerulära eller tubulära funktionen i njurarna påverkas negativt (Fransson *et al.*, 2004; Maddens *et al.*, 2011).

Jag vill i min litteraturstudie försöka komma fram till mekanismerna bakom sambandet mellan infektionen i livmodern och polyurin/polydipsin.

MATERIAL OCH METODER

Litteratursökning har gjorts i databaserna PubMed och Web of Science under februari 2016. De sökord som användes var: pyometra, kidney, canine, dog, bitch, pathogenesis, polyuria, polydipsia, symptoms, urinary infection, proteinuria, oestrus cycle, interleukin. Jag använde olika kombinationer av dessa sökord för att variera sökresultatet. Även relaterade artiklar till de artiklar som hittades i sökningen användes.

Böcker har använts för mer allmän fakta gällande exempelvis njurens fysiologi. Information har även tagits från Cornell University's hemsida gällande begreppet "UPC-värde".

LITTERATURÖVERSIKT

Pyometra

Pyometra är en akut eller kronisk inflammation i livmodern som drabbar medelålders till äldre tikar under diöstrus (Maddens *et al.*, 2010; Macintire, 1994; Maddens *et al.*, 2011). Diöstrus är en del av hundens brunstcykel, vilken består av 4 olika faser: proöstrus, östrus, diöstrus och anöstrus. Diöstrus är fasen då tiken förbereds för dräktighet genom att endometriet (livmoderslemhinnan) tillväxer, p.g.a. hög progesteronhalt. Progesteronhalten är kopplad till bildning av gulkropp som bildas från den mogna follikeln som ovulerat under östrus. Under diöstrus tillbakabildas gulkroppen och progesteronkoncentrationen sjunker vilket gör att endometriet börjar brytas ner. Cykeln avslutas med anöstrus. Här startar en normalisering av slemhinnan. Brunstcykeln börjar sedan om med proöstrus som är den första fasen. Här ses en ökad utsöndring av östrogen vilket genererar att endometriet i livmodern tillväxer. Fasen avslutas med en höjning av luteiniserande hormon (LH) som utsöndras från hypofysen och regleras av Gonadotropinrealising hormon (GnRH) från hypotalamus. Förloppet regleras genom negativ feedback (Concannon, 2011; Moyes & Schulte, 2008, s 682-691). Enligt en review- artikel skriven av Root Kustritz (2012) är den här fasen det första fysiska beviset på fertilitet.

Patogenes

Patogenesen bakom pyometra involverar östrogenstimulans av livmodern, följt av långvarig progesterondominans. Progesteron stimulerar endometriell hyperplasi och ökar utsöndringen från körtlar i livmodern (Smith, 2006; Macintire, 1994). Sjukdomsförloppet innefattar ansamlingar av purulent exsudat i livmoderlumen (Maddens *et al.*, 2010). Leukocytresponser i livmodern inhiberas av progesteronet vilket predisponerar för bakteriell tillväxt (Smith, 2006; Macintire, 1994).

Etiologin är ett komplex av både hormonella och bakteriella komponenter. *Escherichia coli* (*E. coli*) är den vanligaste orsaken bakom infektionen i livmodern (Hagman & Kühn, 2002). Maddens *et al.* (2011) undersökte bakteriekulturen i livmodern hos 47 hundar med pyometra. Resultatet visade, precis som många andra studier, att *E. coli* var mest frekvent förekommande. Andra observerade bakteriekulturer var *Staphylococcus* spp och *Streptococcus* spp. Det har även påvisats att epitelet i endometriet och myometriet (ett lager i livmoderväggen) har affinitet för *E. coli* när den sensitiserats av höga nivåer av progesteron (Hagman & Kühn, 2002).

Om det sker ruptur av den infekterade livmodern kan bakteriell peritonit och/eller sepsis uppstå, oftast med dålig prognos (Fransson *et al.*, 2004).

Symtom och patologiska fynd

Vanliga symtom på pyometra är polyuri/polydipsi, aptitlöshet, slöhet, utvidgad buk och vaginala flytningar om cervix är öppen (Smith, 2006). Djur med stängd cervix uppvisar inga vaginala flytningar men har en spänd buk. Dessa tikar kan hamna i plötslig chock, toxinemi och död (Macintire, 1994). Patologiska fynd i form av proteinuri, enzymuri, azotemi, tubulära lesioner och cystisk endometriehyperplasi med endometrit kan upptäckas i samband med vidare undersökning hos hundar med pyometra (Heiene *et al.*, 2007). Onormala laboratoriefynd indikerar vanligen leukocytos, vilket innebär ökad koncentration vita blodkroppar i cirkulationen och då främst neutrofiler och monocyter i detta fall (Macintire, 1994; Faldyna *et al.*, 2001).

I en artikel har Fransson *et al.* (2004) baserat den histopatologiska diagnosen av pyometra på Borresen (1975):s kriterier för purulent endometrit, akut purulent metrit eller kronisk purulent metrit. Vid purulent endometrit ses en infiltration av inflammatoriska celler som domineras av neutrofiler i endometriet. Vid akut purulent metrit ses inflammatoriska förändringar även i djupare lager av livmoderväggen men utan kroniska förändringar som fibros. Kronisk purulent metrit karaktäriseras makroskopiskt av utspänd livmoder samt med en oregelbunden yta av endometriet. Mikroskopiskt ses ett varierat antal neutrofiler, plasmaceller och lymfocyter i mucosan. De olika celltyperna ses i mindre utsträckning i myometriet. Det endometriella epitelet är hyperplastiskt, cystiskt och har kolumnära celler, vilket indikerar påverkan av progesteron. Cystorna innehåller ofta stora mängder neutrofiler. I vissa fall kan en varierande grad av fibros och/eller erosioner i mukosan ses.

Cystisk endometriehyperplasi (CEH)

CEH är en patologisk process i livmodern som gör livmodern mer mottaglig för bakteriell infektion och predisponerar för pyometra. CEH är därför ofta ett patologiskt fynd associerat med pyometra (Fransson *et al.*, 2004). Det kan vara svårt att skilja pyometra från CEH kliniskt. Vätska kan ackumuleras i livmodern vid de båda patologiska processerna: mukos i körtlarna vid CEH och purulent material i livmoderlumen vid pyometra (Fransson *et al.*, 2004).

I en studie utförd av Fransson *et al.* (2004) var syftet att fastställa kriterier för kliniska skillnader mellan pyometra och CEH. Totalt deltog 64 hundar i studien, vilka hade en misstänkt diagnos av pyometra. Av dessa diagnostiserades 54 av tikarna histopatologiskt med pyometra medan 10 av hundarna istället diagnosticerades med CEH.

Med hjälp av kliniska tecken, ultraljud och bakterieförekomst i livmodern kan man skilja pyometra från CEH (Maddens *et al.*, 2010). CEH är inte associerat med bakteriell infektion i livmodern och man har inte sett några systemiska effekter i samband med denna patologiska process (Fransson *et al.*, 2004). Diagnostiken för CEH baseras på närvaro av endometriehyperplasi i kombination med endometriella cystor av olika storlek samt frånvaro av inflammatoriska celler (Fransson *et al.*, 2004).

Njurarnas fysiologi

För att förstå bakomliggande mekanismer mellan infektionen i livmodern och påverkan på njurarna kan en beskrivning av njurens fysiologi vara behövlig.

Njurarna består av en stor mängd urinproducerande enheter s.k. nefron (ca 400 000 i varje njure hos hund). Varje nefron består av glomerulus, ett kapillärnätverk där vätska filtreras, och tubulus där det sker en vidare bearbetning av den filtrerade vätskan (primärurinen) till urin (Sjaastad *et al.*, 2010). Urinen bildas genom osmotiskt tryck och kan inte bli mer koncentrerat än blodet (Dicker, 1969)

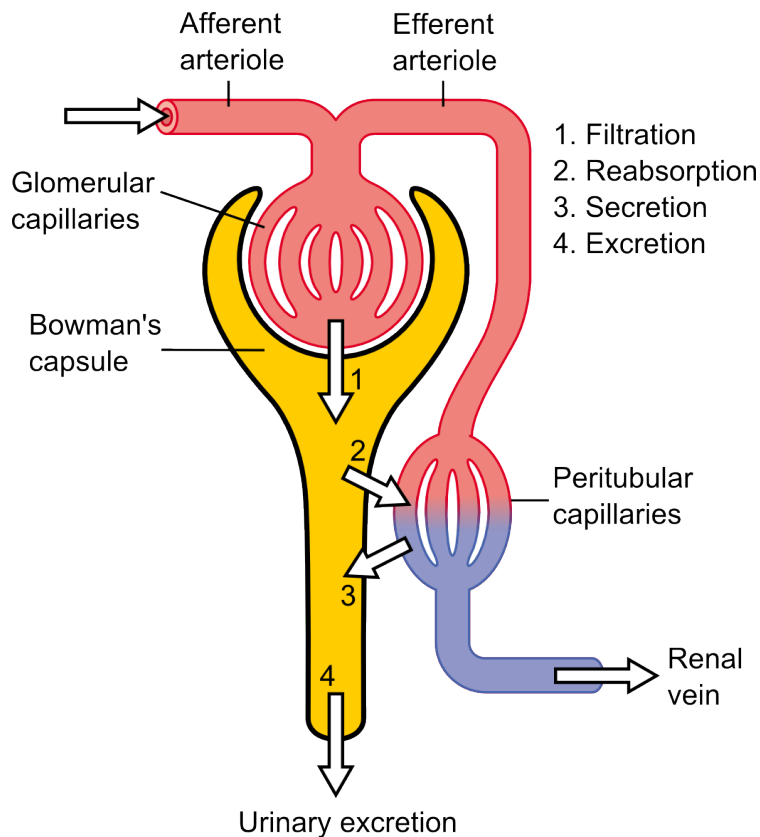
Glomerulus

Blodet går via afferenta arteriolen in i glomerulus som är ett kapillärnystan i njuren där blodplasma, förutom proteiner, filtreras. Det glomerulära filtrets permeabilitet för proteiner är väldigt låg vilket medför låg koncentration proteiner i filtratet. Andra substanser har däremot samma koncentration i blodplasman som i filtratet. Glomerulus är omgivet av Bowmans kapsel och begränsad till njurens cortex. Det glomerulära filtratet samlas i utrymmet mellan de 2 lagren av Bowmans kapsel, Bowmans space, och kanaliseras till första segmentet av det tubulära systemet i nefronet, proximala tubuli. Vätskan som inte filtrerats genom det glomerulära filtret går från glomerulus via efferenta arterioler, vilka grenas ut i en andra uppsättning av kapillärer, peritubulära kapillärer, som omger tubulus (Sjaastad *et al.*, 2010).

Tubulus

Tubulus är ett vätskefyllt rörsystem i njuren, indelat i 4 delar, baserat på funktion och struktur; proximala tubuli, Henles slinga, distala tubuli och samlingsrören (Sjaastad *et al.*, 2010). Henles slinga och samlingsrören kan lokaliseras till medulla. Resterande 2 delar återfinns i cortex (Dicker, 1969). Reabsorptionen sker i tubulus och skiljer mellan avfall och värdefulla substanser som glukos, natrium (Na^+), kalcium (Ca^{2+}) och aminosyror. När den filtrerade vätskan flödar genom tubulus transporteras de flesta av de lösta substanserna och vattnet till de omgivande peritubulära kapillärerna och kan på så vis återanvändas i överensstämmelse med kroppens behov.

Substanser i de peritubulära kapillärerna kan transporteras tillbaka till den tubulära lumen igen genom sekretion för att sedan elimineras med urinen tillsammans med det glomerulära filtratet som inte reabsorberats. Tubulus töms i ett samlingsrör som delas av flera nefron. Från slutet av samlingsröret töms urinen i njurbäckenet (Sjaastad *et al.*, 2010).



Figur 1: Nefronets fysiologi. Källa: Wikipedia.

Proteinuri

Proteinuri kan vara ett tecken på att det föreligger skador i glomeruli och är en av de patologiska förändringar som ses i samband med pyometra (Heiene *et al.*, 2007). Höga nivåer av protein i urinen ses ofta vid glomeruliskador, vilka leder till ett läckage av plasmaprotein till det glomerulära filtratet (Zaragoza *et al.*, 2004).

UPC används för att ge en uppskattning av hur mycket protein som kommer med ut i urinen. Det är ett förhållande mellan koncentrationen proteiner i urinen och kreatinin. Cornell University (2014) anger att deras referensvärde för UPC för friska hundar ligger under 0.5. Enligt Maddens *et al.* (2011) har hundar med proteinuri ett UPC- värde >0.5.

Maddens *et al.* (2011) har utfört en studie av sambandet mellan proteinuri och pyometra. I studien användes 47 hundar med pyometra och 10 friska hundar i likvärdig ålder. UPC analyserades med hjälp av urinbiomarkörer. Resultaten jämfördes med en skala som gick från negativ [$<30\text{mg protein/dl urin}$] till 1+ [30mg/dl], 2+ [100mg/dl] och 3+ [500mg/dl]. Från de hundar diagnosticerade med pyometra som hade 2+ eller 3+ på skalan (totalt 10 stycken) togs även njurbiopsier. Njurbiopsierna beskrevs med hjälp av ljus-, immunofluorescens- och elektronmikroskopundersökning.

Resultatet visade att hundarna med pyometra hade markant högre UPC jämfört med den friska kontrollgruppen. Ju högre UPC, desto gravare njurhistologiska förändringar kunde förväntas. Urinbiomarkörerna hos tikar med pyometra i kombination med proteinuri var märkbart högre jämfört med pyometratikarna som inte hade proteinuri (Maddens *et al.*, 2011).

I en annan studie gjord av Zaragoza *et al.* (2004) deltog 15 tikar med pyometra och 10 friska tikar. Forskarna använde sig av sodium dodecyl sulphate–polyacrylamide gel electrophoresis (SDS–PAGE) för att separera olika proteiner i urinen baserat på proteinernas molekylvikt. För att karaktärisera immunoglobulinutsöndring i urinen användes även Western blot- analys för att detektera antikropparna IgG och IgA i urinen. Lesioner i olika delar av njuren resulterar i olika mönster av proteiner i enlighet med molekylvikt (MW). Proteiner i urinen med samma eller högre vikt än albumin anses ha en medel- hög molekylvikt och vara kopplat till lesioner i glomerulus då större molekyler normalt inte ska kunna pressas genom det glomerulära filtret. Proteiner med lägre vikt än albumin klassificeras med låg molekylvikt.

Resultatet visade att fler proteinvikter detekterats hos tikarna med pyometra jämfört med de friska tikarna och att 58% av proteinerna hos tikarna med pyometra hade glomerulärt ursprung. Ingen av de friska tikarna hade IgG eller IgA i urinen medan 3 tikar med pyometra hade IgG i urinen och en annan tik hade både IgG och IgA i urinen. Forskarna i studien ansåg att den låga proportionen av immunoglobiner i urinen berodde på tidigt diagnosticerad sjukdom (Zaragoza *et al.* 2004).

Biomarkörer i urinen kan användas för att upptäcka skador på njuren. De olika proteinerna, biomarkörerna, är sammankopplade med olika funktioner i nefronet (Maddens *et al.*, 2010). I en studie utförd av Maddens *et al.* (2010) undersöktes aspekter som har betydelse för om njursjukdom uppkommer sekundärt till pyometra. I studien användes 25 hundar med pyometra orsakat av *E. Coli* samt en kontrollgrupp med 14 friska tikar i likvärdig ålder. I studien användes 6 olika biomarkörer i urinen; immunoglobulin G (IgG), C-reaktivt protein (CRP), albumin (Alb), retinolbindande protein (RBP), N- acetyl- β - D- glucosaminidase (NAG) och tromboxan B2 (TXB2). Alla dessa biomarkörer är proteiner, förutom TXB2 som är en eicosanoid (ett samlingsnamn för arachidonsyrametaboliter).

Jämför man resultatet med rutinmässiga njurmarkörer så är dessa tidiga indikatorer på att njuren inte fungerar optimalt. Skadan kan lokaliseras till vilken del i njuren som är drabbad beroende på vilka biomarkörer som detekteras i urinen. Vad de olika biomarkörerna indikerar går att läsa i tabell 1.

Tabell 1: Vad de olika biomarkörerna indikerar vid dess närvaro i urinen

Biomarkör	Förkortning	Förhöjda halter i urinen indikerar
Immunoglobulin G	IgG	Påverkan på glomeruli
C-reaktivt protein (akutfasprotein)	CRP	Påverkan på glomeruli
Albumin (Negativt akutfasprotein)	Alb	Påverkan på glomeruli
Retinolbindande protein (negativt akutfasprotein)	RBP	Påverkan på tubuli
N- acetyl- β - BD-glucosaminidase	NAG	Påverkan på tubuli
Tromboxan B2	TXB ₂	Påverkan på glomeruli

Ett ”u” framför dessa biomarkörer står för urin, alltså koncentrationen av respektive biomarkör i urinen. Koncentrationen av biomarkörerna har satts i förhållande till kreatininkoncentrationen i urinen.

I studien kom forskarna fram till att hundar diagnosticerade med pyometra hade ökade förhållanden av uIgG/Cr, uCRP/Cr, uAlb/Cr, uRBP/Cr, uNAG/Cr och uTXB₂/Cr jämfört med friska tikan. Vid uppföljningen, 6 månader efter ovariohysterektomin, hade värdena minskat och det var ingen utmärkande skillnad mellan de friska hundarna och hundarna som haft pyometra.

I en annan studie utformad av Heiene *et al.* (2001) användes markörer i form av enzymer i urinen; alkaline fosfatase (AP), γ -glutamyl transferase (GGT) och N-acetyl- β -glucosaminidase (NAG) samt glomerulär filtrationshastighet (GFR) och njurbiopsier för att utvärdera njurens status hos hundar med pyometra. 55 hundar, av 28 olika raser, som behandlats för pyometra deltog i studien. Urinenzymerna mättes dagligen i 12 dagar efter operation. Ett uppföljningsbesök gjordes en till fyra månader senare då ytterligare mätningar av urinenzym gjordes. 13 av hundarna hade höga nivåer av åtminstone ett enzym initialt, i samband med operation. Höga enzymvärden i urinen indikerade ofta omfattande lesioner i proximala tubuli i njurarna och ibland även nedsatt GFR. Det fanns en svag trend mot minskad GFR när urinenzymkoncentrationer var höga, även om variationen var stor. Enzymkoncentrationen i urinen minskade gradvis under de kommande 12 dagarna efter operationen. Vid uppföljningsbesöket en till fyra månader senare hade det genomsnittliga urinenzymvärdena för AP, GGT och NAG nått samma nivå som rapporteras i friska hundar.

Om proteinurin kvarstår efter operation av pyometra kan det predisponera för njursvikt (Heiene *et*

al., 2007). En hämmare till angiotensinomvandlande enzym (ACE- hämmare) kan ges till hundar med kvarstående proteinuri efter operation. Detta för att undvika att proteinurin förvärras samt för att minska utvecklandet av skrumpnjure hos hundar med kronisk njursjukdom (Maddens *et al.*, 2011). ACE- hämmaren begränsar hypertension (högt blodtryck) systemiskt och i de glomerulära kapillärerna, minskar mängden protein i urinen samt fördröjer utvecklingen av glomeruloskleros och tubulointerstitiella nefrit i njuren (Lefebvre & Toutain, 2004).

Pyometrapatogenesens påverkan på njurarna

Det är svårt att bestämma graden av njurens försämring i hundar med pyometra, eftersom många av förändringarna i njurarna associerade med pyometra är reversibla (Macintire, 1994). Pyometra behandlas ofta med ovariohyerekтоми, operation då livmoder och äggstockar tas bort. Efter denna behandling försvinner oftast skadorna/förändringarna i njurarna (Whitney, 1969).

E. Coli är den bakterie som oftast ger upphov till pyometra. *E. coli* är en gramnegativ bakterie och precis som andra gramnegativa bakterier frisätts cellväggskomponenter, endotoxiner, till cirkulationen vid kraftig tillväxt av bakterien samt när bakterien dör. Endotoxinemi är en trolig orsak till de kliniska tecken som uppstår vid pyometra. Endotoxinerna är biologiskt aktiva och stimulerar frisättning av många inflammatoriska mediatorer (Franson *et al.*, 2004; Hagman *et al.*, 2006).

Njurskador

Olika njurskador har uppmärksamats i de olika studierna jag granskat, vilka skulle kunna ha en betydande roll bakom polyurin och polydipsin som uppkommer i samband med pyometra.

Njurens histomorfologi förändras med åren. Njurlesioner är vanligt hos äldre hundar och bör beaktas vid studier av pyometra. Viktigt är att kontrollhundarna är åldersmatchade så att skillnaderna som ses inte orsakas av åldersförändringar (Heiene *et al.*, 2007).

Tubulär dysfunktion

Dysfunktion i tubuli karaktäriseras av närvaro av N- acetyl- β - D- glucosaminidas (NAG) och retinolbindande protein (RBP) i urinen. NAG är ett lysosomalt enzym i proximala tubuliceller som hamnar i urinen när cellerna i proximala tubuli lyserat. RBP är ett negativt akutfasprotein hos hundar och minskar i mängd vid inflammation. RBP ska normalt reabsorberas av proximala tubuliceller efter filtration i glomeruli (Maddens *et al.*, 2010).

Tubulointerstitiell nefrit

Tubulointerstitiell nefrit är en grupp av inflammatoriska sjukdomar som involverar interstitiet och tubuli. Det kan orsakas av förekomst av bakterier eller virus i blodet, vilka infekterar tubuliceller och skadar dem vilket leder till en inflammatorisk reaktion i interstitiet. Akut tubulointerstitiell nefrit kännetecknas framförallt av inflammatoriska celler och då särskilt neutrofiler. Vid kronisk tubulointerstitiell nefrit ses atrofi av tubuli tillsammans med en

infiltration av monouklära inflammatoriska celler samt fibros (Newman, 2012, s 608).

En osäkerhet råder gällande huruvida patologiska förändringar som tyder på tubulointerstitiella nefritter och glomerulonefritter är allvarigare hos hundar med pyometra jämfört med friska hundar i samma ålder (Heiene *et al.*, 2007). I en artikel skriver Heiene *et al.* (2007) att Stone *et al.* (1988) rapporterat en hög utbredning av milda tubulointerstitiella nefritter hos hundar med pyometra. I en annan studie utförd av Maddens *et al.* (2011) kom de fram till att många hundar med pyometra och ett UPC- värde över 0.5, även hade tubulointerstitiella nefritter.

Glomerulär dysfunktion

Förhöjda halter av ulgG, uCRP, uAlb och uTXB2 i urinen indikerar påverkan på glomeruli. CRP är det viktigaste akutfasproteinet hos hund och produceras huvudsakligen av levern. Ökade koncentrationer av CRP har redovisats hos tikar med pyometra jämfört med friska tikar. Oberoende av de cirkulerande nivåerna sker stora förluster av CRP via urinen, vilket troligen är ett resultat av glomerulär dysfunktion. Alb är istället ett negativt akutfasprotein hos hund som minskar i mängd vid inflammation (Maddens *et al.*, 2010).

Glomerulonefrit

Det råder diskussion huruvida det finns ett samband mellan pyometra och glomerulonefrit. I en studie av Heiene *et al.* (2007) kunde inga tydliga histologiska stöd för glomerulonefrit ses hos varken hundar med pyometra eller friska kontrolltikar med hjälp av njurbiopsier. I en artikel av Maddens *et al.* (2011) tar man upp resultaten från Stone *et al.* (1988):s studie där författarna inte kunde påvisa en ökad förekomst av glomerulonefrit hos hundar med pyometra jämfört med åldersmatchade kontrollhundar. I studien hade njurvävnaden undersökts med hjälp av ljus-, immunofluorescence och elektronmikroskopi. Enligt Macintire (1994) är membranproliferativa glomerulonefritter associerade med minskning i den glomerulära filtrationshastigheten (GFR) som kan kopplas till immunsvaret mot bakterier.

Immunkomplexmedierad glomerulonefrit

Glomerulonefrit orsakas ofta av immunkomplexmedierade mekanismer (Newman, 2012, s 620). Vid pyometra orsakat av exempelvis *E. coli* kan en kraftig bakterietillväxt leda till kronisk stimulering av immunsystemet. Det kan resultera i att det bildas immunkomplex bestående av antikroppar och bakterier. Immunkomplexet riskerar att fällas ut i glomeruli (Maddens *et al.*, 2010).

Det har antagits att immunkomplexmedierad glomerulonefrit uppkommer sekundärt till pyometra men ändå observeras oftast inga ökade nivåer av immunkomplex hos hundar med pyometra jämfört med friska hundar. I en studie utförd av Maddens *et al.* (2010) bekräftades detta. Faldyna *et al.* (2001) motsäger detta och menar att pyometra är associerat med en högre koncentration av immunoglobulin (Ig) i serum och cirkulerande immunkomplex.

Glomeruloskleros

Glomeruloskleros är en process då glomeruli börjar krympa och hyaliniseras p.g.a. en ökning av fibrös bindväv och mesangialt matrix, till följd av kronisk glomerulär nefrit. Även en förlust av glomerulära kapillärer ses. Mängden celler i glomeruli minskar, vilket resulterar i kraftigt nedsatt funktion hos glomeruli (Newman, 2012, s 626).

Heiene *et al.* (2007) har påvisat kopplingar mellan proteinuri och glomerulär skleros. Kopplingen blir extra påtaglig när UPC>1.0 (Maddens *et al.*, 2011).

Något att ha i åtanke är att tikar är predisponerade för glomeruloskleros och drabbar framför allt hundar i medelåldern. Eftersom glomeruloskleros kan uppträda innan pyometra och sedan kvarstå efter ovariohysterektomin är det inte helt klart om patogenesen bakom pyometra är orsaken till glomerulosclerosen eller om patogenesen bara förvärrar sjukdomsförloppet och proteinurin hos hundar (Maddens *et al.*, 2011).

Toxininducerad ADH- störning

Hos däggdjur sker kontrollen av vattenmetabolismen på samma sätt. Upprätthållandet av denna fysiologiska jämvikt styrs bl. a. genom en finjustering mellan de olika funktionerna i njuren samt sekretion av antidiuretiskt hormon (ADH) från neurohypofysen (hypofysens baklob) (Dicker, 1969). Vid kontroll av vattenbalans är frisättning och verkan av antidiuretiskt hormon (ADH), njurens medullära hypertonicitet och njurens tubulära funktion viktig. Störningar i någon eller några av dessa variabler medför påverkan av urinkoncentrationen och kan orsaka polyuri/polydipsi.

ADH bildas i hypotalamus och lagras i hypofysens bakre lob (neurohypofysen). En hög osmolalitet i plasman påverkar receptorer i hypotalamus till ADH- sekretion. ADH har en grundläggande roll i regleringen av vattenbalansen i kroppen. Hormonets viktigaste uppgift är att minska urinproduktionen för att bevara kroppsvätskor. Den antidiuretiska verkan erhålls genom att främja att vatten (fritt från lösta ämnen) reabsorberas i njurarnas distala tubuli och samlingsrör. ADH binder till specifika receptorer på njurens tubulära celler. ADH- känsliga adenylatcyklas stimuleras vilket resulterar i att cykliskt adenosinmonofosfat (cAMP) bildas i tubulicellen. Det i sin tur leder till att antalet vattenkanaler ökar i det luminära membranet, vilket resulterar i fri vattenabsorption och koncentrerad urin bildas (Nichols, 2001). Om ADH inte frigörs från neurohypofysen kommer njurarna inte kunna minska urinflödet vilket leder till en förlust av vatten (Dicker, 1969). Ökad medullär hypertonicitet är drivkraften för att vatten ska reabsorberas i distala tubuli och samlingsrör. En minskning resulterar i utspädd urin och en ökad vattenförlust trots en ADH- sekretion (Nichols, 2001).

Endotoxinerna som frisätts från *E. coli* stör absorptionen av natrium och klorid i Henles slinga och därmed minskar den medullära hypertoniciteten vilket resulterar i försämrade vattenabsorption (Macintire, 1994). Toxinet är en kompetitiv antagonist till ADH (Whitney, 1969). Endotoxinerna

från *E. coli* blockerar receptorer för antidiuretiskt hormon (ADH) i samlingsrören, vilket resulterar i polyuri, med kompensatorisk polydipsi (Macintire, 1994).

Urinvägsinfektion

Enligt Smith (2006) kan *E. Coli* ofta detekteras i urin och avföring hos hundar diagnosticerade med pyometra, vilket tyder på att det kan finnas ett samband mellan subklinisk urinvägsinfektion och pyometra.

I en studie utförd av Hagman & Kühn (2002) undersöktes 84 olika bakteriestammar från exsudat i livmodern hos 70 olika tikar. Bakteriestammarnas DNA- profiler karakteriserades med hjälp av klyvning av restriktionsenzym (enzymer som klyver DNA) analys och efterföljande pulsed- field gel electrophoresis (PFGE). DNA- profilen för *E. coli*- stammar hos olika tikar skiljde sig åt, vilket indikerar att *E. Coli* i livmodern ursprungligen kommer från individens normalflora och inte från stammar som sprids mellan djur. Sex av hundarna i samma studie hade en samtidig urinvägsinfektion tillsammans med pyometra. Stammarna av *E. Coli* från livmoder respektive urinvägar jämfördes. Resultatet visade att *E. coli*- stammarna hade en 100% identisk DNA- profil i livmoder och urinvägar hos respektive tik.

Proteinurin hos hundar med pyometra och en samtidig urinvägsinfektion kan vara svår att bedöma då ett ökat UPC- värde kan vara ett resultat av urinvägsinfektionen (Maddens *et al.*,2011).

Polyuri/polydipsi

Det första steget vid misstänkt polyuri/polydipsi är att fastställa att problemet faktiskt existerar baserat på anamnes, urinens densitet samt om nödvändigt, mätning av vattenförbrukningen under flera dagar. Normal vattenförbrukning för hundar är i genomsnitt 60 ml/kg kroppsvikt och dag. Om dagliga vattenintaget är större än 100 ml/kg har tiken polyuri/polydipsi och bör undersökas för att fastställa den bakomliggande orsaken till symtomen.

Initialt används diagnostiska tester för att utvärdera polyurin och polydipsin. Dessa tester omfattar en komplett blodkropp- och serumbiokemisk profil med elektrolyter och fullständig urinanalys med kultur och känslighet. Urinanalys är en viktig del för att bestämma problematik med vattenbalansen. Viktiga parametrar i urinanalysen är närvaron eller frånvaron av glukos samt protein eller bakterier i provet (Nichols, 2001).

I en studie utförd av Heiene *et al.* (2007) deltog 47 hundar med pyometra, varav 21 hundar visade tecken på symtomen polyuri och polydipsi (Maddens *et al.*, 2011). I en annan studie utförd av Fransson *et al.* (2004) hade 34 av 54 hundar diagnosticerade med pyometra, polyuri och polydipsi (Feldman & Nelson, 1989).

DISKUSSION

Två typiska symtom för pyometra är polyuri och polydipsi, vilket innebär att tiken urinerar och dricker mycket. Eftersom urinen produceras i njurarna måste det ske en direkt påverkan på njurarna eller en indirekt påverkan via externa signaler (t.ex. ADH eller aldosteron) i samband med inflammationen i livmodern för att dessa symtom ska uppkomma. Syftet med det här arbetet var att ta reda på vad kopplingen mellan inflammationen i livmodern och den polyuri/polydipsi som ses beror på.

Ett patologiskt fynd som ofta ses i samband med pyometra är protein i urinen, s.k. proteinuri. Protein ska normalt inte återfinnas i urinen och tyder också på någon form av påverkan på njurarnas funktion.

I uppsatsen återges resultaten från några olika studier som undersökt sambanden mellan proteinuri och dess relevans för glomerulär respektive tubulär dysfunktion hos hundar med pyometra. Dessa studier hade gemensamt att närvaro av proteiner med hög molekylvikt (MW) i urinen indikerade en påverkan på glomeruli, medan proteiner med låg MW tydde på skador i tubuli.

Glomerulus genomsläpplighet för proteiner är normalt väldigt låg. Stora proteiner ska därmed inte kunna ta sig vidare till proximala tubuli om inte en skada på glomerulus inträffat. Små proteiner kan ibland ta sig genom glomerulus och vidare till tubulus. I tubulus ska normalt värdefulla substanser reabsorberas, men vid skada på tubulicellerna sker inte detta och substanserna, proteinerna, följer istället med ut i urinen.

I en studie av Helen *et al.* (2007) kom de bl. a. fram till att proteinuri kan predisponera för njursvikt. Min hypotes är att den ökade mängden partiklar i urinen minskar det osmotiska trycket från tubuli till blodkärlen. Detta för att det sker ett läckage av plasmaproteiner genom det glomerulära filtret vilket genererar att partiklar som normalt ska återfinnas i blodet istället återfinns i tubulisystemet. Pga. det minskade osmotiska trycket kommer minskad mängd vatten reabsorberas till blodkärlen vilket resulterar i ökad mängd vätska i tubulisystemet och därmed ökat tryck i nefronet, vilket skulle kunna leda till skador på nefronet med försämrad njurfunktion som följd.

I denna uppsats presenteras ett antal olika njurlesioner och deras roll vid pyometra. Sambandet mellan vissa patologiska njurförändringar och pyometra är mer tydliga (t.ex. toxininducerad ADH- störning) än andra (t.ex. glomerulonefrit). Det förekommer även delade meningar gällande huruvida vissa lesioner överhuvudtaget uppkommer i samband med pyometra eller inte, exempelvis glomerulonefrit.

I en studie av Heiene *et al.* (2007) var glomeruloskleros representerade hos både tikar med pyometra och friska tikar med ett likvärdigt antal hundar inom båda grupperna. Det skulle kunna

tyda på att glomerulosklerosen är en slumpmässig upptäckt hos gamla hundar med pyometra och inte alla ha med sjukdomen att göra.

När det gäller livmoderinflammationens påverkan på njurarna så tar många studier upp bevis för att påverkan på njurarna finns men går inte djupare in på vad som är den bakomliggande mekanismen. Jag har trots detta sett 2 olika kopplingar som verkar troliga.

En mekanism som föreslås är att endotoxinet, lipopolysackarider (LPS), som frigörs från det yttre cellmembranet på de gramnegativa *E. coli*-bakterierna vid infektion, kompetativt hämmar ADH-receptorer i tubulicellerna. Detta leder till att vattenkanaler inte öppnas vilket genererar stora vattenflöden ut ur njuren.

Filtrationen av blodplasman från glomerulus till Bowmans space påverkas av skillnader i protein-osmotiskt tryck mellan de två sidorna av det glomerulära filtret. Eftersom det glomerulära filtratet normalt är proteinfritt är det protein-osmotiska trycket i Bowmans space försumbar (Sjaastad *et al.*, 2010). En ökad mängd protein i det glomerulära filtratet leder till att det osmotiska trycket i Bowmans kapsel ökar. Av samma anledning kommer det protein-osmotiska trycket i blodplasman minska pga. minskad koncentration proteiner.

Albumin är ett protein som håller upp det osmotiska trycket (Moyes & Schulte, 2008, s 709). Hamnar mycket albumin i det glomerulära filtratet minskar därmed det osmotiska trycket i blodplasman.

Urinen regleras via osmotiskt tryck och ADH frisätts från hypotalamus vid en hög osmolalitet i blodplasman. ADH binder till receptorer på celler i tubuli vilket resulterar i att vattenkanaler öppnas och vatten absorberas (Nichols, 2001). Med en minskad osmolalitet kommer ADH inte frisättas och vattenkanaler i tubuli kommer därmed inte öppnas, vilket resulterar i att vatten inte absorberas utan följer med urinen ut, polyuri.

En annan mekanism är att vid pyometra trycks det cellmedierade immunförsvaret, Th1, ner via IL-6. Medan aktivering av Th2 ökar med hjälp av IL-10 vilket genererar en ökning av antalet aktiverade B-celler, som i sin tur leder till en ökad antikroppsproduktion (Janeway, 1999, s 264,288-289). Bakterierna som orsakar infektionen i livmodern fångas upp av antikroppar vilket leder till att cirkulerande immunkomplex bildas, vilka fälls ut i glomeruli och leder till glomerulonefrit. Dock har forskarna i en studie av Maddens *et al.* (1964) inte sett något samband med ökad mängd immunkomplex och pyometra. I en annan studie jämfördes prevalensen av immunkomplex hos tikar med pyometra med en kontrollgrupp bestående av tikar som var mellan ett till sex år gamla. Resultaten från denna studie är dock svårbedömda då pyometra är en åldersrelaterad sjukdom och tikarna med pyometra troligen var äldre än de i referensgruppen. En intressant frågeställning är varför det är äldre tikar som drabbas av pyometra. En förklaring till detta är att effekterna i livmodern är kumulativa och att patologin därmed förvärras för varje cykel (Smith, 2006).

Dąbrowski *et al.* (2015) upptäckte i sin studie att en ökad koncentration av IL-6 och IL-10 kunde detekteras hos hundar med pyometra jämfört med referenshundarna. Utifrån detta resultat skulle det kunna vara möjligt att använda IL-10 som en markör för att skilja pyometra från andra differentialdiagnoser som också uppvisar polyuri och polydipsi, exempelvis diabetes insipidus, diabetes mellitus och Cushing's syndrom.

En egen tanke gällande påverkan på njurarna är om endotoxinerna kan filtreras genom glomerulus. Då kommer återresorptionen av vatten från tubuli till blodkärl minska p.g.a. lägre osmotiskt tryck. Hunden kommer urinera mer och blodtrycket kommer sjunka p.g.a. minskad mängd vatten i blodkärlen. Men om toxinet inte kan filtreras till det glomerulära filtratet så ökar antalet partiklar och en kompensatoriskt ökad vattenmängd i blodet. Detta leder till att blodtrycket ökar och därmed även trycket i njuren, vilket potentiellt skulle kunna leda till skador på nefronet.

Hundar med pyometra och en samtidig kronisk njursvikt kan få en ACE- hämmare efter operation för att proteinurin ska minska (Maddens *et al.*, 2011). Endotoxiner har precis som ACE- hämmaren effekter på blodtrycket, som sänks.

Ingen av studierna som använts i uppsatsen visar hur länge endotoxinerna finns kvar i cirkulationen efter att infektionskällan avlägsnats. Om endotoxinerna har stor roll bakom påverkan på njurarna hos tikar med pyometra borde de försvinna ganska snabbt, då njurskadorna är reversibla och försvinner efter operation.

I en studie beskriver Whitney (1969) ett fynd som Asheim (1964) gjort där endotoxiner av *E. Coli* isolerats från hundar med pyometra och senare injicerats i friska hundar. De tidigare friska hundarna fick polyuri och därmed en påverkan på njurarna. Det tyder på hur stor roll endotoxiner spelar i kopplingen mellan pyometra och njurpåverkan.

Det faktum att njurskadorna är reversibla efter operation (Macintire, 1994) talar för att njurskadorna inte är så grava. Maddens *et al.* (2010) jämförde i en studie bl.a. tikar med pyometra med tikar diagnostiserade med kronisk njursvikt och kom fram till att tikarna med pyometra hade en mildare glomerulär och tubulär dysfunktion än tikarna med kronisk njursvikt. Detta talar för att polyurin och polydipsin vid pyometra orsakas av en indirekt påverkan via externa signaler, antingen genom att endotoxiner blockerar ADH- receptorerna eller att ADH av någon anledning inte frisätts från hypotalamus. En direkt skada på njurarna skulle förmodligen inte försvinna spontant så snabbt efter behandling men kan inte helt uteslutas då njurarna har en relativt god regenerativ förmåga om skadan inte är alltför omfattande.

Det vore önskvärt att framtida studier fokuserade mer direkt på mekanismerna bakom påverkan på njurarna. För påverkan finns, det verkar forskarna enade om.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Borresen B. Pyometra in the dog—a pathophysiological investigation I. The pyometra syndrome, a review. *Nordisk Veterinærmedicin* 1975;27:508-517
- Concannon, P. W. (2011). Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal Reproduction Science*, 124(3-4), 200–210. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.028>
- Cornell University (2016-03-22). *Urine Protein to Creatinine Ratio*. <https://ahdc.vet.cornell.edu/sects/clinpath/test/urine/protein.cfm> [2016-03-22]
- Dąbrowski, R., Pastor, J., Szczubiał, M., Piech, T., Bochniarz, M., Wawron, W., & Tvarijonavičiute, A. (2015). Serum IL-6 and IL-10 concentrations in bitches with pyometra undergoing ovariohysterectomy. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57(1). <http://doi.org/10.1186/s13028-015-0153-8>
- Dicker, S. E. (1969). Polydipsia in the dog—symposium. I. The role of the kidneys in the control of water metabolism in mammals. *The Journal of Small Animal Practice*, 10(8), 479–484.
- Faldyna, M., Laznicka, A., & Toman, M. (2001). Immunosuppression in bitches with pyometra. *The Journal of Small Animal Practice*, 42(1), 5–10.
- Feldman, E. C., & Nelson, R. W. (1989). Diagnostic approach to polydipsia and polyuria. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 19(2), 327–341.
- Fransson, B. A., Karlstam, E., Bergstrom, A., Lagerstedt, A.-S., Park, J. S., Evans, M. A., & Ragle, C. A. (2004). C-reactive protein in the differentiation of pyometra from cystic endometrial hyperplasia/mucometra in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 40(5), 391–399. <http://doi.org/10.5326/0400391>
- Hagman, R., Kindahl, H., Fransson, B. A., Bergström, A., Holst, B. S., & Lagerstedt, A.-S. (2006). Differentiation between pyometra and cystic endometrial hyperplasia/mucometra in bitches by prostaglandin F2alpha metabolite analysis. *Theriogenology*, 66(2), 198–206. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.11.002>
- Hagman, R., & Kühn, I. (2002). Escherichia coli strains isolated from the uterus and urinary bladder of bitches suffering from pyometra: comparison by restriction enzyme digestion and pulsed-field gel electrophoresis. *Veterinary Microbiology*, 84(1-2), 143–153.
- Heiene, R., Kristiansen, V., Teige, J., & Jansen, J. H. (2007). Renal histomorphology in dogs with pyometra and control dogs, and long term clinical outcome with respect to signs of kidney disease. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49, 13. <http://doi.org/10.1186/1751-0147-49-13>

- Heiene, R., Moe, L., & Mølmen, G. (2001). Calculation of urinary enzyme excretion, with renal structure and function in dogs with pyometra. *Research in Veterinary Science*, 70(2), 129–137. <http://doi.org/10.1053/rvsc.2000.0451>
- Janeway, C. (Ed.). (1999). T-Cell Mediated Immunity I: Janeway, C. (Ed.). *Immunobiology: the immune system in health and disease* (4th ed). London : New York, NY, US: Current Biology Publications ; Garland Pub, 263-361
- Lefebvre, H. P., & Toutain, P. L. (2004). Angiotensin-converting enzyme inhibitors in the therapy of renal diseases. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27(5), 265–281. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2004.00614.x>
- Macintire, D. K. (1994). Emergencies of the female reproductive tract. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 24(6), 1173–1188.
- Maddens, B., Daminet, S., Smets, P., & Meyer, E. (2010). Escherichia coli pyometra induces transient glomerular and tubular dysfunction in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 24(6), 1263–1270. <http://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0603.x>
- Maddens, B., Heiene, R., Smets, P., Svensson, M., Aresu, L., van der Lugt, J., ... Meyer, E. (2011). Evaluation of kidney injury in dogs with pyometra based on proteinuria, renal histomorphology, and urinary biomarkers. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 25(5), 1075–1083. <http://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0772.x>
- Moyes, C. D., & Schulte, P. M. (2008). *Principles of animal physiology* (2nd ed). San Francisco, CA: Pearson/Benjamin Cummings.
- Newman, S. J. (2012). The Urinary System. I: Zachary, J. F., & McGavin, M. D., *Pathologic basis of veterinary disease* (5th ed). St.Louis, Mo: Elsevier, 589-659
- Nichols, R. (2001). Polyuria and polydipsia. Diagnostic approach and problems associated with patient evaluation. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 31(5), 833–844, v.
- Root Kustritz, M. V. (2012). Managing the reproductive cycle in the bitch. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 42(3), 423–437, v. <http://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.01.012>
- Sjaastad, Ø. V., Sand, O., & Hove, K. (2010). The Kidneys and the Urinary Tract. I: Sjaastad, Ø. V., Sand, O., & Hove, K., *Physiology of Domestic Animals* (2. ed). Oslo: Scandinavian Veterinary Press, 465-516

- Smith, F. O. (2006). Canine pyometra. *Theriogenology*, 66(3), 610–612.
<http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.023>
- Stone, E. A., Littman, M. P., Robertson, J. L., & Bovée, K. C. (1988). Renal dysfunction in dogs with pyometra. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 193(4), 457–464.
- Whitney, J. C. (1969). Polydipsia in the dog--symposium. 2. Polydipsia and its relationship to pyometra. *The Journal of Small Animal Practice*, 10(8), 485–489.
- Zaragoza, C., Barrera, R., Centeno, F., Tapia, J. A., & Mañe, M. C. (2004). Canine pyometra: a study of the urinary proteins by SDS-PAGE and Western blot. *Theriogenology*, 61(7-8), 1259–1272.
<http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.07.019>