



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet  
NMBU Veterinærhøgskolen  
Institutt for sports- og familiedyrmedisin  
Seksjon for smådyrsykdommer

Fordypningsoppgave 2022, 15pt

Smådyrdifferensiering

## **Har miniatyrhunderaser høye gallesyrenivåer i serum uten påvisbar portosystemisk shunt eller annen leverlidelse?**

### **En retrospektiv studie**

Do Miniature Dog Breeds Have High Bile Acid Levels in Serum Without Detectable Portosystemic Shunt or Other Liver Disease?

A Retrospective Study

Synne Nornes Bryntesen & Hedda Broby Follaug  
Kull 2016

Veiledere: Ellen Skancke & Heidi Sjetne Lund

## **Innhold**

Sammendrag.....	4
Definisjoner og forkortelser .....	5
Innledning.....	7
Gallesyrenes funksjon og det enterohepatiske kretsløp .....	7
Tolkning av gallesyrenivåer i serum .....	8
Faktorer som kan påvirke gallesyrenivåer .....	10
Generelt .....	10
Hepatiske vaskulære anomalier.....	11
Bakgrunn for studien.....	13
Formål .....	14
Materiale og metoder .....	14
Datainnsamling.....	14
Inklusjonskriterier og eksklusjonskriterier.....	14
Referansepopulasjon, studiepopulasjon og studieutvalg.....	16
Journalsøk.....	16
Datafremstilling.....	16
Resultater.....	19
Basalgallesyrenivåer hos mellomstore raser og miniatyraser.....	19
Basalgallesyrenivåer hos de ulike rasene .....	20
Gruppering av basalgallesyrenivåene.....	22
Pre- og postprandiale gallesyrenivåer .....	25
Faktorer som kan ha påvirket gallesyrenivåene .....	26
Sykdomsgrupper.....	26
Kjønn, alder og hold.....	28
Diskusjon.....	30

Høye gallesyrenivåer i serum hos miniatyraser .....	30
Valg og innsamling av blodprøver .....	31
Faktorer som kan ha hatt en innvirkning på gallesyrenivåene .....	33
Sykdomsgrupper.....	34
Periodontal sykdom.....	35
Glukokortikoider .....	36
Mikrobiota .....	36
Oppgavens begrensninger .....	37
Tilfeldige feil, systematiske feil, seleksjonsbias og informasjonsbias.....	37
Validitet og generaliserbarhet .....	37
Betydning av funn .....	39
Konklusjon .....	40
Takk til bidragsyttere.....	41
Summary .....	41
Referanser.....	42

## **Sammendrag**

*Tittel:* Har miniatyrhunderaser høye gallesyrenivåer i serum uten påvisbar portosystemisk shunt eller annen leverlidelse?

*Forfattere:* Synne Nornes Bryntesen & Hedda Broby Follaug

*Veileder:* Ellen Skancke & Heidi Sjetne Lund, Institutt for sports- og familiedyrmedisin.

I denne studien ble det undersøkt om miniatyraser hadde høye gallesyrenivåer i serum, uten at det kunne forklares med en portosystemisk shunt (PSS) eller annen leverlidelse. Dette ble utført ved å kartlegge gallesyrenivåene hos miniatyraserne chihuahua og pomeranian, med border collie og engelsk setter som kontrollraser. Det ble samlet inn blodprøvesvar fra totalt 201 individer, hvorav 50 var chihuahuaer, 52 pomeranianer, 49 border collier og 50 engelsk settere. Sentrallaboratoriet ved NMBU benytter referansegrensene  $<10\mu\text{mol/L}$  og  $<25\mu\text{mol/L}$  som normalverdier ved preprandial og postprandial prøve. Hos 34% av chihuahuaer, 28.8% av pomeranianer, 12.2% av border collier og 8% av engelsk settere var basalgallesyrenivåene over  $10\mu\text{mol/L}$ . Tilsvarende var henholdsvis 24%, 17.3%, 4.1% og 2% av basalgallesyrenivåene over  $25\mu\text{mol/L}$ . Det ble observert en statistisk signifikant forskjell i basalnivå av gallesyrer mellom miniatyraserne og kontrollrasene ( $p = <0.001$ ). Det samme ble påvist mellom engelsk setter og chihuahua ( $p = <0.001$ ), engelsk setter og pomeranian ( $p = 0.001$ ) og border collie og engelsk setter ( $p = 0.023$ ). Mellom border collie og chihuahua ( $p = 0.066$ ), border collie og pomeranian ( $p = 0.434$ ), chihuahua og pomeranian ( $p = 0.776$ ) ble det ikke observert en statistisk signifikant forskjell. Disse resultatene tilsier at en bør være kritisk ved tolkning av basalgallesyrenivå hos pomeranian og chihuahua, men kanskje også andre miniatyraser. I tillegg kan dette indikere at det kan være aktuelt med rasespesifikke referanseverdier.

## Definisjoner og forkortelser

PSS	Portosystemisk shunt
CCK	Cholecystokinin
NMBU	Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
NCPH	Non-chirrotic portal hypertensjon (Ikke-chirrotisk portal hypertensjon)
MVD	Mikrovaskulær dysplasi
CT	Computertomografi
MR	Magnetresonanstomografi
UL	Ultralyd
NKK	Norsk Kennel Klub
BCS	Body condition score (Hold)
ALT	Alanin aminotransferase
AST	Aspartat aminotransferase
ALP	Alkaline phosphatase (Alkalisk fosfatase)

IQR	Interquartile range (Interkvartilbredde)
Fo	Fordøyelse
L	Luftveier
N	Neoplasi
N/A	Nevrologisk/Anfall
U	Urinorganer
Fr	Frisk
SS	Systemisk sykdom
US/MO/A	Uspesifikke symptomer/multiorgansykdom/annet
F/LB/H/I	Forgiftning/legemiddelbivirkning/huggormbitt/insektstikk
MPSS	Mistanke PSS

## **Innledning**

Serum analyser av gallesyrer og en gallesyretest har blitt brukt i flere år til å evaluere og diagnostisere ulike hepatobiliære sykdommer, og gallesyrer er en av markørene for hepatisk funksjon. Selve gallesyretesten er enkel å utføre, noe som gjør den lett tilgjengelig for bruk i ordinær smådyrpraksis. Testen har en høy sensitivitet og spesifisitet for deteksjon av hepatobiliære sykdommer generelt, men er mindre egnet til å skille mellom ulike grupper av hepatobiliære lidelser (Schlesinger & Rubin, 1993). Eksempler på lidelser som kan gi høye gallesyrenivåer i serum er hepatisk dysfunksjon, cholestase og portovaskulære anomalier som portosystemisk shunt (PSS) (Ruland et al., 2010). Gallesyrenivåene kan ikke brukes til å skille mellom disse eller si noe om alvorlighetsgrad eller prognose for sykdommen (Schlesinger & Rubin, 1993).

## **Gallesyrenes funksjon og det enterohepatiske kretsløp**

Galle produseres av hepatocytter i leveren, og har en viktig rolle i fordøyelsen av fett. En viktig komponent i gallen er gallesyrene. Gallesyrer produseres fra kolesterol og kalles da primære gallesyrer. Før gallesyrene skilles ut fra hepatocytene bindes de til cystein eller taurin via konjugering (Sjaastad et al., 2016). Deretter skilles de ut i galle canaliculi ved hjelp av spesifikke transportproteiner, og lagres i galleblæren (Cornell University, u.å.-a). Videre tømmes gallen ut av galleblæren, ved at denne kontraherer, som respons på hovedsakelig hormonet cholecystokinin (CCK). CCK dannes av CCK-produserende celler når de detekterer fett og peptider i duodenum. Gallesyrene presenterer hovedsakelig som anioner i den alkaliske gallen, og når disse bindes til kationer dannes gallesalter. Videre i oppgaven brukes begrepet gallesyrer uavhengig av om disse presenterer i syre- eller salt-form. Gallesyrene er amfipatiske, som vil si at de har en hydrofil og en hydrofob del. De bidrar på denne måten til emulgering av fett, som letter nedbryting og absorpsjon av fettløselige stoffer i tynntarm.

Siden gallesyrene ikke er fettløselige, vil de ikke absorberes ved hjelp av diffusjon i tynntarmen. Dette gjør at de fungerer langs hele tynntarmens lengde og tas opp ved hjelp av aktiv transport i enden av tynntarmen (ileum). Gallesyrene som tas opp vil sendes til lever via vena porta, og resirkuleres. Dette kalles det enterohepatiske kretsløp. Hele 95% av gallesyrene som blir skilt ut med gallen resirkuleres på denne måten. Bakterier i tynntarm og spesielt tykktarm vil omdanne gallesyrene til sekundære gallesyrer. Disse er mer fettløselige og absorberes i ulik grad der noen tas opp til det enterohepatiske kretsløpet, mens andre skilles ut med avføringen (Sjaastad et al., 2016).

Allerede ved første passasje gjennom lever vil hele 90-95% av gallesyrene tas opp fra blodet, noe som gjør at det normalt er en lav konsentrasjon av gallesyrer i systemisk sirkulasjon. Den effektive resirkuleringen kan forstyrres av sykdommer i lever, gallegangene, den portale blodsirkulasjonen og tynntarmen. Nivået av gallesyrer i systemisk sirkulasjon kan på denne måten brukes til å vurdere om det foreligger patologiske tilstander i det enterohepatiske kretsløp, og organer knyttet til dette (Schlesinger & Rubin, 1993).

### **Tolkning av gallesyrenivåer i serum**

Gallesyretesten brukes for å vurdere leverens funksjon, og er den foretrukne screening testen i tilfeller der en mistenker PSS. Testen baserer seg på uttak av en blodprøve etter tolv timers faste (preprandial) og to timer etter fôring (postprandial). To timer er standard da dette regnes som tilstrekkelig tid til at gallesyrenivåene i serum har sunket til under postprandial referanseverdi. Fôret som benyttes bør ha et fettinnhold på ca. 20% av tørrstoffbasis (Nelson et al., 2020a). Prøven sentrifugeres og serum sendes til laboratoriet for analyse.

Referanseverdiene kan variere mellom ulike laboratorier siden de bruker ulike teknikker og analyser. Hvert laboratorium må derfor sette egne referanseverdier (Lawrence & Steiner,



2017). Sentrallaboratoriet har satt referanseverdiene for preprandial og postprandial prøve til henholdsvis  $<10 \mu\text{mol/L}$  og  $<25 \mu\text{mol/L}$  (Sentrallaboratoriet, 2016). Dersom preprandial, postprandial eller tilfeldig måling av gallesyrer er  $>25\text{-}30 \mu\text{mol/L}$  kan det indikere en hepatobiliær sykdom. Hos klinisk friske individer vil som oftest de postprandiale gallesyrenivåene være høyere enn de preprandiale, men i noen tilfeller observeres det motsatte. Dette kan forekomme på grunn av spontane galleblærekontraksjoner, føring like før prøvetaking eller forsinket ventrikkeltømming. Det er langt mindre sannsynlig at det foreligger en hepatobiliær sykdom dersom begge prøvene ligger  $<25 \mu\text{mol/L}$  (Cornell University, 2021). Det har blitt gjort studier ved Cornell University hvor en har observert en sammenheng mellom gallesyrekonsentrasjoner og tilstedeværelse av patologi i leverbiopsier. I de tilfellene der gallesyrenivåene var over  $25 \mu\text{mol/L}$ , ble det ofte funnet leverpatologi. Hos hunder med gallesyrenivåer mellom  $15$  og  $25 \mu\text{mol/L}$  kunne en observere individer med og uten patologi. Derfor regnes dette som en gråsoner (Cornell University, 2021). Ved Norges Miljø- og Biovitenskapelige Universitet (NMBU) Dyresykehuset-smådyr har det blitt påvist PSS hos hunder med postprandiale gallesyrenivåer  $<25 \mu\text{mol/L}$ , men aldri ved nivåer  $<20 \mu\text{mol/L}$  (Skancke, 2022b).

Ifølge en tidligere studie har gallesyretesten en spesifisitet for hepatobiliær sykdom på 100% dersom pre- og postprandiale verdier er henholdsvis  $>20 \mu\text{mol/L}$  og  $>25 \mu\text{mol/L}$  (Lawrence & Steiner, 2017). Sensitiviteten er god når både preprandiale og postprandiale gallesyrenivåer inkluderes ved testing for sykdommer som cirrose, PSS, steroid hepatopati, cholestase og kronisk hepatitt (Schlesinger & Rubin, 1993).

## **Faktorer som kan påvirke gallesyrenivåer**

### **Generelt**

Dersom gallesyrenivåene er forhøyede, vil det kunne indikere at det er noe galt i det enterohepatiske kretsløp. Likevel kan ikke gallesyrenivåene alene diagnostisere årsaken.

Eksempler på sykdommer som kan forstyrre det enterohepatiske kretsløpet er hepatitt, primær eller sekundær PSS, cholestase, cirrose, steroid hepatopati, ekstrahepatisk gallegangs-obstruksjon og neoplasi (Schlesinger and Rubin, 1993).

Ved funksjonell eller strukturell cholestase vil gallesyrer hope seg opp i gallegangssystemet.

Via refluks og stimulering av sinusoidale transportmekanismer pumpes de tilbake til systemisk sirkulasjon, og forårsaker en økning av gallesyrer i blodet (Cornell University, u.å.-a). Endogent eller eksogent økte glukokortikoid nivåer kan forårsake steroid hepatopati.

Denne tilstanden kan gi gallesyrenivåer som enten er normale eller svakt til moderat forhøyede. Da vil nivåene vanligvis ligge  $<75-100 \mu\text{mol/L}$ . I tilfeller der nivåene er over  $100 \mu\text{mol/L}$  vil årsaken sannsynligvis være annen hepatobiliær sykdom (Richter, 2008).

Som beskrevet tidligere vil galleblæren vanligvis tømmes som en respons på hovedsakelig hormonet CKK i forbindelse med føring. Likevel kan det forekomme spontane galleblærekontraksjoner ved fasting. Dette vil føre til at den preprandiale prøven kan være høyere enn den postprandiale prøven. Begge verdiene bør være innenfor postprandiale referanseverdier for å kunne avgjøre om spontan tømning kan være årsaken (Lawrence & Steiner, 2017).

Ifølge nettsiden eClinPath, som tilhører Cornell University, kan høye gallesyrenivåer observeres ved andre sykdommer enn leversykdom. Her nevnes hunder med tannsykdom som et eksempel (Cornell University, u.å.-a). Det er ikke nevnt en begrunnelse eller

kildehenvisning til denne påstanden i teksten. Men det kan tenkes å forårsakes av en reaktiv hepatopati sekundært til tannsykdommen (Skancke, 2022b). I tillegg til faktorer som gir en reell økning i gallesyrenivået, finnes det også faktorer som kan påvirke resultatet og gi falske høye eller lave gallesyrenivåer. Lipemi kan gi en falsk forhøyning av gallesyrenivåene, noe som kan forhindres ved å faste pasienten før blodprøvetaking. Hemolyse kan forårsake en falsk reduksjon i gallesyrenivåer. Risikoen for dette kan reduseres ved å separere serum fra celler så fort som mulig etter uttak av en blodprøve (Cornell University, u.å.-a).

### **Hepatiske vaskulære anomalier**

De medfødte vaskulære anomaliene som kan forårsake forhøyede gallesyrenivåer, kan deles inn i tre kategorier. Den første kategorien inkluderer både intra- og ekstrahepatiske medfødte PSS. En annen viktig kategori er primær hypoplasi av portalvenen. I denne gruppen finnes diagnosene ikke-chirrotisk portal hypertensjon (NCPH) og mikrovaskulær dysplasi (MVD). Den siste kategorien inneholder sykdommer som forstyrrer utførselen av blod fra lever. I tillegg til de medfødte anomaliene finnes ervervede tilstander som forårsaker sekundære vaskulære shunter (Ettinger et al., 2017).

### ***Portosystemisk shunt***

Portosystemiske shunter (PSS) er unormale vaskulære forbindelser mellom vena portae og systemisk sirkulasjon. Dette fører til at blodet fra gastrointestinaltraktus shuntes utenom leverparenkymet, slik at det ikke renses før det når det systemiske kretsløp. Ofte fører dette til symptomer fra nervesystem, gastrointestinaltraktus og urinveier (Nelson et al., 2020b).

Det finnes både ervervede og medfødte PSS. De ervervede PSS opptrer ofte sekundært til hepatisk fibrose og chirrose (Nelson et al., 2020b). Ved hepatisk fibrose og chirrose vil det utvikles økt motstand mot blodstrømmen gjennom lever, og dermed en portal hypertensjon.

Dette fører til dannelse av nye og åpning av pre-eksisterende portosystemiske kollaterale blodkar, mellom vena portae og systemisk kretsløp. På den måten vil blodet shuntes utenom leveren. Dette vil kunne gi forhøyede gallesyrenivåer (Agg, 2006).

Medfødt PSS er en unormal vaskulær forbindelse som skyldes enten embryonal feilutvikling, eller persisterende føtale vaskulære forbindelser. Medfødte PSS kan deles inn i intra- og ekstrahepatiske. De intrahepatiske shuntene kan videre deles inn i høyresidig, venstresidig og sentral ut ifra hvilke side av vena cava shunten munner inn i (Bertolini, 2019). Den venstresidige er mest vanlig og skyldes trolig en persisterende ductus venosus. Intrahepatiske shunter affiserer oftest store hunderaser (Nelson et al., 2020c). Blant annet nevnes irsk ulvehund, golden retriever, labrador retriever og old english sheepdog som predisponerte raser (Watson, 2017).

Ekstrahepatiske portosystemiske shunter er vaskulære forbindelser mellom det portale venesystemet (vena portae, vena splenica, vena gastrica sinistra, vena mesenterica cranialis/caudalis eller vena gastroduodenalis), og de større venene som leder blodet tilbake til hjertet (vena cava caudalis eller vena azygos) (Bertolini, 2019). Disse anomaliene er vanligere hos små hunderaser (Nelson et al., 2020c). I en artikkel som tar opp rasespesifikke leversykdommer nevnes blant annet cairn terrier, yorkshire terrier, malteser, jack russel terrier, dachshund, havaneser, miniatyr schnauzer, west highland white terrier, shih tzu og mops i forbindelse med medfødt ekstrahepatisk shunt (Watson, 2017).

Ved utredning av PSS er det aktuelt å ta en blodprøve for biokjemiske serumanalyser og hematologi, urinprøve, samt gallesyretest og/eller fastende ammoniakk analyse. I tillegg til dette er bildediagnostiske metoder som computertomografi (CT), ultralyd (UL), scintigrafi og magnetresonanstomografi (MR) aktuelt (Mankin, 2015).

### ***Portalvene hypoplasi: Mikrovaskulær dysplasi (MVD) og ikke chirrotisk portal hypertensjon (NCPH)***

MVD og NCPH er medfødte utviklingsanomalier i det intrahepatiske portalvenesystemet i leveren. Det er usikkert om dette er to ulike tilstander, eller ulike manifestasjoner av samme sykdom. Histologisk gjenkjennes sykdommene ved at de har færre portalvene-forgreninger i levertriadene. Som navnet tilsier vil en NCPH føre til en portal hypertensjon, men dette observeres ofte ikke ved MVD. Årsaken til dette er at det åpnes shunter mellom vena portae og vena hepatica, som gjør at blodet passerer forbi sinusoidene ved en MVD. Siden blodet shuntes en annen retning, utvikles det ikke hypertensjon. Disse shuntene er ikke funksjonelle ved en ikke-chirrotisk portal hypertensjon. NCPH er oftest observert hos store hunderaser, mens MVD sees hos små hunderaser som Cairn terrier og Yorkshire terrier (Watson, 2017).

### **Bakgrunn for studien**

Ved NMBU Dyresykehuset-smådyr har det gjennom flere år blitt observert en tendens til høye gallesyrenivåer i serum fra miniatyraser, uten at det ble funnet tegn til leversykdom. Et typisk kasus var en hund av miniatyrase som enten ble henvist eller kom direkte inn til klinikken med nevrologiske symptomer. Ved utredning av slike pasienter ble det gjerne tatt en blodprøve, hvor det ble observert høye gallesyrenivåer i serum. Da portosystemisk shunt er en relativt vanlig sykdom hos hund og kan forårsake nevrologiske symptomer, kom denne diagnosen høyt på differensialdiagnoselisten (Nelson & Nelson, 2011). Dette medførte ytterligere diagnostikk for PSS, som for eksempel gallesyretest, fastet ammoniakk analyse, CT eller UL. I de fleste tilfeller kunne en ikke påvise en PSS. I tillegg til denne type kasus, har det også tilfeldig blitt observert høye gallesyrenivåer i serum fra miniatyraser som har besøkt klinikken av helt andre årsaker. Chihuahua og pomeranian var blant de rasene der dette ble observert hyppigst. Disse er ikke nevnt som predisponerte raser for PSS i litteraturen (Watson, 2017). Dette har gjort at klinikere ved indremedisinsk avdeling på NMBU

Dyresykehuset-smådyr har blitt nysgjerrig på om slike observasjoner gjøres oftere hos miniatyrraser sammenlignet med større raser, og hva slike funn kan innebære.

## **Formål**

Det overordnede målet for oppgaven var å undersøke om miniatyrraser generelt har høyere gallesyrenivåer i serum enn det som observeres hos andre raser, uten at det foreligger en påvisbar leversykdom, som for eksempel portosystemisk shunt (PSS). Om det er tilfellet vil det være aktuelt å revurdere nytteverdien av basalnivå av gallesyrer i en enkelt blodprøve og eventuelt resultater av en gallesyretest hos slike individer. Det spesifikke målet for oppgaven ble dermed å kartlegge gallesyrenivåene hos utvalgte miniatyrraser, for deretter å sammenlikne med resultater fra større kontrollraser.

## **Materiale og metoder**

### **Datainnsamling**

I denne studien ble det søkt opp hunder som hadde vært til utredning på indremedisinsk avdeling ved NMBU Dyresykehuset-smådyr fra og med 2010 frem til 2019. Det ble hentet ut lister med journaler fra det gamle journalsystemet, som var i drift frem til 2019. Ved innsamlingen av dataene ble det startet med de nyeste journalene, og jobbet bakover i tid til det var samlet blodprøver fra omtrent 50 individer av henholdsvis to miniatyrraser og to større raser, som fungerte som kontroller.

### **Inklusjonskriterier og eksklusjonskriterier**

For å begrense omfanget av studien ble det valgt å undersøke hunder fra 2 miniatyrraser og 2 raser av mellomstor type, sistnevnte som kontroller. Miniatyrraser ble definert som

hunderaser som veier under 5 kg (Løberg, 2018). Pomeranian og chihuahua ble valgt til å representere miniatyrasene, da de var blant rasene der høye gallesyrenivåer hadde blitt observert av klinikere ved NMBU Dyresykehuset-smådyr. Border collie og engelsk setter ble benyttet som kontrollraser, da de er definert som mellomstore raser av Norsk kennel Klub (NKK) (NKK, u.å.-a; NKK, u.å.-b). Pomeranian og chihuahua er raser som sjelden diagnostiseres med PSS i Norge (Skancke, 2022a). De er heller ikke nevnt i faglitteraturen som predisponerte raser (Watson, 2017). Engelsk setter og border collie ble av NKK registrert som de mest populære hunderasene i Norge i 2021 (NKK, 2021). Disse ble derfor valgt ut som kontrollraser, da det sannsynligvis ville være mye datamateriale tilgjengelig. De er i likhet med chihuahua og pomeranian heller ikke overrepresentert med diagnosen PSS (Watson, 2017). Det var heller ikke gjort refleksjoner om mulig forekomst av uforklarlige høye gallesyrenivåer hos disse rasene ved NMBU Dyresykehuset-smådyr, i motsetning til det som var gjort når det gjaldt pomeranian og chihuahua.

For at hundene skulle bli inkludert i studien måtte det ha vært tatt enten blodprøver der basalgallesyrenivå var analysert, eller en gallesyretest. Med basalgallesyrenivåer menes en blodprøve der gallesyrenivået er målt, hvor det er ukjent om hunden er fastet eller ikke. I noen få tilfeller manglet basalgallesyrenivåene på blodprøvene. I de tilfellene ble nivået til den preprandiale prøven registrert som basalgallesyrenivå. Dersom gallesyrenivåer ikke var inkludert i blodprøvesvaret, ble hunden ekskludert fra studien. Ved innsamling av data ble det hentet kun blodprøvesvar fra Sentrallaboratoriet. Andre blodprøveresultater, som for eksempel fra Idexx ble ikke samlet inn. Dette var for å sikre standardiserte blodprøveresultater. Dersom individene viste seg å ha en form for påvisbar leverlidelse eller PSS ble disse ekskludert fra studien.

## **Referansepopulasjon, studiepopulasjon og studieutvalg**

Referansepopulasjonen i dette studiet var norske hunder av rasene pomeranian, chihuahua, engelsk setter og border collie som ikke hadde bekreftet PSS eller andre leverlidelser.

Studiepopulasjonen inkluderte hunder av de samme rasene som hadde vært til utredning ved indremedisinsk avdeling på NMBU Dyresykehuset-smådyr. Studieutvalget var hunder av de samme rasene, som hadde besøkt klinikken i perioden 2010 – 2019, der basale gallesyrenivåer i serum var undersøkt eller gallesyretest hadde blitt utført.

## **Journalsøk**

Ved innsamling av datamateriale ble følgende parametere notert: alder, kjønn, vekt og body condition score (BCS). Av blodprøveparametere ble albumin, urea, kolesterol, bilirubin, ammoniakk, gallesyrer, alanin aminotransferase (ALT), aspartat aminotransferase (AST) og alkalisk fosfatase (ALP) inkludert. Dette grunnet deres betydning for vurdering av hepatobiliær skade og/eller funksjon. I tillegg ble eventuelle årsaker til blodprøvetaking, bildediagnostiske funn og diagnoser registrert i de tilfellene det var tilgjengelig. Dette kunne eventuelt brukes til å få en oversikt over mulige sammenhenger mellom sykdommer av ikke hepatobiliær karakter og gallesyrenivåer. I de tilfellene det var flere blodprøvesvar per individ ble den første prøven prioritert i datainnsamlingen.

## **Datafremstilling**

Til fremstillingen av data ble det brukt Microsoft Excel versjon 16.6 og Jamovi 2.2.5. Det ble laget deskriptive tabeller og figurer for basalgallesyrenivåene hos miniatyraser stilt opp mot mellomstore raser, og for rasene opp mot hverandre. Basalgallesyrenivåene inkluderte både fastede og ikke fastede prøver. I de fleste tilfeller var det ikke oppgitt i journalen om individene var fastet eller ikke. De kontinuerlige variablene ble fremstilt med median, interkvartilbredde (IQR), 25. persentil og 75. persentil i en tabell og som et box-plot. Til tross



for at disse tabellene og figurene viste det samme, ble det bestemt at begge skulle inkluderes. Dette siden tabellen viste tallene mer spesifikt, mens figuren ga et mer oversiktlig bilde.

Det ble vurdert om basalgallesyrenivåene var normalfordelte ved hjelp av box plot, Q-Q plot og Shapiro Wilk p test. Da dataene ikke var normalfordelte, var det nødvendig å bruke en ikke-parametrisk metode for å vurdere statistisk signifikans. Siden det var mange nullverdier og ekstremverdier i datamaterialet, ble ikke dataene transformert. En ikke-parametrisk Mann-Whitney U test ble brukt for basalgallesyrenivåene hos mellomstore raser og miniatyraser. For å vurdere statistisk signifikans for basalgallesyrer hos rasene chihuahua, pomeranian, engelsk setter og border collie ble en One-Way ANOVA test (Kruskal-Wallis) og Dwass-Steel-Critchlow-Fligner Pairwise comparisons test utført. Forskjeller ble ansett som signifikante ved  $p = < 0.05$ .

Basalgallesyrenivåene ble kategorisert i følgende kategorier: normale (0-10  $\mu\text{mol/L}$ ), mildt forøkede (11-25  $\mu\text{mol/L}$ ), forøkede (26-50  $\mu\text{mol/L}$ ) og sterkt forøkede nivåer (51-100  $\mu\text{mol/L}$ ). Det ble i tillegg beregnet andeler som lå under og over følgende referanseverdier: 10  $\mu\text{mol/L}$  og 25  $\mu\text{mol/L}$  hentet fra Sentrallaboratoriet (Sentrallaboratoriet, 2016). Det ble også regnet ut prosentandelen av individer med nivåer  $>10$  og  $>25$   $\mu\text{mol/L}$ . Hos enkelte individer var pre- og postprandiale gallesyrenivåer tilgjengelig. En oversikt over disse individene ble fremstilt.

Individene ble gruppert i ulike sykdomsgrupper ut fra hva slags symptomer, sykdom eller diagnose de ble presentert med. Gruppene ble som følger: fordøyelse (Fo), luftveier (L), neoplasi (N), nevrologisk/anfall (N/A), urinorganer (U), frisk (Fr), systemisk sykdom (SS), uspesifikke symptomer/multiorgansykdom/annet (US/MO/A),

forgiftning/legemiddelbivirkning/huggormbitt/insektstikk (F/LB/H/I), og tillegg en gruppe for de som kom inn for mistanke PSS der dette ble utelukket (MPSS). I tilfeller der individene hadde flere symptomer eller ulike sykdommer samtidig (som for eksempel øyekatarr, innbilt drektighet og klokapselløsning), ble disse plassert i en felles gruppe (US/MO/A). Dette gjaldt også individer med andre sykdommer som for eksempel dermatitt, halthet, synkope og tannsykdom. Individer med forgiftning, legemiddelbivirkning, huggormbitt og insektstikk ble kategorisert i en egen gruppe (F/LB/H/I). Dette for å samle individer som hadde blitt utsatt for en type ytre påvirkning i form av intoksikasjon eller liknende. Individer med symptomer fra mage/tarm som for eksempel oppkast og diaré, havnet under fordøyelsesgruppen, inkludert individer med pankreatitt.

Alle individer med en form for neoplasi ble klassifisert under en gruppe (N). Det var ulike former for neoplasi hos de ulike individene, deriblant lymfom, mastcelletumor, jursvulst og liknende. I tilfeller der pasienten var diagnostisert med en mulig generalisert form for neoplasi, ble ikke affisert organ spesifisert. Eksempler på sykdommer under gruppen systemisk sykdom (SS) var diabetes, immunmediert polyartritt, immunmediert hemolytisk anemi, hypertyreose, tularemi, pyometra, addison og septisk sjokk. Det ble laget en egen gruppe for individer med nevrologiske symptomer og anfall (N/A). Individer som ble kategorisert under gruppen «frisk» (Fr) var hunder som kom inn for blodgiverscreening, drektighetsundersøkelse og alderskontroll.

De ulike sykdomsgruppene ble fremstilt i form av en tabell i Jamovi og figurform i programmet RStudio versjon 4.1.2, med datavisualiseringspakken ggplot2.

Det var også interessant å se på individene fra hver rase med høye basalgallesyrenivåer (>25  $\mu\text{mol/L}$ ). Disse ble derfor nærmere undersøkt og presentert med sykdomstilstand og basalgallesyrenivå i resultatdelen.

I tillegg til å kategorisere individene i sykdomsgrupper, ble det laget tre ulike figurer som viste om det var en sammenheng mellom basalgallesyrenivåer og kjønn, alder og hold (BCS).

## Resultater

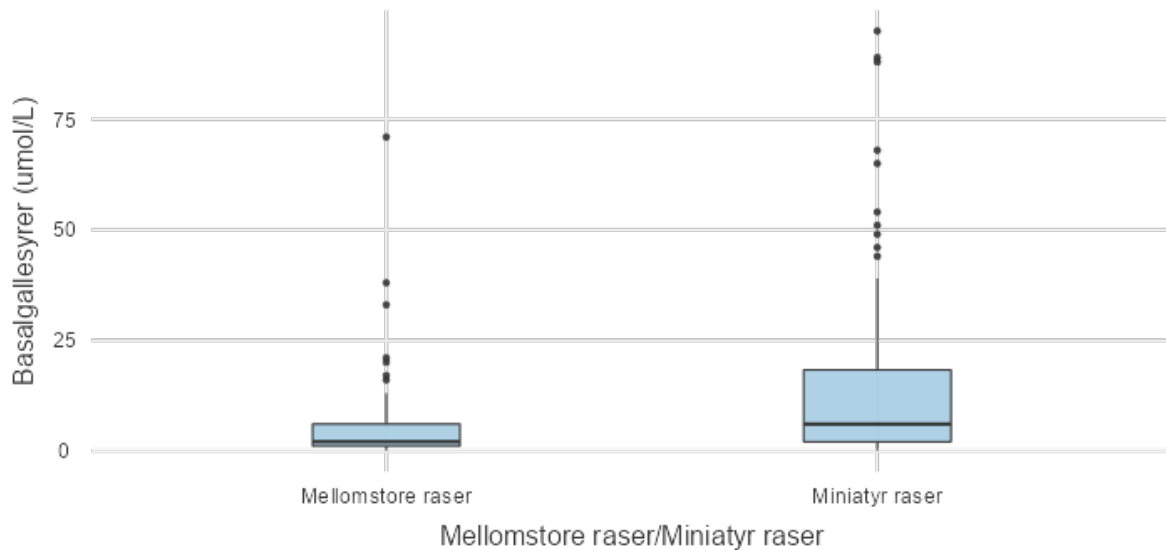
### Basalgallesyrenivåer hos mellomstore raser og miniatyraser

Datamateriale fra totalt 201 hunder ble samlet inn, hvorav 102 var av miniatyraser og 99 var av kontrollraser. Av disse var 52 pomeranianer, 50 chihuahuaer, 50 engelsk settere og 49 border collier inkludert. Spredningen av datamaterialet viste at en større andel av miniatyrasene hadde høyere basalgallesyrenivåer sammenliknet med de mellomstore rasene (Tabell 1 og Figur 1). Basalgallesyrenivåene ble sammenliknet for mellomstore raser og miniatyraser ved hjelp av en Mann-Whitney-U-test. P verdien var  $< 0.001$ , noe som indikerte en statistisk signifikant forskjell i basalgallesyrenivåene mellom disse gruppene.

Tabell 1. Basalnivå av gallesyrer ( $\mu\text{mol/L}$ ) i serum fra totalt 99 mellomstore raser og 102 miniatyraser.

	Mellomstore raser/Miniatyraser	Basalgallesyrenivå ( $\mu\text{mol/L}$ )
Median	Mellomstore raser	2
	Miniatyraser	6.0
IQR <sup>1</sup>	Mellomstore raser	5.0
	Miniatyraser	16.3
25. persentil	Mellomstore raser	1.0
	Miniatyraser	2.0
75. persentil	Mellomstore raser	6.0
	Miniatyraser	18.3

<sup>1</sup> IQR= Interkvartilbredde



Figur 1. Fordelingen av basalgallesyrenivåene i µmol/L til henholdsvis 99 mellomstore raser og 102 miniatyraser.

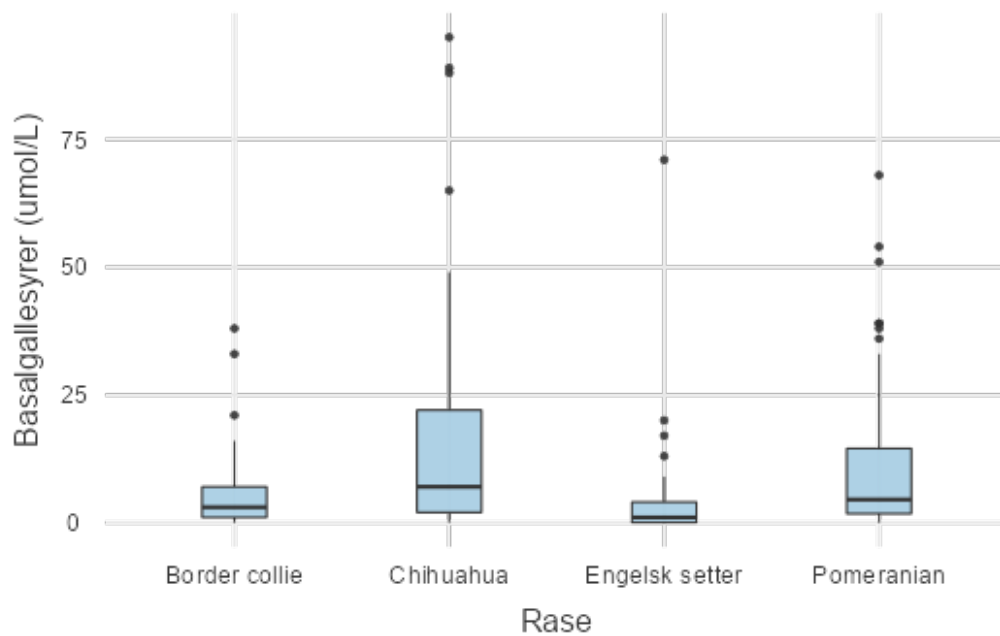
## Basalgallesyrenivåer hos de ulike rasene

Forskjell i spredningen av basalgallesyrenivået for de ulike rasene er vist i form av Tabell 2 og Figur 2. Chihuahua hadde flest individer med høyere basalgallesyrenivåer sammenliknet med de andre rasene. Videre hadde engelsk setter de laveste basalgallesyrenivåene.

Pomeranian hadde også høye basalgallesyrenivåer sammenliknet med begge kontrollrasene. En One-Way ANOVA test (Kruskal-Wallis) og Dwass-Steel-Critchlow-Fligner Pairwise comparisons test viste om det var statistisk signifikant forskjell i basalgallesyrenivå mellom de ulike rasene. Det ble sett en signifikant forskjell i basalgallesyrenivået mellom engelsk setter og chihuahua ( $p = <0.001$ ), engelsk setter og border collie ( $p = 0.023$ ), og mellom engelsk setter og pomeranian ( $p = 0.001$ ). Det ble ikke observert en statistisk signifikant forskjell i basalgallesyrenivået mellom border collie og chihuahua ( $p = 0.066$ ), border collie og pomeranian ( $p = 0.434$ ) eller mellom chihuahua og pomeranian ( $p = 0.776$ ).

Tabell 2. Basalt gallesyrenivå ( $\mu\text{mol/L}$ ) i serum fra 49 border collier, 50 chihuahuaer, 50 engelsk settere og 52 pomeranianer.

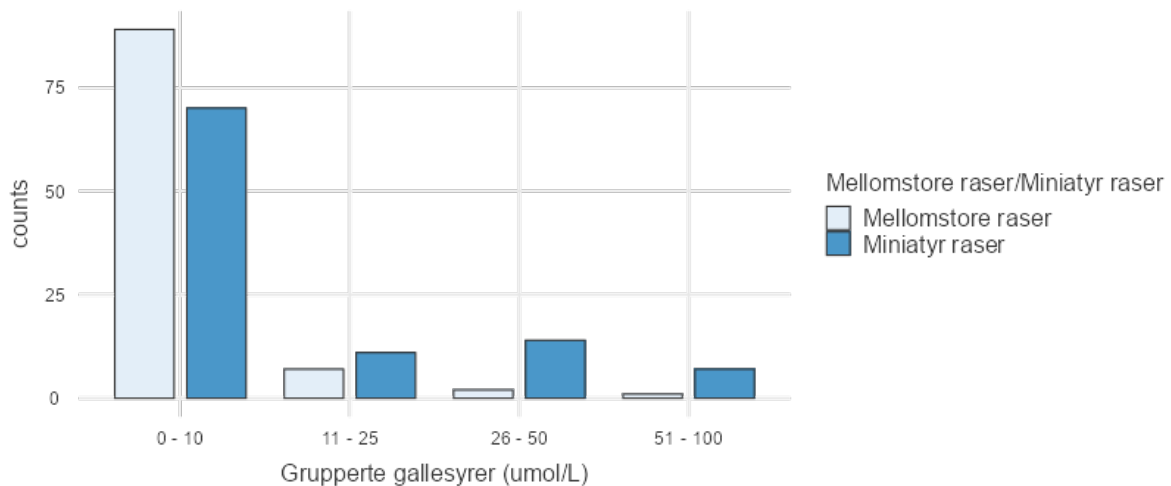
	Rase	Basalgallesyrenivå ( $\mu\text{mol/L}$ )
Median	Border collie	3
	Chihuahua	7.0
	Engelsk setter	1.0
	Pomeranian	4.5
IQR <sup>1</sup>	Border collie	6.0
	Chihuahua	20.0
	Engelsk setter	4.0
	Pomeranian	12.8
25. persentil	Border collie	1.0
	Chihuahua	2.0
	Engelsk setter	0.0
	Pomeranian	1.8
75. persentil	Border collie	7.0
	Chihuahua	22.0
	Engelsk setter	4.0
	Pomeranian	14.5



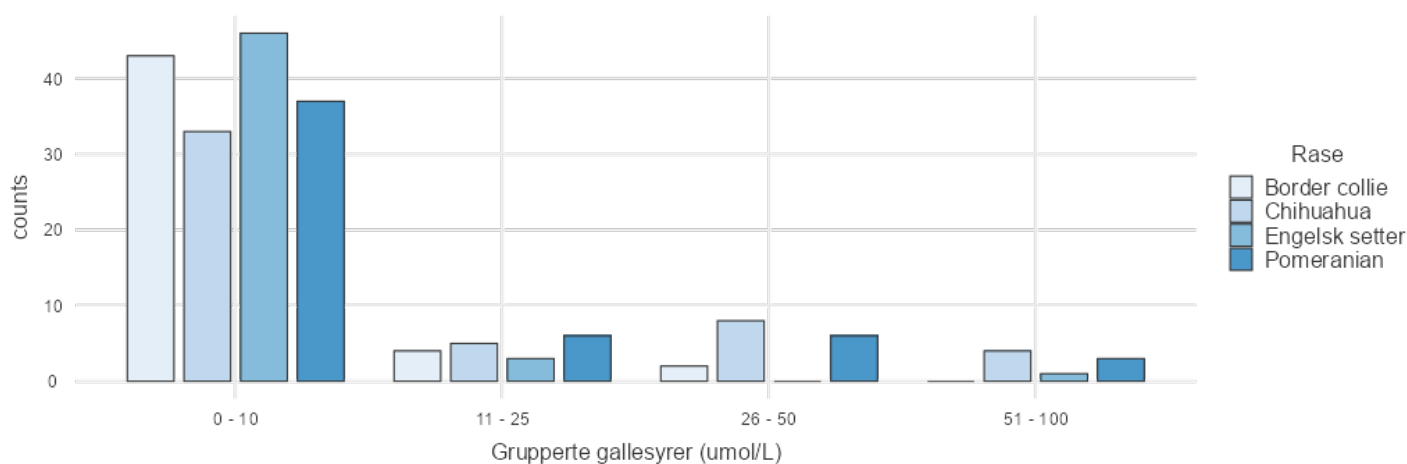
Figur 2. Fordeling av basalgallesyrenivåene ( $\mu\text{mol/L}$ ) i serum for 49 border collier, 50 chihuahuaer, 50 engelsk setter og 52 pomeranianer.

## Gruppering av basalgallesyrenivåene

Basalgallesyrenivåene ble også gruppert som ordinal variabel i datasettet. Grupperingen av basalgallesyrenivåene etter normale (0-10  $\mu\text{mol/L}$ ), mildt forøkede (11-25  $\mu\text{mol/L}$ ), forøkede (26-50  $\mu\text{mol/L}$ ) og sterkt forøkede (51-100  $\mu\text{mol/L}$ ) verdier, er vist i form av en figur for mellomstore raser og miniatyraser (Figur 3) og for de ulike rasene (Figur 4). Ut ifra figurene ble det observert flere individer med høyere basalgallesyrenivåer blant miniatyrasene. I Figur 4 ble det observert at pomeranian dominerte med flest individer i kategorien «mildt forøkede», mens chihuahua dominerte i kategoriene «forøkede» og «sterkt forøkede».



**Figur 3. Basalgallesyrenivåene presentert i kategoriene normale (0-10  $\mu\text{mol/L}$ ), mildt forøkede (11-25  $\mu\text{mol/L}$ ), forøkede (26-50  $\mu\text{mol/L}$ ) og sterkt forøkede (51-100  $\mu\text{mol/L}$ ) for 99 mellomstore raser og 102 miniatyraser. Counts = antall individer.**

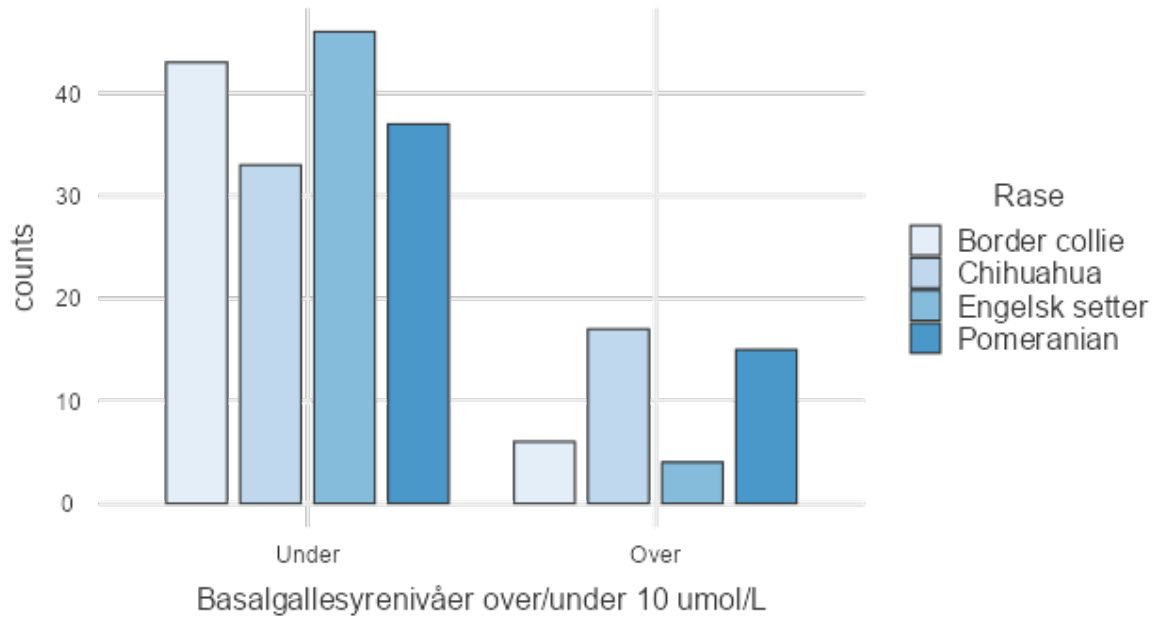


**Figur 4. Basalgallesyrenivåene presentert i kategoriene normale (0-10 µmol/L), mildt forøkede (11-25 µmol/L), forøkede (26-50 µmol/L) og sterkt forøkede (51-100 µmol/L) for totalt 49 border collier, 50 chihuahuaer, 50 engelsk settere og 52 pomeranianer. Counts = antall individer.**

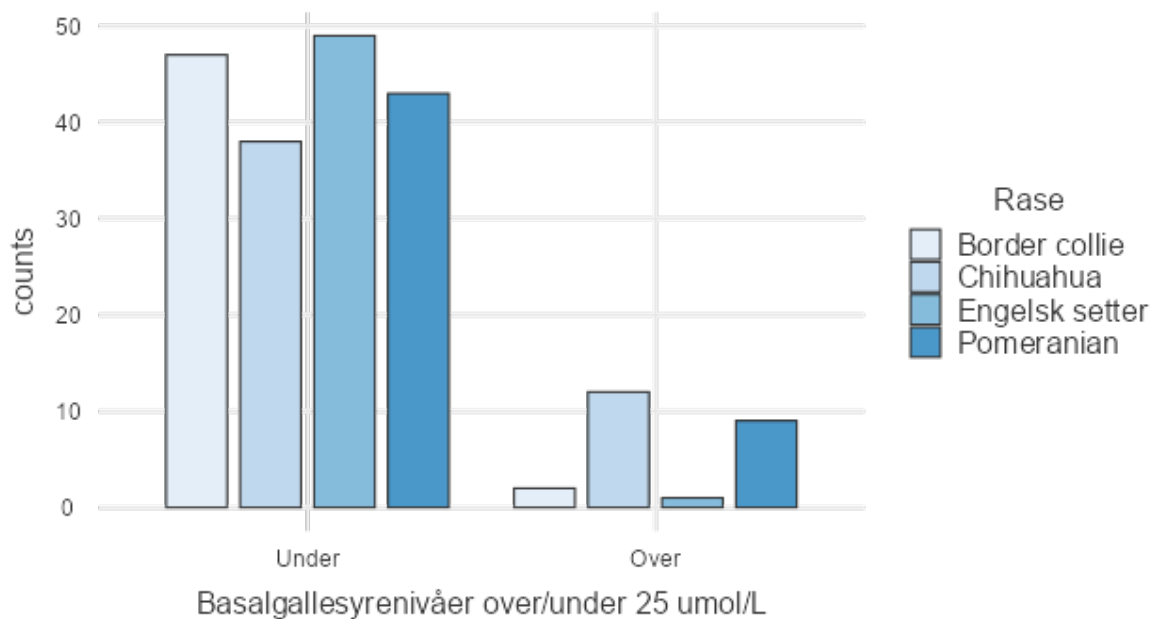
Det ble fremstilt en oversikt over antall og prosent av individer med basalgallesyrenivåer >10 og >25 µmol/L (Tabell 3, Figur 5 og Figur 6). Blant individene med nivåer over grenseverdiene var det en overvekt av miniatyraser. Av individene som lå under grenseverdiene, dominerte kontrollrasene.

**Tabell 3. Antall individer (%) med basalgallesyrenivåer >10 µmol/L og >25 µmol/L. Der totalt 49 border collier, 50 chihuahuaer, 50 engelsk settere og 52 pomeranianer var inkludert. (n = Antall individer)**

Rase	Antall individer med basalgallesyrenivåer >10 µmol/L (%)	Antall individer med basalgallesyrenivåer >25 µmol/L (%)
Sum		
Border collie (n= 49)	6 (12,2%)	2 (4,1%)
Chihuahua (n=50)	17 (34%)	12 (24%)
Engelsk setter (n=50)	4 (8%)	1 (2%)
Pomeranian (n=52)	15 (28,8%)	9 (17,3%)



Figur 3. Antall individer med basalgallesyrenivåer som ligger under og over 10 µmol/L av totalt 49 border collier, 50 chihuahuaer, 50 engelsk setttere og 52 pomeranianer. Counts = antall individer.

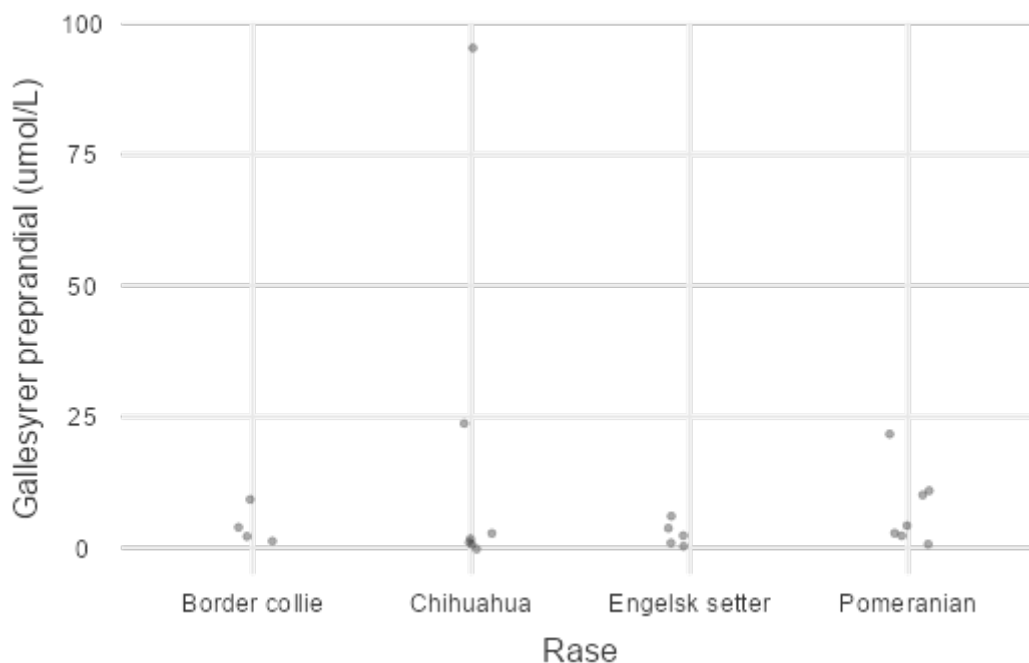


Figur 4. Antall individer med basalgallesyrenivåer som ligger under og over 25 µmol/L av totalt 49 border collier, 50 chihuahuaer, 50 engelsk setttere og 52 pomeranianer. Counts = antall individer.

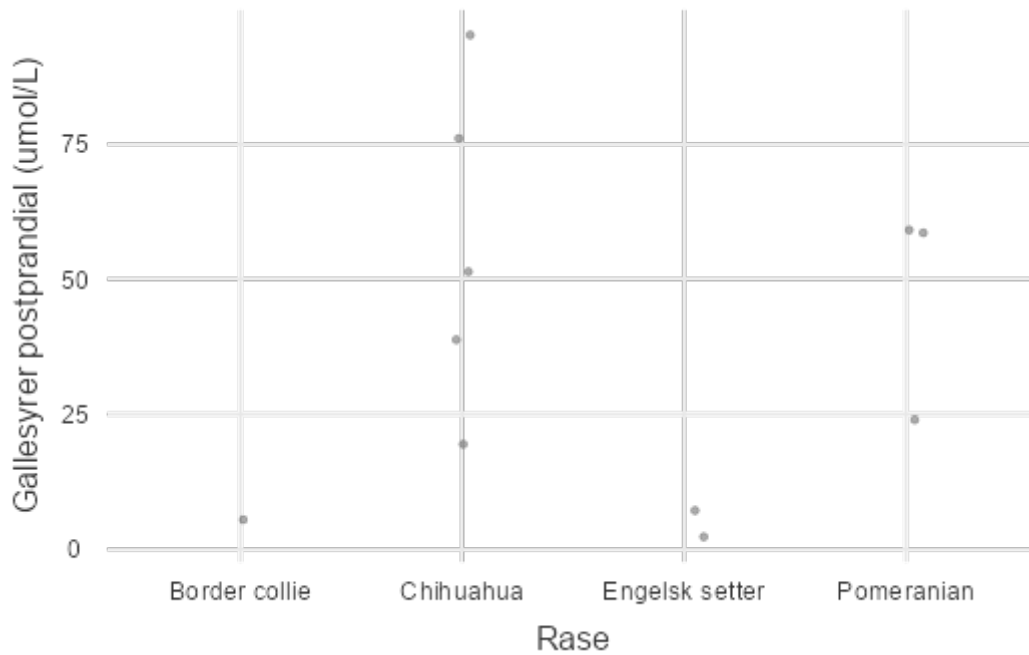


## Pre- og postprandiale gallesyrenivåer

Det ble totalt samlet inn 23 preprandiale og 11 postprandiale gallesyreresultater i datasettet. I de preprandiale prøveresultatene inngikk individer som en med sikkerhet visste var fastet. Av disse var 4 fra border collie, 7 fra chihuahua, 5 fra engelsk setter og 7 fra pomeranian. Av de postprandiale prøvene var 1 fra border collie, 5 fra chihuahua, 2 fra engelsk setter og 3 fra pomeranian. Referanseverdiene var ifølge Sentrallaboratoriet  $<10 \mu\text{mol/L}$  for preprandial prøve, og  $<25 \mu\text{mol/L}$  for postprandial prøve. De fleste preprandiale gallesyrenivåene lå  $<10 \mu\text{mol/L}$ , med unntak av noen få utstikkere (Figur 7). Tre av individene lå med sikkerhet over grenseverdien  $10 \mu\text{mol/L}$ , av disse var 2 chihuahuaer og 1 pomeranian (Figur 7). På postprandiale prøver var det en tydelig forskjell i nivåene hos pomeranian og chihuahua sammenliknet med border collie og engelsk setter (Figur 8). Fire av 7 chihuahuaer og 2 av 3 pomeranianer hadde postprandiale nivåer over grenseverdien  $25 \mu\text{mol/L}$ .



Figur 5. Preprandiale gallesyrenivåer ( $\mu\text{mol/L}$ ) i serum fra 4 border collier, 7 chihuahuaer, 5 engelsk settere og 7 pomeranianer.



Figur 6. Postprandiale gallesyrenivåer ( $\mu\text{mol/L}$ ) i serum fra 1 border collie, 5 chihuahuaer, 2 engelsk settere og 3 pomeranianer.

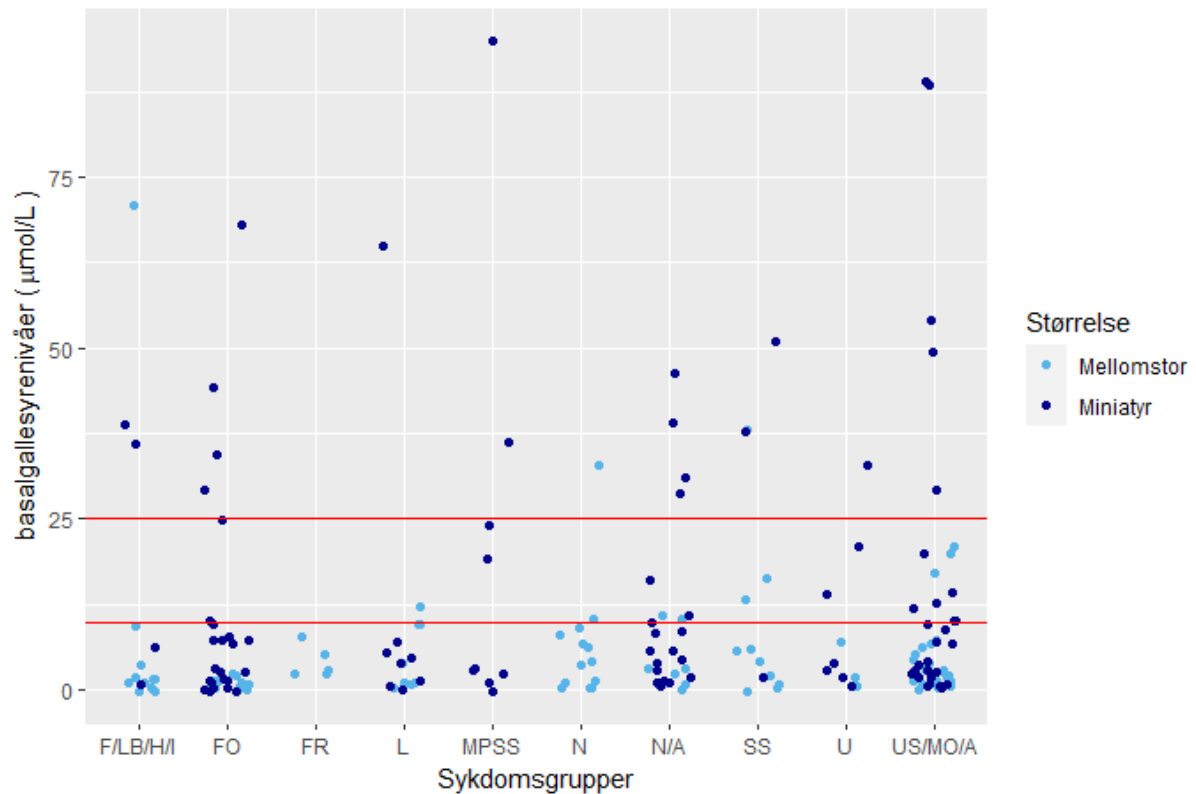
## Faktorer som kan ha påvirket gallesyrenivåene

### Sykdomsgrupper

En oversikt over basalgallesyrenivåene hos 99 mellomstore raser og 102 miniatyraser fordelt i ulike sykdomsgrupper framkommer i Figur 9. Det var ingen sykdomsgrupper som skilte seg ut med stor forekomst av høye basalgallesyrenivåer. Innenfor sykdomsgruppen «fordøyelse» var det totalt 40 individer, hvor border collie utgjorde 9, chihuahua 11, engelsk setter 7 og pomeranian 13 individer. Det ble observert at alle individer med høye basalgallesyrenivåer i denne gruppen var av rasene pomeranian og chihuahua. I MPSS-gruppen var det 6 chihuahuaer og 3 pomeranianer, og ingen kontrollraser. I gruppen med friske individer var det kun 3 border collier og 2 engelsk settere.

Det var verdt å merke seg at det var registrert 2 pomeranianer som hadde blitt behandlet med kortison. Disse hadde verdier på henholdsvis 51  $\mu\text{mol/L}$  og 2  $\mu\text{mol/L}$ , og havnet i SS-gruppen og US/MO/A-gruppen.

Det var interessant å se nærmere på sykdomstilstandene til individene med verdier  $>25$   $\mu\text{mol/L}$ . Én engelsk setter som hadde falt ned en skrent og hadde en hevelse bilateralt på snuten hadde et basalgallesyrenivå på 70  $\mu\text{mol/L}$ . Av border colliene var det én med idiopatisk primær immunmediert anemi (38  $\mu\text{mol/L}$ ), og én som var diagnostisert med lymfom (33  $\mu\text{mol/L}$ ). Blant chihuahuaene var det langt flere individer med høye basalgallesyrenivåer. Disse hadde følgende sykdomstilstander: gastritt (44  $\mu\text{mol/L}$ ), 2 med hydrocephalus (46 og 29  $\mu\text{mol/L}$ ), anfall (31  $\mu\text{mol/L}$ ), kronisk abscess på halsen (49  $\mu\text{mol/L}$ ), blod i avføringen (29  $\mu\text{mol/L}$ ), blodig diaré og oppkast (36  $\mu\text{mol/L}$ ), MPSS (95  $\mu\text{mol/L}$ ), kronisk gastritt (34  $\mu\text{mol/L}$ ), smerte nakke (89  $\mu\text{mol/L}$ ), mistanke pneumoni (65  $\mu\text{mol/L}$ ) og mulig tannsykdom (88  $\mu\text{mol/L}$ ). Den samme trenden ble sett hos pomeranian som hadde følgende sykdomstilstander: generalisert nefropati (33  $\mu\text{mol/L}$ ), MPSS (36  $\mu\text{mol/L}$ ), smerter og bloduttredelser abdomen (29  $\mu\text{mol/L}$ ), meloksikam bivirkning (39  $\mu\text{mol/L}$ ), idiopatisk immunmediert polyartritt (51  $\mu\text{mol/L}$ ), pyometra (38  $\mu\text{mol/L}$ ), blodig avføring (68  $\mu\text{mol/L}$ ), ataksi og smerter (39  $\mu\text{mol/L}$ ) og øyesykdom (54  $\mu\text{mol/L}$ ).

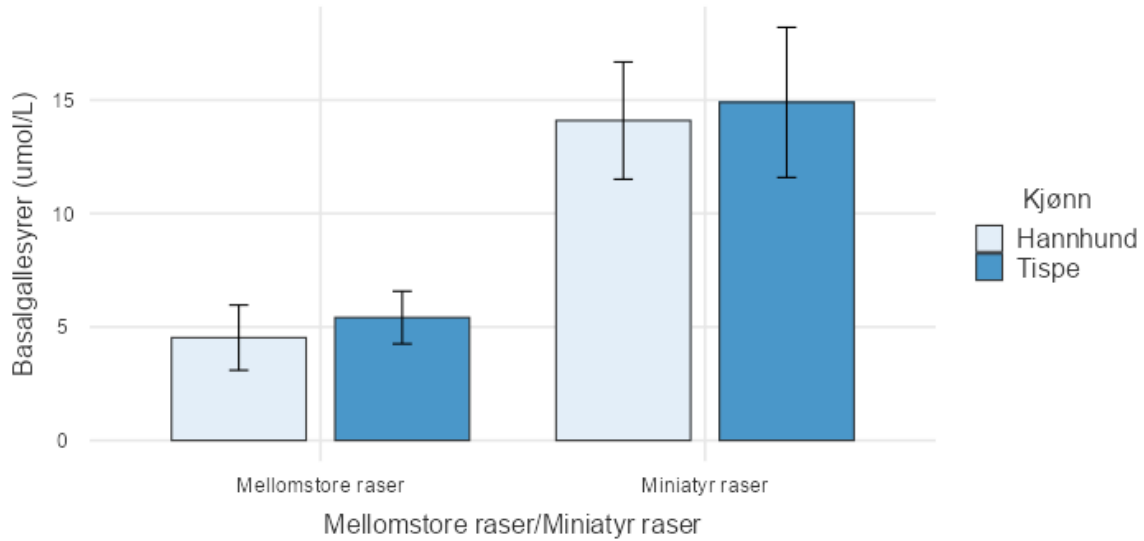


Figur 7. Basalgallesyrenivåer ( $\mu\text{mol/L}$ ) hos mellomstore raser og miniatyrraser, delt inn i ulike sykdomsgrupper. Referanseverdiene 10 og 25  $\mu\text{mol/L}$  er markert med rød strek.

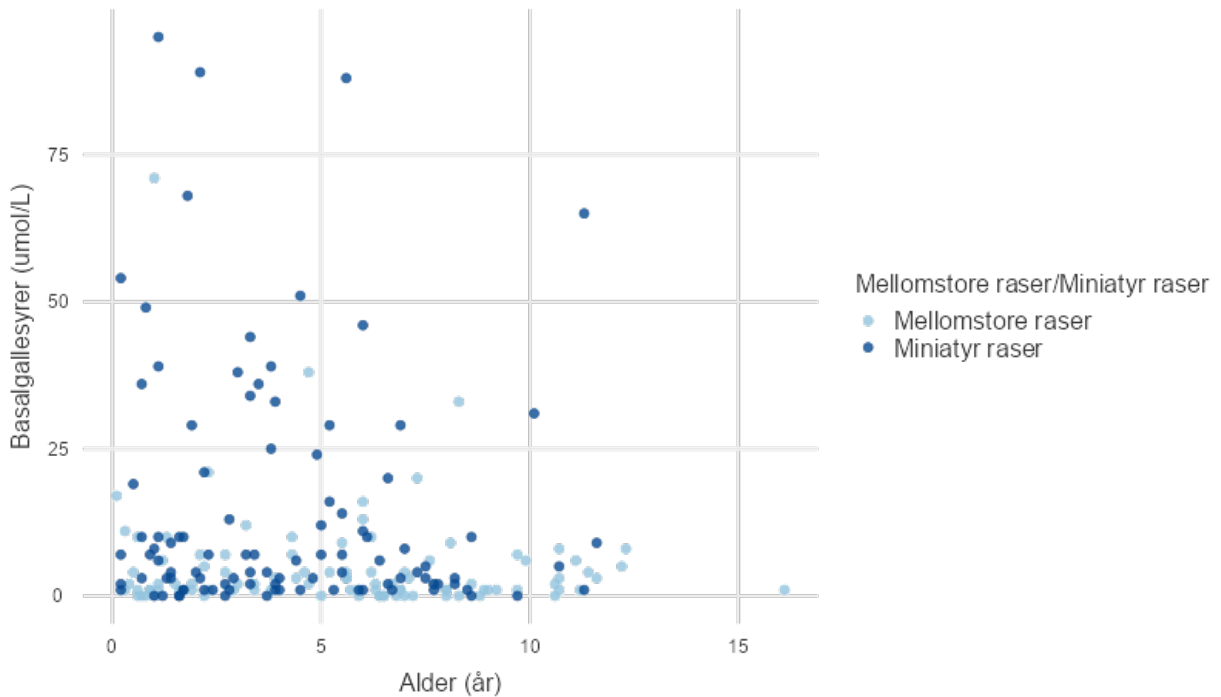
Forkortelser: fordøyelse (Fo), luftveier (L), neoplasi (N), nevrologisk/anfall (N/A) urinorganer (U), frisk (Fr), systemisk sykdom (SS), uspesifikke symptomer/multiorgansykdom/annet (US/MO/A), forgiftning/legemiddelbivirkning/huggormbitt/insektstikk (F/LB/H/I), mistanke PSS (MPSS).

### Kjønn, alder og hold

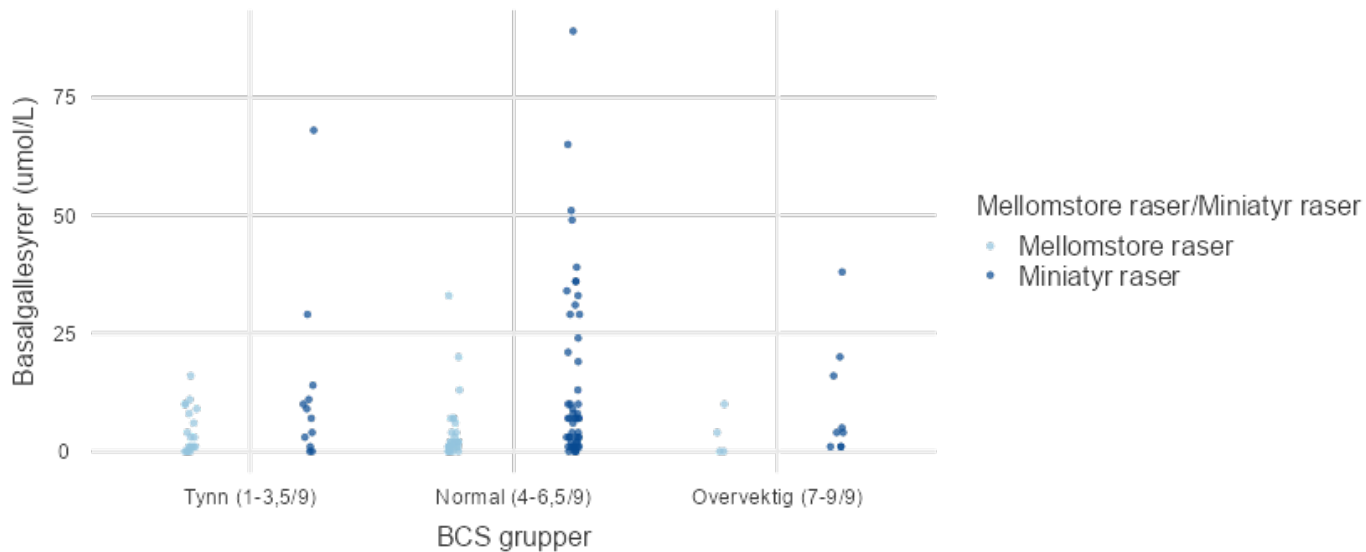
Det var ingen tydelig forskjell mellom basalgallesyrenivåer og variasjon i kjønn, alder eller hold (BCS) (Figur 10, 11 og 12).



**Figur 8. Basalgallesyrenivåene (µmol/L) til 48 tisper og 51 hannhunder av mellomstore raser, og 64 hannhunder og 38 tisper av miniatyraser.**



**Figur 9. Sammenheng mellom basalgallesyrenivåene (µmol/L) og alderen til 99 mellomstore raser og 102 miniatyraser.**



Figur 10. Basalgallesyrenivåene ( $\mu\text{mol/L}$ ) hos 99 mellomstore raser og 102 miniatyraser sett i forhold til hold. BCS= Body condition score (Hold). Tynn= BCS 1-3,5 av 9, Normal = BCS 4-6,5 av 9 og Overvektig = BCS 7-9 av 9.

## Diskusjon

### Høye gallesyrenivåer i serum hos miniatyraser

I denne studien ble det påvist en statistisk signifikant forskjell i basalgallesyrenivå mellom miniatyraser og mellomstore kontrollraser, der hundene ikke led av PSS eller annen leverlidelse. Miniatyraserne hadde i større grad høye basalgallesyrenivåer i forhold til kontrollrasene. Chihuahua hadde flest individer med høye basalgallesyrenivåer. Av kontrollrasene hadde engelsk setter de laveste basalgallesyrenivåene, sammenliknet med border collie. Dette bekreftet den opprinnelige mistanken om at miniatyraser uten påvisbar leversykdom har høyere gallesyrenivåer i serum enn større raser.

Kliniske kasus rekvirert på grunn av høye gallesyrenivåer og mistanke om PSS, der diagnosen senere ikke ble verifisert, var et av utgangspunktene for denne studien. Det var derfor

interessant å se hvor mange av hver rase som presenterte med denne anamnesen og disse prøveresultatene. Seks chihuahuaer og 3 pomeranianer med en slik anamnese ble observert i studien. Liknende tilfeller ble ikke observert hos kontrollrasene. Dette styrker også mistanken om at miniatyrasene har høyere gallesyrenivåer i serum, uten at dette kan forklares med en PSS eller annen leverlidelse. I tillegg bekrefter denne observasjonen at denne type anamnese og prøveresultat, har en hyppigere opptreden hos miniatyrasene enn kontrollrasene.

Rasespesifikke serumnivåer av gallesyrer er så langt forfatterne erfarer, nevnt i liten grad i litteraturen. En studie som inkluderte 200 malteserhunder, undersøkte blant annet om postprandiale gallesyrekonentrasjoner kunne si noe om prevalensen av subkliniske PSS hos denne rasen. Den konkluderte med at postprandiale gallesyrenivåer ikke kunne indikere prevalensen av subklinisk PSS, da 79% av individene uten senere påvist leverpatologi, hadde gallesyrenivåer over studiens referansegrense (Tisdall et al., 1995). Dette indikerte at høye gallesyrenivåer ikke nødvendigvis var forårsaket av en PSS eller annen leverpatologi. Denne konklusjonen underbygger dermed resultatet i vår studie. Flere studier vil være aktuelt for å kunne trekke en konklusjon om normale gallesyrenivåer hos ulike raser, og eventuelt vurdere om det er nødvendig å etablere rasespesifikke grenseverdier.

## **Valg og innsamling av blodprøver**

Det ble bestemt å bruke basalgallesyrenivået registret i den første blodprøven tatt fra alle individene. Dataene ble derfor hentet ut fra første gang individet hadde oppsøkt NMBU Dyresykehuset-smådyr innenfor tidsperioden 2010-2019. På den måten var det enklere å få en oversikt over sykehistorien til hvert enkelt individ. En må imidlertid være klar over at selv om prøvene her representerer de første som er tatt av pasientene etter ankomst ved NMBU Dyresykehuset-smådyr, vil de kunne være tatt på ulike stadier i pasientenes sykdomsutvikling. Det kan diskuteres om dette ble en feilkilde i oppgaven. Oppgaven gikk imidlertid ut på å

undersøke forekomsten av høye basalgallesyrenivåer hos ulike raser. Det hadde dermed blitt feil å konsekvent velge ut blodprøvesvarene som hadde høye basalgallesyrenivåer. Dersom oppgaven hadde basert seg på å undersøke årsaksforhold for høye basalgallesyrenivåer, ville en slik fremgangsmåte vært mer aktuell.

En annen faktor som kan ha forårsaket en feilkilde i oppgaven var usikkerheten om pasienten var fastet eller ikke før uttak av blodprøvene. I de fleste tilfeller var ikke dette oppgitt. Hos noen få individer var det kun tatt preprandial og postprandial prøve, og da ble den preprandiale verdien registrert også som basalgallesyrenivå. En referanseverdi på 10  $\mu\text{mol/L}$  er brukt som grenseverdi for preprandiale gallesyrenivåer, altså fastende gallesyrenivåer. Dersom noen av individene var fôret, ville en forvente at nivåene kunne stige opp til 25  $\mu\text{mol/L}$ , da dette er øvre grense for postprandiale gallesyrenivåer (Sentrallaboratoriet, 2016). Om prøven ble tatt innen to timer etter fôring, ville en forvente at gallesyrenivåene også kunne være høyere enn 25  $\mu\text{mol/L}$ . Da det ofte ikke var kjent om pasientene var fastet eller ikke, ble resultatene for basalgallesyrenivåene i serum forsøkt vist i form av to figurer. Disse viste antall individer med basalgallesyrenivåer over henholdsvis 10  $\mu\text{mol/L}$  og 25  $\mu\text{mol/L}$  (Figur 5 og 6). I begge tilfeller ble det observert flere individer av miniatyraser med gallesyrenivåer over de bestemte grenseverdiene. Dersom de fleste individene var fôret før blodprøvetaking, kan det ha påvirket oppgavens resultat, ved at flere fikk høyere basalgallesyrenivåer enn 10  $\mu\text{mol/L}$ . Ved å ha med en grenseverdi på 25  $\mu\text{mol/L}$  ble det fremstilt en oversikt over antallet individer som mulig kan ha blitt fôret før blodprøvetaking. Det hadde vært gunstigere om alle individene hadde vært fastet før blodprøvene ble tatt, da dette hadde gitt et likt utgangspunkt for alle individene. På den måten kunne en forholdt seg til kun en grenseverdi på 10  $\mu\text{mol/L}$ . Slik oppgaven ble lagt opp, fantes det heller ingen oversikt over skjevheter mellom de ulike rasene når det gjaldt om de var fastet eller ikke. I og



med at unge miniatyrraser lettere utvikler hypoglykemi, kan det ikke utelukkes at flere av disse kan ha fått noe mat kort tid før prøvetaking (Idowu & Heading, 2018). Om resultatene er fra fastende hunder eller hunder som kan ha fått noe å spise, er derfor en usikkerhetsfaktor i oppgaven.

## **Faktorer som kan ha hatt en innvirkning på gallesyrenivåene**

Det var interessant å undersøke om det forelå en sammenheng mellom høye basalgallesyrenivåer og andre faktorer enn leversykdom. Det ble ikke sett en sammenheng mellom basalgallesyrenivåer og sykdomsgrupper, kjønn, alder og hold (BCS). Til tross for dette ble det påvist høyere basalgallesyrenivåer hos hunder med normalt hold enn de som var klassifisert som tynne og overvektig (Figur 12). Dette kan forklares med at det var flere individer som ble kategorisert i denne gruppen. Til tross for at det ikke ble sett en tydelig sammenheng mellom sykdomsgruppene og basalgallesyrenivåer kan det ikke utelukkes at udiagnostiserte eller skjulte sykdomstilstander som ikke ble registrert, kan ha hatt en innvirkning på resultatet.

I studien ble det observert flere individer med høye basalgallesyrenivåer. Det var interessant å undersøke disse nærmere, da de presenterte med ulike sykdommer. Dette kan indikere at vidt forskjellige sykdomstilstander kan være relatert til høye basalgallesyrenivåer. Allikevel kan en ikke utelukke at underliggende eller skjulte sykdomstilstander var årsaken til de høye nivåene. Det kan også tenkes at noen av disse sykdomstilstandene kan ha ført til en sekundær hepatopati som videre kan ha forårsaket de høye gallesyrenivåene. Pasienten med immunmediert hemolytisk anemi, kan for eksempel sekundært ha fått en leverskade som følge av hypoksi (Cornell University, u.å.-b). Da individene med en mulig sekundær hepatopati ikke ble ekskludert fra studien, kan dette ha påvirket resultatet. En hadde ikke kjennskap til

om de ulike sykdomstilstandene hos individene i denne studien hadde påvirket leveren og dermed gallesyrekonsentrasjonen i serum. Dette utgjør dermed en mulig feilkilde.

### **Sykdomsgrupper**

Studieutvalget baserte seg på hunder som hadde besøkt indremedisinsk avdeling på NMBU Dyresykehuset-smådyr. Ytterst få av disse hundene var friske. Studien kan av den grunn ikke nødvendigvis si noe om basalgallesyrenivåene hos friske hunder. Derimot gir den en oversikt over basalgallesyrenivåene hos de utvalgte rasene som hadde besøkt indremedisinsk avdeling ved NMBU Dyresykehuset-smådyr i tidsperioden 2010-2019. Da hundene kom inn med ulike sykdommer, var det interessant å se om dette påvirket resultatet, selv om dette ikke var hovedfokuset i oppgaven. Hundene fordelte seg ulikt i gruppene både med tanke på antall i hver gruppe, men også antall innenfor hver rase. Fordelingen av hundene i de ulike sykdomsgruppene var utfordrende da flere av hundene hadde symptomer fra multiple organsystemer. Det kan stilles flere spørsmål ved inndelingen av individene i de ulike sykdomsgruppene. For å lette arbeidet og lage en oversikt som var praktisk og leselig, var det hensiktsmessig å ikke ha for mange gruppeinndelinger. Det kunne også vært aktuelt å kategorisere etter alvorlighetsgrad av symptomer, for å se om det ville gitt en annen fordeling av basalgallesyrenivåene.

Det ble observert høye basalgallesyrenivåer i alle sykdomsgruppene, med unntak av gruppa med antatt friske individer. Det var ingen enkelt sykdomsgruppe som skilte seg betraktelig ut med høye basalgallesyrenivåer hos noen av rasene, noe som indikerer at det tilsynelatende ikke var noen sykdomsgrupper som hadde en direkte påvirkning på gallesyrenivåene.

### **Fordøyelsesgruppen**

Fordøyelsesgruppen hadde et omtrent like stort antall individer fra hver rase. Det var interessant at det forelå høyere basalgallesyrenivåer hos chihuahua og pomeranian med mage/tarm sykdom, i motsetning til kontrollrasene engelsk setter og border collie. Om det var fordøyelssykdom i seg selv som ga høyere basalgallesyrenivåer, ville en forventet en jevnere fordeling blant alle rasene da de stort sett hadde de samme symptomene. Ulike raser vil til tross for dette ha ulik predisponering for sykdommer, noe som kan ha hatt en innvirkning på dette resultatet. Det hadde vært interessant å undersøke dette nærmere i en studie hvor kun pasienter med mage/tarm sykdom ble inkludert.

### **Periodontal sykdom**

I en studie fra *University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice* ble det sett en sammenheng mellom periodontal sykdom og systemisk sykdom (Penlington & Faixová, 2019). Periodontal sykdom førte til en bakteriemi med en etterfølgende kronisk, systemisk frigjøring av inflammatoriske mediatorer. Dette forårsaket direkte- eller immunmedierte forandringer andre steder i kroppen, deriblant i lever. Høye konsentrasjoner av leverenzymmer i serum ble observert blant de oftest forekommende komorbiditetene relatert til tannsykdom (Penlington & Faixová, 2019). Det kan tenkes at gallesyrenivåene også kan bli påvirket ved en slik sykdomstilstand. Som nevnt innledningsvis er det også fra Cornell University nevnt at tannsykdom kan påvirke gallesyrenivåene, uten at det er gitt noe begrunnelse eller forklaring på dette. (Cornell University, u.å.-a). Det er kjent at mindre hunderaser har høyere forekomst av periodontal sykdom (Mills, 2021). Derfor er det ikke utenkelig at dette kan ha påvirket gallesyrenivåene hos miniatyraser i denne studien. Det ble ikke samlet inn informasjon om hundene hadde tannsykdom eller ikke i denne oppgaven. Det hadde vært interessant med en egen studie som undersøkte om det forelå en sammenheng.

## **Glukokortikoider**

I og med at dette er en retrospektiv undersøkelse, vil opptak av anamnese og registrering av tidligere sykehistorie og mulig medikamentbruk, variere. Som nevnt innledningsvis vil økte nivåer av glukokortikoider, både endogene og eksogene, kunne forårsake en steroid induisert hepatopati, og igjen forhøyde gallesyrenivåer (Richter, 2008). Da det her ikke fantes en oversikt over hvilke pasienter som hadde blitt behandlet med kortison, ble de få det gjaldt, ikke ekskludert. Det ble notert hos 2 pomeranianer, hvor én hadde høye basalgallesyrenivåer og én hadde lave basalgallesyrenivåer. Det er derfor vanskelig å vite om dette hadde en innvirkning på resultatet i det hele tatt. Kortison brukes til å behandle mange ulike lidelser, deriblant immunmedierte sykdommer. Det kan derfor tenkes at flere av pasientene i datamateriale har fått behandling med kortison, uten at dette hadde blitt registrert.

## **Mikrobiota**

Som nevnt innledningsvis vil bakterier i ulike deler av tarmen omdanne primære gallesyrer til sekundære gallesyrer. Disse absorberes i ulik grad til systemisk sirkulasjon. Ifølge en human studie vil mikrobiota i tarm kunne ha en påvirkning på nivået av gallesyrer og sammensetningen av ulike typer gallesyrer. Det er ikke utenkelig at gallesyrene derfor kan absorberes i ulik grad og at dette kan påvirke gallesyrekonsentrasjonen i serum (Staley et al., 2017). I en annen studie som sammenlignet tarmmikrobiota hos friske hunder, ble det observert en forskjell i mikrobiota mellom noen spesifikke raser, deriblant malteser og puddel (You & Kim, 2021). Dette kan tenkes også å kunne gjelde andre raser, som for eksempel rasene i denne studien. På bakgrunn av disse studiene er det rimelig å anta at mikrobiota kan ha en påvirkning på gallesyrenivåene i serum. Likevel vil en anta at en frisk lever vil kunne kompensere for eventuelle endringer i mengden gallesyrer som absorberes fra tarm, slik at serumnivåene ikke påvirkes i stor grad.

## **Oppgavens begrensninger**

### **Tilfeldige feil, systematiske feil, seleksjonsbias og informasjonsbias**

Det ble gjort et forsøk på å redusere antall tilfeldige feil i studien, ved å ha et tilstrekkelig antall studieenheter av hver rase. Feil ved blodprøvetaking og behandling av blodprøven i ettertid, er eksempler på tilfeldige feil som kan ha oppstått og påvirket resultatene. Dersom blodprøven for eksempel hadde blitt stående for lenge etter blodprøvetaking uten at serum ble skilt fra blodceller, kan det ha ført til falske lave gallesyrenivåer (Cornell University, u.å.-a). Dersom noen av hundene tilfeldigvis hadde spist mye fôr før blodprøvetaking, kan dette ha gitt et falskt forøket gallesyrenivå (Cornell University, u.å.-a). Spontan galleblærekontraksjon kan også være en kilde til tilfeldig feil i studiet (Lawrence & Steiner, 2017). Ved innsamling av data kan det også ha blitt gjort tilfeldige feil, som for eksempel feilnotering. Et eksempel på en systematisk feil, kan ha vært teknisk feil ved maskinen som målte gallesyrenivåene på blodprøvene. Dette kan ha ført til informasjonsbias. Et annet eksempel på informasjonsbias kan ha vært feilkategorisering av individer i sykdomsgrupper. Måten gruppene ble fremstilt, vil også kunne ha påvirket resultatene. Om en annen kategorisering hadde blitt brukt, kunne dette ha gitt en helt annen fordeling av gallesyrenivåene mellom gruppene.

### **Validitet og generaliserbarhet**

Den interne validiteten bestemmes av faktorene som skiller studieutvalget fra studiepopulasjonen. Studieutvalget baserte seg på individer av de utvalgte rasene, som hadde besøkt klinikken i perioden 2010 – 2019, der basale gallesyrenivåer i serum var undersøkt eller gallesyretest hadde blitt utført. Studiepopulasjonen inkluderte hunder av de samme rasene som hadde vært til utredning ved indremedisinsk avdeling på NMBU Dyresykehuset-smådyr. Det som dermed skilte disse, var tidsrommet de besøkte klinikken og om det hadde blitt utført en måling av gallesyrer. Den interne validiteten er relativt god, da rasene og besøk

på indremedisinsk avdeling ga et likt utgangspunkt. Det antas at tidsrommet ikke har en like stor betydning, da det omfatter nesten et 10 års perspektiv. Variasjoner innad i eller mellom ulike år, vil antakelig ha blitt utjevnet. Type sykdom som hunden presenterte med kan ha påvirket valg av diagnostiske tester. I noen sykdomstilfeller vil det for eksempel være aktuelt å analysere kun hematologi og utelukke biokjemi, eller kun inkludere noen få biokjemiske parametere. Det er derfor ikke utenkelig at symptombilde og diagnose kan ha variert mellom de som hadde fått målt gallesyrenivå og de som ikke hadde fått målt disse. Dette kan ha påvirket den interne validiteten ved at individene som ble inkludert i studien, presenterte med andre sykdommer enn de som ble ekskludert på grunn av manglende analysering av gallesyrer.

Studieutvalget omfattet stort sett syke hunder, noe som førte til en seleksjonsbias. Dette har antagelig påvirket den eksterne validiteten i stor grad, da det antas at en større andel av individene i referansepopulasjonen vil være friske. Det er rimelig å anta at friske individer i mindre grad har høye gallesyrenivåer. På den måten vil ikke resultatene korrekt representere gallesyrenivåene i den generelle populasjonen av de spesifikke rasene. Validiteten ville vært bedre dersom en skulle komme med en konklusjon om gallesyrenivåene hos syke individer av de samme rasene i referansepopulasjonen.

De fleste som oppsøker NMBU Dyresykehuset-smådyr kommer fra Østlandet, men det kommer også enkelte pasienter fra Nord-Norge, Vestlandet og Sørlandet. Da kundemassen domineres av hunder fra Østlandet, vil resultatene i større grad gjelde for dette geografiske området. Det antas at dette ikke har en så stor betydning for den eksterne validiteten. Til tross for at en geografisk genetisk variasjon kan tenkes å eksistere, antas det at dette ikke har like stor betydning innad i Norge.

Det kan tenkes at det eksisterer større genetiske variasjoner mellom ulike land, enn innad i Norge. Med dette menes variasjoner som kan tenkes å påvirke gallesyrenivåene hos hunder.

Det var vanskelig å vite i hvor stor grad generaliserbarheten ble påvirket av dette.

Det at det kun ble valgt ut fire raser i studien gir resultatet en dårligere generaliserbarhet. Resultatene kan ikke si noe om andre raser enn de som var inkludert i studien, da denne studien kun tok for seg to miniatyrraser og to kontrollraser. Det ble observert en forskjell i forekomst av høye basalgallesyrenivåer mellom de to miniatyrrasene, men også mellom kontrollrasene. Dette indikerer at rasen i seg selv og ikke bare status som miniatyr eller mellomstor kan ha en innvirkning på gallesyrenivået. De utvalgte rasene kan dermed ikke uten videre representere alle miniatyrraser eller alle mellomstore raser.

## **Betydning av funn**

Det ble observert flere individer av miniatyrraser hvor PSS var mistenkt, men ikke verifisert.

Det samme ble ikke observert hos kontrollrasene. Ved mistanke om PSS hos kontrollrasene, ble diagnosen alltid verifisert i de kasesene som ble vurdert i denne studien. Dette kan indikere at en positiv gallesyretest eller høye basalgallesyrenivåer gir en sterkere indikasjon på at det foreligger en shunt eller leverlidelse hos mellomstore raser i forhold til miniatyrraser.

Det kan derfor virke som at det finnes en eller flere faktorer som forårsaker høye nivåer av gallesyrer i serum og dermed feilaktig mistanke om PSS, hos individer av miniatyrrasene. Hos individene av miniatyrrase som presenterte som MPSS, ble utredningen også stoppet etter at en makroskopisk shunt hadde blitt utelukket ved hjelp av ytterligere diagnostikk.

Diagnostikken ble ikke utført på en standardisert måte. Det varierte hvilke diagnostiske metoder som ble brukt. Enkelte fikk kun utført gallesyretest, ammoniakk test, UL eller CT, men de fleste fikk utført ulike kombinasjoner av disse. Som nevnt innledningsvis opptrer

mikrovaskulær dysplasi (MVD) hyppigere hos små hunderaser (Watson, 2017). Det kan av den grunn ikke utelukkes at disse hadde en mikroskopisk shunt, da dette ikke ble undersøkt videre.

Ved utredning av chihuahua og pomeranian med mistanke om PSS eller andre leverlidelser, bør det vises en større forsiktighet rundt tolkning av basalgallesyrenivået i blodprøveresultatene.

## **Konklusjon**

Det ble i denne studien observert en større forekomst av høye basalgallesyrenivåer hos miniatyraserne chihuahua og pomeranian, sammenlignet med kontrollrasene border collie og engelsk setter. Denne forskjellen var statistisk signifikant ved sammenligning av miniatyraserne opp mot kontrollrasene. Det ble kun observert statistisk signifikant forskjell mellom rasene engelsk setter og pomeranian, engelsk setter og chihuahua, og engelsk setter og border collie. Da studien kun inkluderte pomeranian og chihuahua, vil ikke resultatene være representative for alle miniatyraser, noe som medfører at studien har en begrenset generaliserbarhet. I tillegg baserte studieutvalget seg stort sett på syke individer, noe som fører til at resultatet er lite representativt for friske individer i den generelle populasjonen.

Det ble i denne studien observert individer av pomeranian og chihuahua med mistanke om PSS, både ut ifra kliniske symptomer og nivåer av gallesyrer i serum. Ved videre utredning ble diagnosen ikke verifisert. Denne type uoverensstemmelse mellom klinikk og blodprøveresultater var en av årsakene til at studien var interessant å utføre. Hos kontrollrasene ble imidlertid ikke dette observert, da mistanke om PSS i alle tilfellene førte til



en bekreftet diagnose. Dette kan indikere at gallesyrenivåene er mindre spesifikke for PSS og andre leverlidelser hos miniatyraserne sammenliknet med kontrollrasene.

Av de undersøkte faktorene som kunne tenkes å ha en sammenheng med høye basalgallesyrenivåer, var det ingen som skilte seg betraktelig ut med en sterk årsakssammenheng. Dette gjaldt ulike sykdomsgrupper, hold, alder og kjønn. Likevel ble det observert en interessant trend i fordøyelsesgruppen hvor miniatyraserne hadde høyere basalgallesyrenivåer enn kontrollrasene, til tross for at de alle hadde lignende symptomer.

## **Takk til bidragsyttere**

Vi vil rette en stor takk til våre veiledere Heidi Sjetne Lund og Ellen Skancke for god rettleiding og hjelp underveis i oppgaveskrivingen. En stor takk rettes også til Louise Risholm Bauer-Nilsen fra skrivesenteret på NMBU, som har hjulpet oss med statistikken og datafremstillingen i oppgaven. Til slutt vil vi takke NMBU Dyresykehuset-smådyr for tilgang til data og journaler.

## **Summary**

*Title:* Does miniature dog breeds have high bile acid levels in serum without detectable portosystemic shunt or other liver disease?

*Authors:* Synne Nornes Bryntesen & Hedda Broby Follaug

*Supervisor:* Ellen Skancke & Heidi Sjetne Lund, Department of Companion Animal Clinical Sciences.

This study investigated whether miniature dog breeds had high bile acid levels in serum, without being able to diagnose portosystemic shunt (PSS) or other liver disease. Bile acid levels in the miniature dog breeds chihuahua and pomeranian, and the control breeds border collie and English setter, obtained from the patient record system of NMBU Small Animal Clinic were compared. Blood analysis results were collected from 201 individuals, of which 50 were chihuahuas, 52 pomeranians, 49 border collies and 50 English setters. Basal bile acid levels were above 10  $\mu\text{mol/L}$  in 34% of chihuahuas, 28.8% of pomeranians, 12.2% of border collies and 8% of English setters. Correspondingly, 24%, 17.3%, 4.1% and 2% of the basal bile acid levels were above 25 $\mu\text{mol/L}$ . Statistically significant differences were observed between the miniature breeds and the control breeds ( $p = <0.001$ ), between English setter and chihuahua ( $p = <0.001$ ), between English setter and pomeranian ( $p = 0.001$ ) and between border collie and English setter ( $p = 0.023$ ). No statistically significant differences were observed between border collie and chihuahua ( $p = 0.066$ ), border collie and pomeranian ( $p = 0.434$ ) and chihuahua and pomeranian ( $p = 0.776$ ). These results suggest that one should be more careful in interpreting basal bile acid levels in these miniature dog breeds, and that breed specific reference values may be of interest.

## Referanser

- Agg, E. J. (2006). Acquired extrahepatic portosystemic shunts in a young dog. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 47 (7): 697-699.
- Bertolini, G. (2019). Anomalies of the Portal Venous System in Dogs and Cats as Seen on Multidetector-Row Computed Tomography: An Overview and Systematization Proposal. *Vet Sci*, 6 (1). doi: 10.3390/vetsci6010010.

- Cornell University. (2021). *Clinical Pathology Panels and Guidelines*. Tilgjengelig fra: <https://www.vet.cornell.edu/animal-health-diagnostic-center/testing/protocols/clinical-pathology> (lest 03.04.2022).
- Cornell University. (u.å.-a). *Bile acids*. Tilgjengelig fra: <https://eclinpath.com/chemistry/liver/liver-function-tests/bile-acids/> (lest 25.01.2022).
- Cornell University. (u.å.-b). *Liver injury*. Tilgjengelig fra: <https://eclinpath.com/chemistry/liver/liver-injury/> (lest 27.01.2022).
- Ettinger, S. J., Feldman, E. C. & Côté, E. (2017). Hepatic vascular anomalies. I: b. 2 *Textbook of Veterinary Internal Medicine* s. 639-1647. Missouri: Elsevier.
- Idowu, O. & Heading, K. (2018). Hypoglycemia in dogs: Causes, management, and diagnosis. *Can Vet J*, 59 (6): 642-649.
- Lawrence, Y. A. & Steiner, J. M. (2017). Laboratory Evaluation of the Liver. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 47 (3): 539-553. doi: 10.1016/j.cvsm.2016.11.005.
- Løberg, G. (2018). *Miniatyrhunder*. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/miniatyrhunder?fbclid=IwAR2pqXCVXxfyC1CQDsxuiLPldy1bnSqJIABXH-H4sbrTYDTm-9x0f1Lsa4> (lest 05.05.2022).
- Mankin, K. M. (2015). Current concepts in congenital portosystemic shunts. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 45 (3): 477-87. doi: 10.1016/j.cvsm.2015.01.008.
- Mills, G. (2021). Smaller dog breeds more likely to suffer dental disease. *Vet Rec*, 189 (8): 308-309. doi: 10.1002/etr.1093.
- Nelson, N. C. & Nelson, L. L. (2011). Anatomy of extrahepatic portosystemic shunts in dogs as determined by computed tomography angiography. *Vet Radiol Ultrasound*, 52 (5): 498-506. doi: 10.1111/j.1740-8261.2011.01827.x.
- Nelson, R. W., Couto, C. G., Couto, K. M., Hawkins, E. C., Taylor, S. M., Westropp, J. L., Davidson, A. P., Lappin, M. R., Ward, J. L., Willard, M. D., et al. (2020a). Diagnostic Tests for the Hepatobiliary and Pancreatic System. I: *Small Animal Internal Medicine*, s. 532-541. Canada: Elsevier
- Nelson, R. W., Couto, C. G., Couto, K. M., Hawkins, E. C., Taylor, S. M., Westropp, J. L., Davidson, A. P., Lappin, M. R., Ward, J. L., Willard, M. D., et al. (2020b). Hepatobiliary Diseases in the Cat. I: *Small Animal Internal Medicine*, s. 577-579. Canada: Elsevier.

- Nelson, R. W., Couto, C. G., Couto, K. M., Hawkins, E. C., Taylor, S. M., Westropp, J. L., Davidson, A. P., Lappin, M. R., Ward, J. L., Willard, M. D., et al. (2020c). Hepatobiliary Diseases in the Dog. I: *Small Animal Internal Medicine*, s. 603-611. Canada: Elsevier.
- NKK. (2021). *Topp 25 Populære hunderaser i Norge i 2021*. Tilgjengelig fra: [https://www.nkk.no/getfile.php/132456960-1642237413/Dokumenter/Om%20NKK/Organisasjonen/Statistikk/Topp%2025%20registrerte%20raser%20i%20Norsk%20Kennel%20Klubs%20registre%20i%202021.pdf?fbclid=IwAR3f00EjrxxalOcsiRLC3W5QUI7Gulmyfbp\\_vYs9GZppp3pc-WxVUIFRSMc](https://www.nkk.no/getfile.php/132456960-1642237413/Dokumenter/Om%20NKK/Organisasjonen/Statistikk/Topp%2025%20registrerte%20raser%20i%20Norsk%20Kennel%20Klubs%20registre%20i%202021.pdf?fbclid=IwAR3f00EjrxxalOcsiRLC3W5QUI7Gulmyfbp_vYs9GZppp3pc-WxVUIFRSMc) (lest 05.05.2022).
- NKK. (u.å.-a). *Border collie*. Tilgjengelig fra: [https://www.nkk.no/raser/border-collie-article8160-815.html?fbclid=IwAR3kZtU9ISJkGrGo\\_GPMBSnHCeI66oUrcuZZYNOhw0gA-8\\_WlmfztRsUd6g](https://www.nkk.no/raser/border-collie-article8160-815.html?fbclid=IwAR3kZtU9ISJkGrGo_GPMBSnHCeI66oUrcuZZYNOhw0gA-8_WlmfztRsUd6g) (lest 05.05.2022).
- NKK. (u.å.-b). *Engelsk setter*. Tilgjengelig fra: <https://www.nkk.no/raser/engelsk-setter-article8172-815.html?fbclid=IwAR29Yyg3eg0AKLyAtq-GsJ8wdv4ET3EBUGB-qTAQ9adcTSw7ZTvBBiKNLdA> (lest 05.05.2022).
- Penlington, L. & Faixová, Z. (2019). Periodontal Disease in Association with Systemic Diseases in the Dog. *Folia Veterinaria*, 63 (4): 1-8. doi: doi:10.2478/fv-2019-0031.
- Richter, K. (2008). *Drug-Induced Hepatopathies*. Tilgjengelig fra: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pld=11254&id=3862882&print=1> (lest 03.04.2022).
- Ruland, K., Fischer, A. & Hartmann, K. (2010). Sensitivity and specificity of fasting ammonia and serum bile acids in the diagnosis of portosystemic shunts in dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 39 (1): 57-64. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2009.00178.x>.
- Schlesinger, D. P. & Rubin, S. I. (1993). Serum bile acids and the assessment of hepatic function in dogs and cats. *Can Vet J*, 34 (4): 215-20.
- Sentrallaboratoriet. (2016). *Referanseområder for sports og familiedyr - Hund*. Tilgjengelig fra: <https://www.sentrallaboratoriet.no/referanseomrader-hund/> (lest 03.04.2022).

- Sjaastad, Ø. V., Sand, O. & Hove, K. (2016). The Digestive System. I: *Physiology of Domestic Animals*, s. 693-696. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Skåncke, E. (2022a). *Nyeste versjon* (e-post til Heidi S. Lund, Synne N. Bryntesen og Hedda B. Follaug 07.05.2022).
- Skåncke, E. (2022b). *Revidert innledning ++* (e-post til Heidi S. Lund, Synne N. Bryntesen og Hedda B. Follaug 12.04.2022).
- Staley, C., Weingarden, A. R., Khoruts, A. & Sadowsky, M. J. (2017). Interaction of gut microbiota with bile acid metabolism and its influence on disease states. *Appl Microbiol Biotechnol*, 101 (1): 47-64. doi: 10.1007/s00253-016-8006-6.
- Tisdall, P. L., Hunt, G. B., Tsoukalas, G. & Malik, R. (1995). Post-prandial serum bile acid concentrations and ammonia tolerance in Maltese dogs with and without hepatic vascular anomalies. *Aust Vet J*, 72 (4): 121-6. doi: 10.1111/j.1751-0813.1995.tb15029.x.
- Watson, P. (2017). Canine Breed-Specific Hepatopathies. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 47 (3): 665-682. doi: 10.1016/j.cvsm.2016.11.013.
- You, I. & Kim, M. J. (2021). Comparison of Gut Microbiota of 96 Healthy Dogs by Individual Traits: Breed, Age, and Body Condition Score. *Animals (Basel)*, 11 (8). doi: 10.3390/ani11082432.



Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
67 23 00 00  
[www.nmbu.no](http://www.nmbu.no)