



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Fakultet for veterinærmedisin og biovitenskap
Institutt for sports- og familiedyrmedisin
Seksjon for smådyrsykdommer

Fordypningsoppgave 2022, 15 stp

Fordypning smådyr

Proteinuri hos hunder som behandles med immunsupprimerende doser prednisolon for immunmedierte lidelser

Proteinuria in dogs treated with immunosuppressive doses of prednisolon for immunemediated disorders

Forfattere: Camilla Falla og Kristine Rambøl Hagen
Kull 2016

Veiledere: Heidi Sjetne Lund og Sivert Nerhagen

Innhold

FORORD	5
SAMMENDRAG	6
DEFINISJONER OG FORKORTELSER	7
INNLEDNING	9
<i>PROTEINURI</i>	9
<i>NYRENES ANATOMI OG FYSIOLOGI</i>	9
<i>LOKALISERING AV PROTEINURIEN</i>	11
<i>PRERENALE</i>	11
<i>RENALE</i>	11
<i>POSTRENALE</i>	12
<i>IMMUNITET</i>	13
<i>HYPERSENSITIVITET</i>	15
<i>AUTOIMMUNITET</i>	15
<i>IMMUNMEDIERT HEMOLYTISK ANEMI (IMHA)</i>	15
<i>IMMUNMEDIERT TROMBOCYTOPENI (ITP)</i>	16
<i>IMMUNMEDIERT POLYARTRITT (IMPA)</i>	16
<i>STEROID RESPONSIV MENINGITT-ARTERITT (SRMA)</i>	17
BEHANDLING AV IMMUNMEDIERTE LIDELSER	17
<i>GLUKOKORTIKOIDERS EFFEKT PÅ IMMUNFORSVARET</i>	18
HYPERADRENOKORTISISME	20
FORMÅL	21
<i>MÅLET MED OPPGAVEN</i>	21
<i>UNDERSPØRSMÅL</i>	21

<u>MATERIALE OG METODER</u>	22
<i>MATERIALE</i>	22
<i>METODER</i>	23
<i>DIPSTICK</i>	24
<i>UPC-RATIO</i>	25
<i>MIKROALBUMINURI</i>	25
<u>RESULTATER</u>	26
<i>FIGUR 1:</i>	28
<i>FIGUR 2:</i>	29
<i>TABELL 1:</i>	30
<i>TABELL 2:</i>	32
<i>TABELL 3:</i>	33
<i>TABELL 4:</i>	34
<i>TABELL 5:</i>	35
<i>UTVIKLING AV PROTEINURI BASERT PÅ FØRSTE OG SISTE MÅLING</i>	35
<i>FIGUR 3:</i>	36
<i>FIGUR 4</i>	37
<i>UTVIKLING AV PROTEINURI HOS PASIENTENE MED URINPRØVE FØR OPPSTART</i>	37
<i>KJØNN</i>	38
<i>ALDER</i>	39
<i>RASER</i>	39
<i>DOSERING</i>	40
<u>DISKUSJON</u>	41
<i>PROTEINURI FØR OPPSTART</i>	41
<i>UTVIKLING AV PROTEINURI</i>	42

KJØNN	43
ALDER	43
RASER	44
DOSERING	44
DIAGNOSER	45
INKLUSJONSKRITERIER	45
SVAKHETER VED DENNE OPPGAVEN	45
VÅRE FUNN SAMMENLIGNET MED TIDLIGERE FUNN	46
KONKLUSJON	50
TAKK TIL BIDRAGSYTERE	51
SUMMARY	52
REFERANSER	53
VEDLEGG	57
VEDLEGG 1: LAPP HENGT OPP I KLINIKK	58

Forord

Vi er to veterinærstudenter med fordypning smådyrmedisin og produksjonsdyrmedisin med stor interesse for nefrologi. Gjennom vår veterinærmedisinske utdanning har vi begge to funnet nefrologi komplisert og interessant. Valget av oppgaven var derfor enkel; det gav oss muligheten til å få en bedre forståelse av nettopp nefrologi, hvordan og hvorfor proteinuri oppstår og undersøke om det kan være en sammenheng mellom behandling med prednisolon og utvikling av proteinuri.

Det er sett at hunder med hyperadrenokortisisme kan utvikle blant annet systemisk hypertensjon, proteinuri og glomerulær sklerose (García et al., 2020). Det er også vist i eksperimentelle studier at syntetiske glukokortikoider kan forårsake proteinuri (Schellenberg et al., 2008, Waters et al., 1997) og det er derfor interessant å se om det samme gjelder i en pasientpopulasjon som behandles med høye doser prednisolon.

Sammendrag

Tittel: Proteinuri hos hunder som behandles med immusupprimerende doser av prednisolon for immunmedierte lidelser

Forfattere: Camilla Falla og Kristine Rambøl Hagen

Veileder: Heidi Sjetne Lund og Sivert Nerhagen, Institutt for sports- og familiedyrmedisin. Seksjon for smådyrsykdommer.

Hensikten med denne oppgaven var å vurdere om prednisolonbehandling hos hund kan være årsak til proteinuri ved immunsupprimerende doser eller om det kan være andre årsaksfaktorer som har gitt proteinuri til disse pasientene. Oppgaven skulle i utgangspunktet være en prospektiv studie der vi fulgte pasienter ved NMBU Dyresykehuset Smådyr som ble foreskrevet prednisolon for immunmedierte lidelser. Vi klarte dessverre ikke å få inkludert et høyt nok antall pasienter, på grunn av manglende antall pasienter med immunmedierte lidelser i dette tidsrommet. Oppgaven ble forandret til en retrospektiv studie der vi fant gamle journaler fra NMBU Dyresykehuset Smådyr med pasienter som ble behandlet med immunsupprimerende doser prednisolon for immunmedierte lidelser. Datamaterialet bestod av 27 hunder fra 1 til 11 år av 24 ulike raser. Resultatene våre viste ingen tydelige tegn på at prednisolon førte til proteinuri. Dette var blant annet fordi 12 av 27 hunder hadde proteinuri før oppstart av behandling og for flere hunder var det kun tatt en urinprøve og det var derfor ikke mulig å se om det ble stigning eller nedgang i proteinuri hos disse hundene. Hos de hundene hvor vi hadde to eller tre urinprøver å sammenlikne var det om lag like mange som hadde en økning som hadde en nedgang i proteinuri i løpet av behandlingen. Det er en rekke ulike faktorer som skaper støy i datamaterialet og det er derfor ikke mulig å dra noen konklusjon om hva proteinurien skyldes. Da det er så mange som har proteinuri ved oppstart

av behandling kan det gi en mistanke om at det kan være selve lidelsen som er årsaken bak proteinuri hos pasienter med immunmedierte lidelser.

Definisjoner og forkortelser

Homeostase	Opprettholdelse av et stabilt indre miljø
Ioner	Atomere eller molekyler med en elektrisk ladning
Oralt inntak	Inntak av en substans via munnen
Prerenal	Før nyrene
Renal	Noe som har noe med nyrene å gjøre
Glomerulus	En del av den funksjonelle enheten i nyret som filtrerer blodet
Tubuli	Et sett av rør i nyret som samler med seg det som blir urin mot nyrebekkenet
Postrenal	Etter nyrene
Urolithiasis	Urinstein som befinner seg i nyret, ureter, blære eller uretra
Neoplasi	Kreft
Afferent	Tilførende
Efferent	Fraførende

Elektrolytter	Vannløselige ioner
Fenestrert endotel	Endotel med hull eller porer
Peptider	Korte aminokjeder bundet med peptidbindinger
Proksimal	Noe som ligger nærmere kroppens midtlinje eller sentrum
Distal	Det motsatte av proksimal, noe som ligger lenger vekk fra kroppens midtlinje
Proteinosmotisk trykk	Trykket som skyldes mengde og størrelse på proteiner i en løsning
Angiotensin II	Et molekyl som regulerer blodtrykk og væskebalanse i kroppen
Autoregulering	Et system i blodårene i nyrene som regulerer blodtrykk for å øke eller minke filtrasjon i nyrene
Hemolyse	Destruksjon av røde blodceller
Rhabdomyolyse	En sykdomstilstand der det oppstår akutt ødeleggelse av tverrstripet muskulatur
Dalton	Enhet oppkalt etter naturvitenskapsmannen John Dalton. Brukes for å betegne atom- eller molekylmassen i en enhet
Endocytose	En mekanisme cellene bruker for å ta opp et materiale
nm	Nanometer. Måleenhet for lengde. Tilsvarende en milliarddels meter eller 10^{-9} meter

Innledning

Proteinuri

Nyrenes oppgaver er å kvitte seg med avfallsstoffer og fremmedstoffer fra blodet, regulere kroppens innhold av vann, ioner og regulere syre-basebalansen for å opprettholde homeostase (Sjaastad et al., 2010). Nyrene har også en sentral rolle i reguleringen av blodtrykk og produserer en rekke hormoner (Sjaastad et al., 2010). Normalt vil det kun skilles ut minimale mengder med proteiner i urinen. Høyere proteinnivåer, som overskrider de fysiologisk normalt forekommende mengdene som skilles ut i urinen, defineres som proteinuri (Sjaastad et al., 2010). Årsakene til hvorfor proteinuri oppstår er mange og kan deles inn i prerenale, renale og postrenale årsaker (Blaine, 2016). Prerenal proteinuri kan for eksempel forekomme ved hyperproteinemi og hypertensjon. Renale årsaker deles inn i glomerulær- eller tubulærdysfunksjon. Postrenale årsaker til proteinuri kan for eksempel være infeksjoner i nedre urinveier, neoplasi eller urolithiasis (Blaine, 2016).

Nyrenes anatomi og fysiologi

Nefronet er nyrenes funksjonelle enhet (Sjaastad et al., 2010). Nefronet består av en slynge med kapillærer eller kapillærnettverk som filtrerer blodet og kalles glomerulus, Bowmans kapsel, som er en kapsel som omfavner glomerulus og et rørsystem kalt tubulisystemet (Sjaastad et al., 2010). Blodet kommer til nyrene via arteria renalis, som deler seg i mindre arterioler, afferente og efferente arterioler. Blodet vil strømme gjennom afferent arteriole til glomerulus for så å gå over i efferent arteriole. Filtrasjonen av proteiner vil i stor grad skje i glomerulus da de afferente arteriolene har større diameter enn de efferente arteriolene slik at det hydrostatiske trykket i glomerulus blir høyt (Sjaastad et al., 2010). Det høye trykket fører til at væske, elektrolytter og avfallsstoffer filtreres ut av blodbanen, mens celler og de fleste

proteiner holdes tilbake. Filtratet som havner i Bowmans-rom kalles råurin. Råurin er et resultat av filtrasjon som foregår over tre lag. Filtrasjonsbarrieren består av; fenestrert endotel, glomerulær basalmembran og et spesialisert epitellag kalt podocytter. Filteret er negativt ladet, slik at kun små positivt ladde proteiner vil kunne slippe gjennom. Proteiner over cirka 69 000 Dalton holdes tilbake på grunn av oppbygningen av barrieren og da spesielt de aller minste porene som finnes mellom podocytene (Sjaastad et al., 2010). Det glomerulære filteret er altså en effektiv barriere for større proteiner, mens peptider og små mengder albumin vil i normalt fungerende nyrer kunne slippe gjennom (Sjaastad et al., 2010).

Fra glomerulus går råurinen videre til nyretubuli, som er et rørsystem bestående av en proksimal og en distal del og det er her sekresjon og reabsorpsjon av blant annet elektrolytter, glukose, vann, og aminosyrer skjer, men også noe reabsorpsjon av små mengder proteiner som har sluppet gjennom den glomerulære filtrasjonsbarrieren (Sjaastad et al., 2010).

Proteinene vil i stor grad bli reabsorbert i proksimale tubuli via endocytose, men overskrides denne kapasiteten oppstår proteinuri. Urinen går videre gjennom distale tubuli over i samlerør og samlerørene slår seg sammen til å bli større og ender til slutt i nyrebekkenet som fører urinen videre til urinlederen (Sjaastad et al., 2010). Mengden råurin som filtreres inn i Bowmans kapsel per tidsenhet kalles for glomerulær filtrasjonsrate (GFR) (Sjaastad et al., 2010). Glomerulær filtrasjonsrate bestemmes av perfusjon av nyrene, proteinosmotisk og hydrostatisk trykk i kapillærene i glomeruli og samlet filtrasjonsoverflate. Både det proteinosmotiske trykket og det hydrostatiske trykket kan reguleres for å tilfredsstille kroppens behov. Faktorer som er med på å regulere GFR er autoregulering, angiotensin II og det sympatiske nervesystemet (Sjaastad et al., 2010). Reguleringen av GFR er komplisert. Mer inngående beskrivelse av reguleringen av GFR faller utenfor denne oppgavens rammer.

Lokalisering av proteinurien

Proteinuriens opphav deles inn i prerenale, renale og postrenale årsaker (Blaine, 2016).

Prerenale

Prerenale årsaker til proteinuri kan være systemisk hypertensjon eller hyperproteinemi som fører til overbelastning av glomerulus. Det er flere patofysiologiske tilstander som kan føre til frigjøring av små nok proteiner som vil kunne krysse filtrasjonsbarrieren i glomerulus og føre til prerenal proteinuri (Vaden & Elliott, 2016). Noen av disse tilstandene er hemoglobinuri som ses ved hemolyse ved for eksempel IMHA, myoglobinuri som ses ved rhabdomyolyse eller immunoglobuliner i urinen fra for eksempel plasmacellekreft (Vaden & Elliott, 2016).

Renale

Renal proteinuri kommer av unormal nyrefunksjon som fører til proteinuri, til tross for normale mengder plasmaproteiner (Vaden & Elliott, 2016). Det er flere årsaker til renal proteinuri; fysiologiske eller patologiske, som videre deles inn i hvor proteinene lekker fra. Fysiologisk renal proteinuri er proteinuri som skyldes endret nyrefysiologi under eller i respons på forbigående fenomener, som anfall, svært hard trening, og feber. Det er viktig å påpeke at når den fysiologiske årsaken til proteinurien er borte vil også proteinurien opphøre. Proteinurien som sees grunnet fysiologiske årsaker er også ofte mild (Blaine, 2016).

Patologisk renal proteinuri er proteinuri som skyldes strukturelle eller funksjonelle lesjoner i nyrene, uavhengig av varighet eller omfang. Renale årsaker til proteinuri kan deles inn i glomerulære eller tubulære defekter (Blaine, 2016). Glomerulære defekter kan skyldes skader

på den glomerulære filtrasjonsbarrieren og fører til at filtrasjonen ikke fungerer normalt. Grad av proteinuri har en sammenheng med omfanget av skaden på glomerulus, samt antall glomerulus som er skadet (Blaine, 2016). Skader på glomerulus kan potensielt føre til store mengder proteiner i urinen, sammenlignet med tubulær skade. Porene i endotelcellene er 60-100 nm i bredde, slik at teoretisk sett vil små proteiner slik som albumin som er rundt 3,5 nm i diameter kunne slippe gjennom endotelcellenes porer, men den negative ladningen i endotelcellene vil i stor grad bidra i å hindre at albumin slipper gjennom (Blaine, 2016). Den glomerulære basalmembranen binder endotelcellene til podocytterne og fungerer blant annet ved å gjøre den glomerulære filtrasjonsbarrieren mer robust (Blaine, 2016). Podocytterne og deres spaltemembran spiller en sentral rolle i barrieren og dersom det oppstår skader her vil store mengder proteiner kunne slippe gjennom (Blaine, 2016).

Tubulær proteinuri skyldes lesjoner som hindrer tubulær reabsorpsjon av plasmaproteiner. Dette gjelder normalt små proteiner slik som albumin. Da det er svært lite protein som slipper gjennom den glomerulære filtrasjonsbarrieren og blir reabsorbert i proksimale tubuli vil skader i tubuli kun føre til at relativt små mengder protein ender i urinen. Renal interstitiell proteinuri skyldes sykdomsprosesser som fører til sekresjon av proteiner fra interstitiet og fra peritubulære kapillærer inn i urinen (Blaine, 2016).

Postrenale

Postrenal proteinuri kjennetegnes av proteiner som lekker ut i urinen etter at urinen har nådd nyrebekkenet. Disse proteinene stammer fra sykdomsprosesser som forårsaker blødning eller eksudasjon fra veggene i urinveiene, for eksempel fra nyrebekken, urinleder, urinblære eller urinrør og da spesielt inkludert urinrøret ved prostata hos hannhund. Postrenal proteinuri kan

også skyldes lekkasje av proteiner fra sykdomsprosesser i genitaltraktus og/eller ytre kjønnsorganer (Blaine, 2016).

Immunitet

Immunforsvarets jobb er å forsvare kroppen mot sykdom. Den medfødte delen av immunforsvaret utvikles i fosterlivet og består av et førstelinjeforsvar som fungerer som en barriere med mindre spesialiserte fagocytter som for eksempel nøytrofile og makrofager. Det medfødte immunforsvaret er også viktig i aktivering av den ervervede delen av immunforsvaret (Abbas et al., 2014).

Den ervervede delen av immunforsvaret aktiveres og spesialiseres ettersom kroppen utsettes for agens. Den ervervede delen av immunforsvaret består av lymfocytter som differensierer seg til spesialiserte celler som orkestrerer eliminasjonen av patogener eller produserer antistoffer som gjenkjenner spesifikke antigener. Det ervervede immunforsvaret kan deles grovt inn i to deler; humoral immunitet og cellulær immunitet. Humoral immunitet er mediert av B-celler. Aktiverte B-celler, plasmaceller, produserer antistoffer som slippes direkte ut i sirkulasjonen eller lokalt i væsken i slimhinner. Antistoffer nøytraliserer og fjerner mikrober eller toksiner som ligger utenfor cellene og kan på denne måten hindre en infeksjon allerede før den har fått etablert seg, hindre videre spredning av en etablert infeksjon eller øke evnen til andre deler av immunforsvaret til å eliminere en infeksjon (Abbas et al., 2014).

Den cellulære immuniteten, derimot, består av T-celler og dens undergrupper av spesialiserte celler. T-celler har evnen til å øke en betennelsesprosess eller dempe den. Med andre ord har forskjellige T-celler forskjellige roller i orkestreringen av immunresponsen. For eksempel kan noen T-celler forårsake aktivering av fagocytter eller forårsake ødeleggelse av infiserte celler

(for eksempel fra virus) mens andre T-celler (T-regulatoriske celler) vil dempe en betennelse og bidra til toleranse for kroppseget vev (Abbas et al., 2014).

Felles mellom de humorale og cellulære delene av det ervervede immunsystemet er at B- og T-cellene må lære seg hva som er kroppseget og hva som er fremmed (Abbas et al., 2014). Denne selvtoleransen skal B- og T-cellene lære i modningsprosessen. De lymfocytterne som reagerer på eget vev skal drepes og elimineres (Sjaastad et al., 2010), men noen ganger skjer det altså en feil under denne modningsprosessen. Denne feilen vil føre til at kroppen vil angripe et kroppseget antigen som igjen vil føre til ødeleggelse av for eksempel en type vev. Dette kalles autoimmunitet, da ordet auto betyr selv; «selv-immunitet». Det er mye som ikke er fullstendig forstått om hvorfor autoimmunitet utvikler seg, men triggere som er angitt til å kunne bidra til utviklingen av autoimmunitet er infeksjoner, medisiner, toksiner og muligens vaksiner. Det er også sett en tydelig familiær predisposisjon humant; Et barn med en forelder som har en autoimmun sykdom, er fem ganger mer sannsynlig å utvikle en autoimmun sykdom (Wahren-Herlenius & Dörner, 2013).

I veterinærmedisin er det også sett helt klare rase-predisposisjoner for utvikling av enkelte autoimmune sykdommer (Ehrensperger, 2018). Et eksempel på en autoimmun sykdom som affiserer den humorale delen av immunforsvaret er immunmediert hemolytisk anemi (IMHA). Ved denne tilstanden produserer B-cellene antistoffer mot kroppens egne røde blodceller, noe som fører til ødeleggelse (hemolyse) av erytrocyttene (Felippe, 2017).

Et eksempel på en autoimmun sykdom som angår den cellulære immuniteten er diabetes mellitus type 1. Ved denne sykdommen angriper immunforsvarets T-celler beta-cellene i

bukspyttkjertelen som er ansvarlig for å produsere insulin. Dette resulterer i manglende produksjon av insulin og utviklingen av hyperglykemi og glukosuri (Sjaastad et al., 2010).

Hypersensitivitet

Hypersensitivitet er en tilstand der immunforsvaret reagerer sterkere enn det som er normalt mot et spesifikt agens. Den forsterkede reaksjonen fra immunforsvaret kan føre til skade eller sykdom. Hypersensitivitet kan forekomme i en reaksjon mot fremmede antigener eller i en reaksjon mot egne (autologe) antigener. Hypersensitivitetsreaksjoner klassifiseres etter hvilke mekanismer i immunforsvaret som er ansvarlige for skaden og deles inn i fire ulike reaksjoner; umiddelbar, antistoffmediert, immunkompleksmediert og T-cellemediert reaksjon (Abbas et al., 2014).

Autoimmunitet

Autoimmunitet er en form for hypersensitivitet og defineres som en immunrespons rettet mot kroppsegne antigener. Dette fører til at immunsystemet angriper disse vevene eller cellene, noe som kan gi alvorlige vevsskader og kan ved noen tilfeller være livstruende. Autoimmune sykdommer kan enten være medfødt, ervervet eller en kombinasjon av begge (Nelson & Couto, 2014). Hos hund er det beskrevet flere forskjellige typer autoimmune sykdommer, deriblant immunmediert hemolytisk anemi, trombocytopeni, polyartritt og steroid-responsiv meningitt-arteritt.

Immunmediert hemolytisk anemi (IMHA)

Immunmediert hemolytisk anemi er en sykdomstilstand der anemi forekommer grunnet hemolyse. Immunmediert hemolytisk anemi er en form for antistoffmediert

hypersensitivitetsreaksjon og kan enten være en primær IMHA der egne antistoffer er rettet mot antigenet i membranen til røde blodceller som fører til at immunforsvaret angriper disse uten en underliggende årsak, eller det kan være en sekundær hemolytisk anemi der annen sykdom fører til produksjon av antistoffer mot antigener som likner erytrocyttantigener (kryssreaksjon) eller direkte påvirker kroppsegen toleranse. Primær IMHA oppstår hovedsakelig alene, men kan forekomme i polyautoimmune sykdommer som systemisk lupus erythematosus (SLE), eller kombinert med immunmediert trombocytopeni (Evan's syndrom). Sekundær IMHA kan oppstå sekundært til for eksempel neoplastiske eller infeksiose tilstander (Nelson & Couto, 2014).

Immunmediert trombocytopeni (ITP)

Immunmediert trombocytopeni er et resultat av antistoffmediert forøket destruksjon av trombocytter og er den vanligste årsaken til alvorlig trombocytopeni hos hund. Immunmediert trombocytopeni deles inn i primær og sekundær form, slik som IMHA. Det er funnet sammenheng med at stress, forandringer i omgivelsestemperatur, hormonelle forandringer, vaksinerings og kirurgi kan bidra til å utvikle ITP (Nelson & Couto, 2014).

Immunmediert polyartritt (IMPA)

Immunmediert polyartritt defineres som kronisk synovial inflammasjon i to eller flere ledd. Sykdommen regnes som en autoimmun sykdom forårsaket av en immunkompleksmediert hypersensitivitetsreaksjon der immunkomplekser havner i synovialmembranen og fører til lokal inflammasjon. Kategorisering av IMPA i primær og sekundær gjøres som ved IMHA og ITP. Diagnose av primær IMPA stilles ved å utelukke andre systemiske årsaker i tillegg til lokal sykdom eller agens i leddene (Johnson & Mackin, 2012). Funn av mulige triggere vil karakterisere IMPAen som sekundær. (Nelson & Couto, 2014).

Steroid responsiv meningitt-arteritt (SRMA)

Steroid responsiv meningitt-arteritt er en vanlig systemisk immunmediert sykdom hos unge hunder. Sykdommen gir inflammasjon av meningeene og de assosierte arteriene (Giraud et al., 2021). Etiologien rundt sykdommen er fortsatt ukjent, men man har sett at det er økt prevalens av sykdommen hos visse hunderaser (Lau et al., 2019). Patogenesen er og uklar, men en studie foreslår at SRMA har en kompleks patogenese som involverer både B- og T-cellereaksjoner mot endotelceller (Maiolini et al., 2013), som kan være en form for T-cellemediert hypersensitivitet. Det finnes ikke en enkelt diagnostisk test for å stadfeste sykdommen, men kliniske symptomer, funn av forøkede akutfaseproteiner og analyse av CSF er brukt for å utelukke mulige differensialdiagnoser. Effekt av immunsuppressiv behandling er også angitt til å støtte diagnosen (Maiolini et al., 2013)

Behandling av immunmedierte lidelser

Immunsuppressive medisiner er hovedsakelig det som benyttes til behandling av immunmedierte lidelser. Målet med behandlingen er å stoppe den unormale immunreaksjonen som forårsaker symptomene som ses ved de forskjellige sykdommene. Det finnes forskjellige beskrevne behandlingsregimer, men innledningsvis er høye doser av glukokortikoider ofte valgt fordi de er effektive, hurtigvirkende og er assosiert med lave kostnader. Oral administrasjon av prednisolon gir rask absorpsjon fra gastrointestinal-traktus (GIT), doseavhengig plasmakonsentrasjon, og halveringstiden ligner på den biologiske halveringstiden av endogene glukokortikoider og er derfor et godt alternativ (Nelson & Couto, 2014). Ved tilfeller der hunden ikke har appetitt er intravenøs injeksjon av glukokortikoidet deksametason et alternativ (Swann, Garden et al., 2019).

Den antiinflammatoriske effekten av kortikosteroider korrelerer med deres glukokortikoide aktivitet (Nelson & Couto, 2014). Sammenlignet med langtidsvirkende deksametason som har meget høyt antiinflammatorisk potensiale, har prednisolon et lavere antiinflammatorisk potensiale (Nelson & Couto, 2014), men det vil være enklere å regulere dosering (og ofte mindre bivirkninger) med prednisolon da den blant annet har kortere halveringstid.

Glukokortikoiders effekt på immunforsvaret

En immunreaksjon starter når en eller flere immunceller kommer i kontakt med et agens eller antigen som ikke er eller oppfattes som kroppseget. Glukokortikoider hemmer store deler av immunforsvaret og demper immunreaksjoner. Det medfødte immunforsvaret hemmes ved å dempe makrofagers- og nøytrofiles evne til å fagocyttere agens. Glukokortikoider hemmer også kjemotaksis, som er rekruttering av nye immunceller. Resultatet av dette gir nedsatt nøytrofil marginering og migrering (Nelson & Couto, 2014).

En annen del av det medfødte immunforsvaret som hemmes er komplementsystemet. Komplementsystemet består av frie proteiner som produseres i lever og som sirkulerer i blodet. Disse proteinene bidrar til bekjempelse av fremmede antigen ved å feste seg på fremmede antigen, rekrutterer nye proteiner og etter hvert celler som hjelper til med å eliminere det komplement proteinene har markert. I leveren syntetiseres også prostaglandiner og leukotriener som er signalstoffer for rekruttering av enda flere immunceller. Denne syntesen blir også nedsatt ved inntak av glukokortikoider (Nelson & Couto, 2014).

Det ervervede immunforsvaret dempes ved nedsatt lymfocytproliferasjon, nedsatt antall sirkulerende lymfocytter, nedsatt produksjon av T-celle cytokiner og nedsatt cellulær respons

på inflammatoriske agens. In vitro studier har også vist induksjon av lymfocyttaoptose (Nelson & Couto, 2014). På denne måten forstår man at en ulempe ved bruk av glukokortikoider er at kroppen blir mer sårbar mot reelle infeksjoner, samtidig som det viser effektiviteten ved medisinen til behandling av autoimmune sykdommer.

Ved kortvarig behandling med glukokortikoider vil kroppens normale tilstand gjenetableres relativt raskt. Dersom pasienten trenger lengre behandling med bruk av glukokortikoider er det rapportert en rekke bivirkninger. Eksempler på dette er symptomer forenlig med iatrogen hyperadrenokortisme, som polyuri, polydipsi, pesing, muskelsvakhet, hudforandringer, predisponering for infeksjoner og muskelatrofi (Nelson & Couto, 2014). Andre bivirkninger som er rapportert er blødninger i GIT, insulinresistens, hyperglykemi, vakuolær hepatopati, hyperkoagulabilitet og proteinuri (Nelson & Couto, 2014).

Toleransen mot behandling med glukokortikoider varierer mellom hvert enkelt individ og det ser ut til at hunder av større raser kan få for høye doser ved bruk av milligram per kilo som utgangspunkt for dosering enn hunder av små raser (Nam et al., 2017) og at hunder generelt er mer sensitive enn katter (Lowe et al., 2008). Strategien for å minimere bivirkninger er å bruke laveste dose med effekt, men også korttidsvirkende glukokortikoider fremfor de mer langtidsvirkende. For best mulig resultat induseres gjerne behandlingen med høye doser og deretter trappes dosen ned gradvis (Miller, 1992). Det er også vist at dosering en gang daglig gir færre bivirkninger enn dosering to ganger daglig hos pasienter med IMHA (Swann, Szladovitis et al., 2019). Nedtrappingen skal vurderes basert på diagnostiske tester som for eksempel måling av hematokrit eller analyse av leddvæske avhengig av hvilken effekt som ønskes av behandlingen. Den gradvise nedtrappingen skal gjøres i små reduksjoner for å minimere sjansen for tilbakefall (Nelson & Couto, 2014).

Hyperadrenokortisisme

Hyperadrenokortisisme (HAK), også kalt Cushings syndrom, er en sykdom som forårsakes av overproduksjon av endogene glukokortikoider eller som en følge av iatrogen administrasjon med eksogene glukokortikoider. Resultatet er en for høy konsentrasjon av glukokortikoider i plasma (Nelson & Couto, 2014).

Iatrogen hyperadrenokortisisme (IHAK) kommer vanligvis fra overdreven administrasjon av glukokortikoider for å kontrollere allergiske eller immunrelaterte lidelser. Hypotalamus, hypofyse- og binyreaksen er normal, men på grunn av den forlengede perioden med for høy dosering av glukokortikoider undertrykkes denne aksen og resultatet blir mindre sirkulerende ACTH-konsentrasjoner og dermed atrofi av binyrebarken i begge binyrene (Nelson & Couto, 2014). Dette reverseres ved å gradvis avslutte behandling (Pey et al., 2012).

Kliniske symptomer på HAK og IHAK kan være polyuri, polydipsi, polyfagi, pesing, forstørret buk, hormonell alopeci og mild muskelsvakhet (Nelson & Couto, 2014). Kortisol er en type glukokortikoid og noen hunder kan utvikle kortisolindusert insulinresistens som kan videreutvikles til diabetes mellitus (Nelson & Couto, 2014). Pasienter med kronisk hyperkortisolisme vil kunne utvikle blant annet systemisk hypertensjon, proteinuri, glomerulosklerose, pankreatitt og pulmonær tromboembolisme (García et al., 2020).

I en studie publisert i *Journal of Veterinary Internal Medicine* i 2020 som inkluderte 66 hunder med hyperadrenokortisisme, ble det funnet at 40,7 % av pasientene i studien hadde proteinuri. Det ble ikke funnet korrelasjon mellom systemisk hypertensjon og proteinuri, men medianverdien for systolisk høyt blodtrykk var høyere for pasientene med proteinuri enn de som ikke hadde proteinuri (García et al., 2020). Glukokortikoidindusert hypertensjon hos

hund kan føre til en økning i renal plasmastrøm, noe som øker det intraglomerulære trykket som igjen kan bidra til proteinuri (García et al., 2020).

Formål

Målet med oppgaven

Målet med oppgaven var å undersøke om immunsupprimerende doser (>1,9 mg/kg) av prednisolon som behandling for immunmedierte lidelser fører til at ellers nyrefriske hunder utvikler proteinuri. Proteinuri er sett ved behandling av nyrefriske hunder med prednisolon kombinert med NSAIDs (Narita et al., 2007), langtidsbehandling av hund med hydrokortison (Schellenberg et al., 2008) og hos pasienter med hyperadrenokortisisme. Hensikten med studien er å se om det kan finnes indikasjoner på om hypotesen vår er rett og dermed vekke interesse for å gjennomføre større studier og forskning rundt temaet. Dette for å øke bevisstheten rundt negative konsekvenser ved bruk av prednisolon og andre glukokortikoider hos hund.

Underspørsmål

Hvis man finner ut at flertallet av hundene utvikler proteinuri, i hvor stor grad utvikler de dette? Dersom noen utvikler proteinuri og andre ikke, hvilke assosiasjoner finnes mellom de ulike hundene og deres immunmedierte lidelse? Finnes det en distinkt forskjell mellom hundene som har stått på høyere doser av prednisolon over lengre tid enn de som kun står på det i en kortere periode? Kan det være andre årsaksfaktorer som gir proteinuri til pasienter med immunmedierte lidelser?

Materiale og metoder

Materiale

Under planleggingen av denne fordypningsoppgaven skulle vårt materiale bestå av minst 10 hunder som kom til NMBU Dyresykehuset Smådyr med immunmedierte lidelser som de trengte behandling med prednisolon for. De immunmedierte lidelsene var på forhånd definert som IMHA, IMPA, ITP og SRMA. Det ble laget en lapp, se Vedlegg 1, som ble hengt opp på sentrale steder på klinikken, slik at ansatte og studenter skulle ta urinprøve av pasientene med disse sykdommene. Urinprøver skulle undersøkes for UPC-verdi og proteininnhold før oppstart, etter oppstart og etter endt behandling, dersom mulig. Dette lot seg dessverre ikke gjennomføre da det ikke kom inn nok pasienter til NMBU Dyresykehuset Smådyr som hadde de definerte immunmedierte sykdommene og trengte denne behandlingen i tidsrommet vi hadde til rådighet.

Materialet ble derfor samlet inn fra gamle journaler søkt opp i NMBU Dyresykehuset Smådyrs journalsystem, Provet, og er datert fra år 2013 til år 2021. Måten vi fant frem til journalene for våre pasienter var ved å søke på immunmedierte lidelser som IMHA, ITP, IMPA og SRMA og deretter undersøkte vi om det var tatt urinprøver på pasientene. Det var svært få pasienter det ble gjort urinalyse på sammenlignet med antall pasienter som hadde de ulike lidelsene vi var ute etter og enda færre som det var tatt UPC på. Da det var såpass få pasienter i det nåværende journalsystemet som brukes ved NMBU Dyresykehuset Smådyr, ble det gjort et utvidet søk i det gamle journalsystemet (Provet Clinic). I alt ble det gjort søk i rundt 150 journaler.

Pasientene som ble inkludert i studien er eller var pasienter med en diagnostisert immunmediert lidelse som ble behandlet med immunsupprimerende doser prednisolon og har registrerte resultater fra dipstick eller UPC enten innledningsvis, underveis, ved avsluttende del av behandlingen eller hadde registrerte resultater fra alle de tre nevnte tidspunktene. Hundene er av tilfeldig rase, alder og størrelse.

Pasientene som ble ekskludert fra studien hadde enten en immunmediert lidelse sekundært til annen sykdom, kjent nyresykdom, manglende registrering av urinverdier eller ble avlivet av dyrevelferdsmessige årsaker før behandling ble iverksatt. Den desidert største årsaken til ekskludering var mangel på urinprøve.

Metoder

Datamateriale som ble samlet inn ble lagt inn i et excel-ark. Derfra ble dataene behandlet og presentert i figurer som finnes under resultater. Under planleggingen av studien var det tenkt at det skulle analyseres UPC på pasientene som skulle være en del av studien. Først en måling av UPC før oppstart av behandling med prednisolon mot immunmediert lidelse og deretter ved første kontroll to til fire uker etter oppstart og til slutt ved tre måneders kontroll når de trappet ned til fysiologiske doser med prednisolon. Videre skulle vi måle UPC etter endt behandling der det var mulig. Siden det ikke lot seg gjøre å samle inn pasienter til studien i perioden innsamling av data skulle finne sted er det svært begrenset hvor mange pasienter vi har klart å finne i systemet som imøtekommer de initielle kriteriene vi hadde satt for studien. I utgangspunktet var det slik at hunder som hadde proteinuri ved oppstart av prednisolon skulle ekskluderes fra studien, men siden pasientgrunnlaget ble svært forsnevret og vi kun jobbet med data som allerede eksisterte ble disse pasientene inkludert. Ved å inkludere disse

pasientene får man registrert om dette gir oss en indikasjon på om det er sykdommen i seg selv som fører til proteinuri eller om det kan være prednisolonen som fører til det.

Dipstick

Dipstick-test er en metode som ble brukt på de fleste av pasientene i denne studien. Det er en metode som ofte brukes initielt for å se om man finner avvik ved en urinprøve. Dette er en strips med kjemikalier som vil reagere med fargeendring ut ifra hvor mye proteiner det er i urinen. Verdiene leses av manuelt eller maskinelt og vil da klassifiseres som: negativ, trace, 1+, 2+ eller 3+ (Murgier et al., 2009). Konvertering til g/L er gjort i vår oppgave i excel-dokumentet. Konvertering: Trace = <0,3 g/L, 1+ = 0,3 g/L, 2+ = 1 g/L, 3+ = 5 g/L. I vårt datamateriale er 0 definert som negativ, trace definert som mellom 0,001-0,299 g/L, 1+ er definert som 0,3-0,999 g/L, 2+ er definert til 1-4,999 g/L og 3+ er definert som 5g/L og over. Leses dipstick-testen av maskinelt får man ut mer presise tall enn det man får hvis det leses av manuelt. Dipstick er en test der det er lett å lese av feil hvis man gjør det manuelt. En studie utført på 298 hunder og katter der urinen ble testet for protein ved hjelp av dipstick og albumin-spesifikk kvantitativ ELISA test viste den at sensitiviteten til dipstick når man skal teste for albuminuri var 54% og spesifisiteten 69% (Murgier et al., 2009). I studien fant de ut at hvis de ekskluderte urin med alkalisk pH, som vil si pH over eller er lik 7,5, hematuri, pyuria eller bakterieuri økte sensitiviteten til 84 % og spesifisiteten går ned til 55%. Studien viste altså at det er høy sannsynlighet for falsk-negativ eller falsk-positiv test. Det er anbefalt at man går videre med for eksempel UPC for å se om svaret på dipstick-testen er reelt (Murgier et al., 2009).

UPC-ratio

Mengden proteiner i urinen kan kvantifiseres ved å måle urin protein:kreatinin ratio (UPC-ratio). Hvor konsentrert urinen er spiller en viktig rolle hvis man kun måler mengden proteiner i urinen, og det er derfor man måler UPC-ratio for å heller se på forholdet mellom protein og kreatinin i urinen. Dette er fordi kreatinin skilles ut i konstante mengder og ikke reabsorberes. Denne testen tar altså utgangspunkt i at kreatininen skilles ut konstant i urinen. UPC regnes som gullstandard innenfor detektering av proteiner, og ville vært optimalt i denne studien. Forholdstallet skal normalt være $< 0,2$, og det vil være signifikant proteinuri ved vedvarende $UPC > 0,5$. Er forholdstallet mellom $0,2$ og $0,5$ kan det være vanskelig å tolke (Harley & Langston, 2012). UPC-verdier på $2,0$ eller over vil vanligvis skyldes glomerulær sykdom, mens UPC under $2,0$ både kan skyldes glomerulær sykdom eller tubulointerstitiel sykdom (Vaden & Elliott, 2016).

Mikroalbuminuri

Akkurat som proteinuri kan albuminuri også forårsakes av pre-og postrenale sykdommer. Det er derfor svært viktig å lokalisere kilden til albuminurien før denne prøven kjøres.

Mikroalbuminuri (MA) er definert som konsentrasjonen av albumin som er høyere enn normalen, men lavere enn grensen som dipstick klarer å detektere, det vil si under $0,3$ g/L, som dipstick-testen omtaler som trace. Indikasjoner for bruk av MA-test er; når konvensjonelle tester for proteinuri slik som UPC og dipstick er tvetydig eller ikke stemmer overens eller hvis falske positive svar mistenkes, når UPC og dipstick er negative hos eldre hunder som fremstår som friske og en mer sensitiv test burde utføres, når UPC og dipstick utført på friske unge hunder med familiær risiko for utvikling av proteinuri er negative,

når UPC og dipstick er negative hos hunder med kronisk sykdom som er assosiert med proteinuri eller når hunden tidligere har hatt en positiv MA-test og monitorering av progresjon er ønskelig (Grauer, 2011).

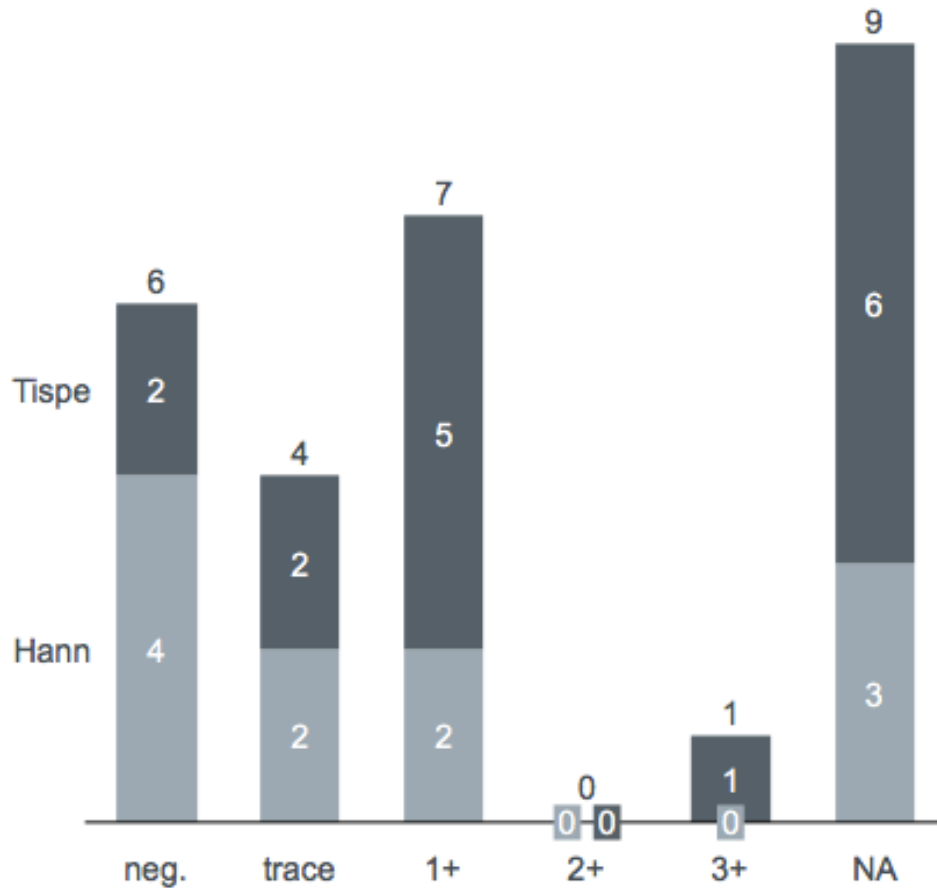
Resultater

Av de 27 hundene det er tatt urinprøve av enten før oppstart med prednisolon, etter de har stått på prednisolon en stund eller der vi har urinprøve både før og etter oppstart er det få man ser en tydelig stigning i graden proteinuri, men så mange som 22 av 27 pasienter hadde ved et tidspunkt i forløpet en måling med proteinuri.

Nitten av 27 hunder hadde urinanalyse utført før oppstart av prednisolon. Seks av disse 19 hundene hadde ikke utslag på dipstick ved oppstart, fire hadde trace, som vil si $< 0,3$ g/L, fem av 19 hadde 0,3 g/L, og respektivt hadde tre av 19 hunder (en i hver gruppe) 0,394 g/L, 0,68 g/L, og 5 g/L. En urinprøve var uleselig på grunn av farge på urinen. Det vil si, 12 av totalt 19 med urinanalyse før oppstart av behandling hadde proteinuri. Hunden med uleselig prøve er ekskludert fra denne gruppen. Elleve av 19 hunder hadde diagnosen IMHA, to med SRMA, tre med ITP, to med IMPA og en med både IMPA og SRMA. Av disse 19 pasientene er det 13 hvor det var tilgjengelig målinger etter de har stått på prednisolon i ulikt antall dager.

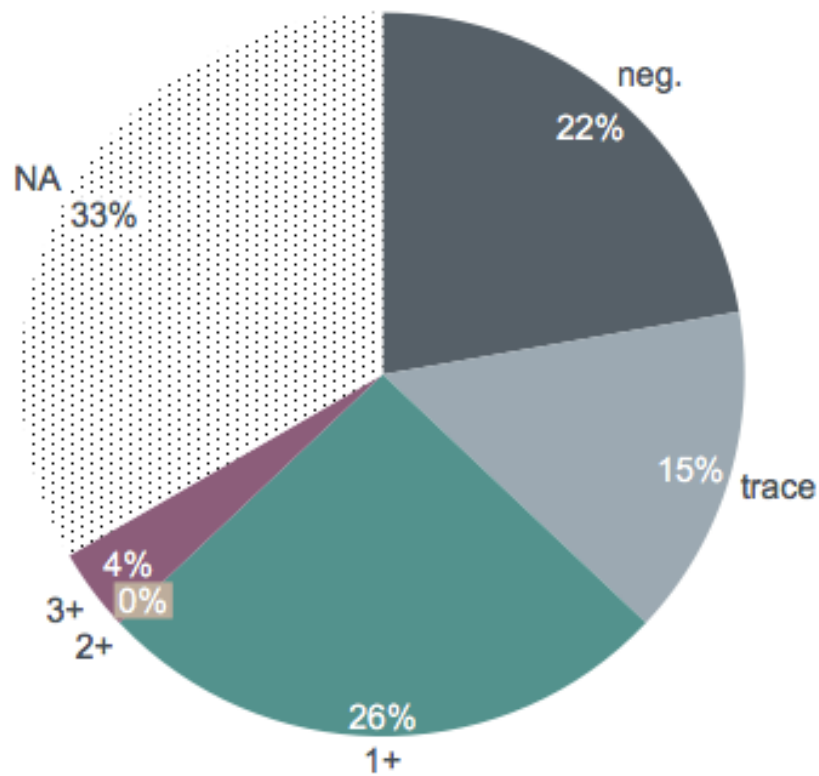
Hos seks av disse 19 pasientene er det observert en økning i proteiner i urinen etter oppstart med prednisolon, hvorav to av disse utviklet en tydelig proteinuri på 5 g/L. Ingen av disse hundene hadde proteinuri før oppstart av behandling. Hos den ene hunden ble denne målingen gjort 128 dager etter oppstart, mens hos den andre hunden ble det tatt en urinprøve 72 dager etter oppstart. Den ene av disse to hundene fikk azathioprin i tillegg til prednisolon. Tre andre

av de fem hvor man så en stigning i graden proteinuri hadde svingende resultater. En av disse hadde trace ved oppstart, gikk så opp til 1,03 g/L etter tre dager og hadde så en nedgang til 0,11 g/L etter 17 dager. På denne hunden ble det også utført UPC som viste 0,5 etter tre dager og 0,51 etter 17 dager. Den andre av de tre som hadde svingning i proteinutslag i løpet av behandlingen begynte med et utslag på 0,3 g/L før oppstart med prednisolon, så 0 g/L fem dager etter, for så å ha 1 g/L seks dager etter oppstart. Den femte med stigning av graden proteinuri gikk fra å ha 0 g/L ved oppstart til trace på et tidspunkt i behandlingsregimet, men når denne urinprøven ble tatt var ikke mulig å finne i journalsystemet. Den siste av de seks gikk fra 0 før behandling til 0,46 g/L etter oppstart og deretter ned til 0,1 g/L 45 dager etter oppstart av behandling. Denne pasienten hadde både diagnosen SRMA og IMPA. Figur 1 nedenfor viser en oversikt over antall pasienter med proteinuri ved oppstart med prednisolon, samt Tabell 1 som viser pasientene som hadde urinprøve ved oppstart og fikk en økning i proteinuri i løpet av behandlingen.



Figur 1:

Figur 1 viser andelen pasienter med proteinuri før oppstart av behandling med prednisolon (n=27, 16 tisper og 11 hannhunder). Verdier fra dipstick-tester. neg = 0 g/L (n=6, to tisper og en hannhund), trace = 0,001-0,299 g/L (n=4, to tisper og to hannhunder), 1+ = 0,3-0,999 g/L (n=7), 2+=1-4,999 g/L (n=0, ingen), 3+ = > 5 g/L (n=1, en tisper). NA viser andelen av pasienter uten urinprøve før oppstart av behandling med prednisolon (n=9, seks tisper og tre hannhunder).



Figur 2:

Figur 2 viser andelen av pasienter med proteinuri før oppstart av behandling i prosent. neg. = 0 g/L (22%), trace = 0,001-0,299 g/L (15%), 1+ = 0,3-0,999 g/L (26%), 2+ = 1-4,999 g/L (0%), 3+ = > 5 g/L (4%). NA=ikke urinprøve før oppstart (33%). Verdier fra dipstick-tester.

Tabell 1:

Tabell 1 viser en oversikt over pasienter som hadde urinprøve før oppstart av behandling og som hadde en økning i graden av proteinuri etter oppstart av behandling med prednisolon. Tabellen viser ulike prøvetakingstidspunkt og både økning og nedgang i løpet av behandlingsperioden.

Pasientnummer:	Urinprøve ved oppstart med prednisolon: (g/L)	Urinprøve etter oppstart g/L:	3.urinprøve g/L	Kommentar:	Sykdom:	Kjønn:	Rase:
1	Trace	1,03 3 dager etter	0,11 45 dager etter	Det er også gjort UPC på denne pasienten som hadde høy måling tre dager etter oppstart, hvor UPC var 0,51. Fikk dexametason i tillegg.	SRMA	Hann	Cocker Spaniel
2	0,3	0 5 dager etter	1 6 dager etter	Ble avlivet 6 dager etter behandling pga mangel på respons	IMHA	Tispe	Golden retriever
3	0	5 128 dager etter	Ingen 3. prøve	Ikke mulig å finne ut om behandling med prednisolon var avsluttet ved 128 dager etter oppstart med prednisolon	ITP	Tispe	Storpuddel
4	0	5 72 dager etter oppstart	Ingen 3. prøve	Fikk azathioprin i tillegg	ITP	Tispe	Dachshund strihåret
5	0	Trace	Ingen 3. prøve		IMHA	Hann	Dansk Svensk gårdshund
6	0	0,46 1 dag etter oppstart	0,1 45 dager etter oppstart		SRMA/ IMPA	Hann	Nova Scotia Duck Tolling Retriever

Fem av de 19 hunder som hadde urinprøve ved oppstart gikk ned i mengde protein i løpet av behandlingsregimet med prednisolon. To av disse hadde trace ved oppstart, hvor den ene hunden gikk fra trace til 0 g/L ved dag 57 og dag 73 etter oppstart med prednisolon, mens den andre gikk fra trace til svak trace. En av de fem hadde 5 g/L ved oppstart og gikk ned til 1 g/L etter oppstart med prednisolon. Det spesielle med denne pasienten var at han stod på cytostatika ved oppstart med prednisolon som kan ha hatt en innvirkning på den høye verdien ved oppstart med prednisolon. Virkestoffet i cytostatikaen kunne vi ikke finne. De to resterende hundene av de fem som gikk ned i mengde protein i løpet av behandlingen hadde verdiene 0,3 g/L og gikk ned til trace 14 dager etter oppstart, mens den siste av de fem gikk fra 0,394 g/L til 0,06 g/L 62 dager etter oppstart og 0 g/L 201 dager etter oppstart. Tabell 2 viser en oversikt over de fem pasientene som hadde urinprøve ved oppstart og som gikk ned i graden av proteinuri i løpet av behandlingen.

Tabell 2:

Tabell 2 viser en oversikt over fem pasienter som hadde urinprøve ved oppstart av behandling med prednisolon og som hadde en nedgang i graden av proteinuri i løpet av behandlingen. Tabellen viser at urinprøvene er tatt på ulike tidspunkt etter oppstart og at tre av fem har to urinprøver og to av fem har tre urinprøver. Fem av seks pasienter har IMHA og en av seks har SRMA.

Pasientnummer:	Urinprøve ved oppstart med prednisolon: (g/L)	Urinprøve etter oppstart:	3.urinprøve	Kommentar:	Sykdom:	Kjønn:	Rase:
7	Trace	0 57 dager etter	0 73 dager etter		IMHA	Tispe	Mellom-puddel
8	Trace	Svak trace	Ingen 3. prøve	Fikk påvist UVI en stund etter oppstart med prednisolon	IMHA	Tispe	Blanding
9	5	1	Ingen 3. prøve	Fikk cytostatika i tillegg	IMHA	Tispe	Storpuddel
10	0,3	Trace 14 dager etter oppstart	Ingen 3. prøve		IMHA	Tispe	Tibetansk spaniel
11	0,394	0,06 62 dager etter oppstart	0 201 dager etter oppstart		SRMA	Hann	Gordon setter

Fem av de 19 med urinprøve før oppstart av behandling og som kun hadde en urinprøve hadde utslag ved oppstart og fire av disse hadde 0,3 g/L eller mer. En av disse ble analysert ved hjelp av UPC og UPC-verdien var 0,61 før oppstart og målte proteinmengde til 0,68 g/L. Denne pasienten gikk også på ciklosporin (atopica) ved oppstart og fikk deksametason (dexadreson vet.) første dagen av behandlingen. En av de fem hadde trace ved oppstart. Hundene som kun hadde urinprøve ved oppstart er ført opp i Tabell 3.

Tabell 3:

Tabell 3 viser en oversikt over de fem hundene som kun hadde urinprøve før oppstart med prednisolon. Fire av fem hunder har diagnosen IMHA og en av fem har diagnosen IMPA. Alle hundene har proteinuri.

Pasientnummer:	Urinprøve ved oppstart med prednisolon: (g/L)	Urinprøve etter oppstart:	3.urinprøve	Kommentar:	Sykdom:	Kjønn:	Rase:
12	Trace	Ingen flere urinprøver			IMPA	Hann	Flat coated retriever
13	0,3	Ingen flere urinprøver			IMHA	Tispe	Beagle
14	0,68	Ingen flere urinprøver		Fikk ciclosporin i tillegg	IMHA	Tispe	Klein Spitz
15	0,3	Ingen flere urinprøver			IMHA	Tispe	Norsk elghund
16	0,3	Ingen flere urinprøver			IMHA	Hann	Dverg-dachs

Av de åtte som ikke hadde urinprøve ved oppstart med prednisolon var det tre som hadde 0,3 g/L til ulike tidspunkter under behandlingen. En av disse tre hadde 0,3 g/L to dager etter oppstart og proteinutslaget gikk ned til 0 g/L 36 dager etter oppstart. Nummer to av de tre hadde 0,3 g/L syv dager etter oppstart og ingen flere urinprøver, mens den siste pasienten hadde en måling på 0,3 g/L på et tidspunkt i behandlingen som ikke var mulig å oppdrive. To av de åtte hadde 0 et gitt antall dager etter oppstart. En av de åtte hadde 1 g/L 31 dager etter oppstart som steg til 5 g/L 45 dager etter oppstart. To av de åtte hadde 0 g/L ved et tidspunkt under behandlingen, en hadde trace og en annen hadde kun en måling med 5 g/L på et tidspunkt i løpet av behandlingen. Disse resultatene er framstilt i Tabell 4.

Tabell 4:

Tabell 4 viser en oversikt over utviklingen til de åtte hundene som ikke hadde urinprøve ved oppstart, men som hadde urinprøve på et senere tidspunkt. Tabellen viser at prøvetakingstidspunkt varierer. To av pasientene har ingen proteinutslag i urinen, men det er kun en urinprøve. Fire av pasientene har proteinuri på ulike tidspunkt, men kun en urinprøve. To av pasientene har to urinprøver. Den ene pasienten viser en kraftig økning fra 1 g/L til 5 g/L, og den andre pasienten har 0,3 g/L ved første urinprøve og ingen proteinuri ved neste urinprøve.

Pasientnummer:	Urinprøve ved oppstart med prednisolon: (g/L)	Urinprøve etter oppstart:	3.urinprøve	Kommentar:	Sykdom:	Kjønn:	Rase:
17	Ingen urinprøve ved oppstart	0	Ingen 3. urinprøve		IMHA	Tispe	Berner sennen
18	Ingen urinprøve ved oppstart	0,3 2 dager etter	0 36 dager etter oppstart		IMHA	Hann	Blanding
19	Ingen urinprøve ved oppstart	0 68 dager etter	Ingen 3. urinprøve		SRMA	Hann	Labrador reteriver
20	Ingen urinprøve ved oppstart	0,3 7 dager etter	Ingen 3. urinprøve		IMHA	Tispe	Saluki
21	Ingen urinprøve ved oppstart	0,3	Ingen 3. urinprøve		IMHA	Hann	Cocker spaniel
22	Ingen urinprøve ved oppstart	1 31 dager etter	5 45 dager etter oppstart		IMHA	Tispe	Cocker spaniel
23	Ingen urinprøve ved oppstart	Trace	Ingen 3. prøve		IMHA	Tispe	Tibetansk terrier
24	Ingen urinprøve ved oppstart	5	Ingen 3. urinprøve	Fikk dexametason i tillegg	IMHA	Tispe	Shih Tzu

Hos de tre siste pasientene som er tatt med i vårt datamateriale var det to som hadde 0 g/L ved oppstart og 0 g/L et senere tidspunkt etter oppstart, men forskjellige tidspunkter i behandlingsregimet. Den siste pasienten hadde en urinprøve som var uleselig på grunn av farge på urinen, trolig grunnet nedbrutte produkter etter erythrocytter.

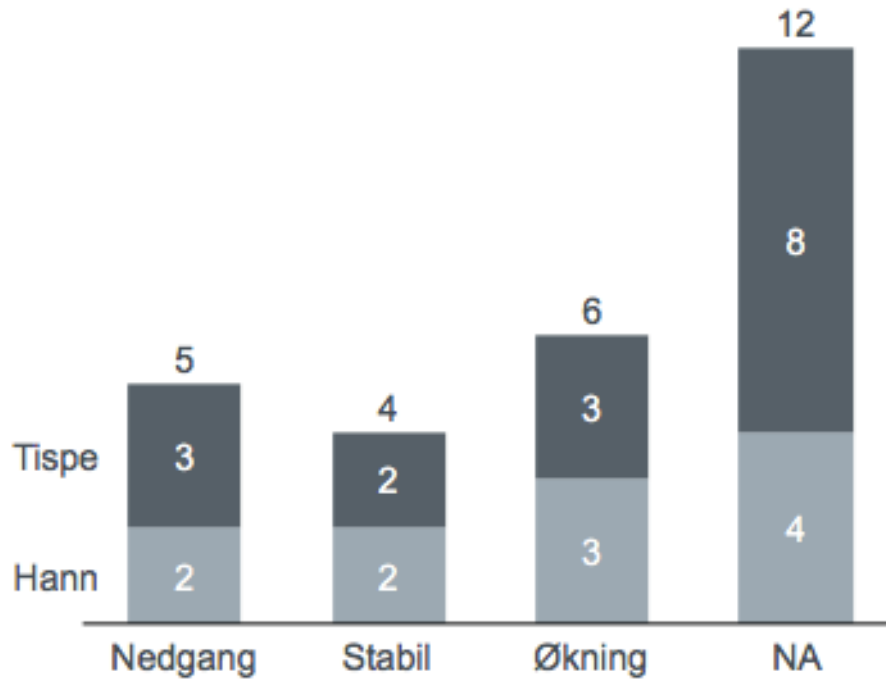
Tabell 5:

Tabell 5 viser en oversikt over de tre pasientene som hadde urinprøver der resultatene ikke var lesbare eller som ikke hadde utslag med proteiner på urinprøven. En pasient med IMHA hadde uleselig prøve og de to andre hadde en urinprøve hver som var negativ for proteiner i urinen.

Pasientnummer:	Urinprøve ved oppstart med prednisolon: (g/L)	Urinprøve etter oppstart:	3.urinprøve	Kommentar:	Sykdom:	Kjønn:	Rase:
25	0	0 3 dager etter	Ingen 3. urinprøve		ITP	Hann	Cocker spaniel
26	0	0	Ingen 3. urinprøve		IMPA	Tispe	Rottweiler
27	Ingen urinprøve ved oppstart	Uleselig pga farge på urinen	Ingen 3. urinprøve	Ble avlivet 8 dager etter oppstart med prednisolon pga mangel på bedring	IMHA	Tispe	Border Collie

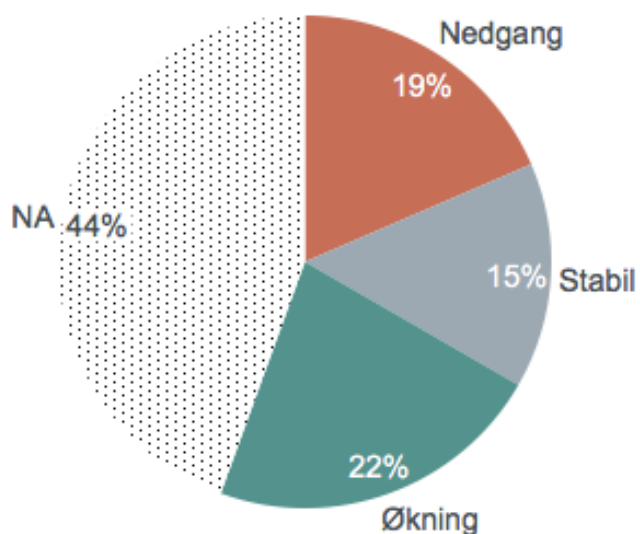
Utvikling av proteinuri basert på første og siste måling

Utvikling av proteininnhold i urin målt ved urinstix fra første til siste måling for hver pasient med to eller flere målinger er presentert i Figur 3. Dette inkluderer også to pasienter uten måling av proteiner i urinen før oppstart av behandling. Totalt utgjør dette 15 av 27 pasienter. De resterende 12 pasientene står oppført som NA i figuren og utgjør den andelen med pasienter som kun hadde en urinprøve registrert og utvikling av proteinuri er derfor ikke mulig å følge. Fem pasienter hadde en nedgang proteinuri fra første til siste måling, fire har den samme verdien ved første og andre måling og seks pasienter viser en økning i graden proteinuri. Andelen i prosent for hver gruppe illustreres i Figur 4.



Figur 3:

Figur 3: viser fordelingen av pasientene med nedgang, stabil eller økning i grad av proteinuri basert på første og siste urinprøve. Nedgang (n=5, tre tisper og to hannhunder), Stabil (n=4, to tisper og to hannhunder), Økning (n=6, tre tisper og tre hannhunder), NA= andelen pasienter med bare en urinprøve (n=12, åtte tisper og fire hannhunder).



Figur 4

Figur 4 viser andelen pasienter med nedgang, stabil eller økende grad av proteinuri fra første til siste urinprøve. NA er andelen pasienter med bare en urinprøve. Nedgang (19%), Stabil (15%), Økning (22%), NA (44%).

Utvikling av proteinuri hos pasientene med urinprøve før oppstart

Blant de 13 hundene det var mulig å oppdrive urinprøve på ved oppstart og en stund etter de hadde stått på prednisolon fant vi at syv hadde en nedgang i graden proteinuri på et tidspunkt i behandlingen, to hadde ingen proteinuri verken før eller etter oppstart og fire hadde en økning i graden av proteinuri en viss tid etter oppstart. Av pasientene som hadde en nedgang i proteinuri hadde en pasient en måling på dag 57, en annen på dag fem, en tredje på dag 14, en fjerde på dag 62 og en femte på dag 45. De to siste fant vi ingen dato for når målingen ble utført. Den ene av de to med negative resultater både før og etter behandlingsstart hadde måling etter to dager, mens den andre kunne vi ikke finne dato på. Av de fire som hadde en økning fant vi dato på tre av dem, der andre urinprøve ble målt tre dager etter hos den første pasienten, 72 dager etter hos den andre og 128 dager etter oppstart av behandling hos den

tredje. Fire av pasientene med urinprøver både før og etter oppstart hadde og en tredje urinprøve.

Hos den første av disse fire hundene ble det målt trace ved oppstart, økning til 1,03 g/L tre dager etter oppstart og en nedgang til 0,11 g/L 17 dager etter oppstart. Denne pasienten var en hannhund av rasen cocker spaniel med diagnosen SRMA og var 1 år gammel. Da trace er definert som under 0,3 g/L vil verdien 0,11 g/L havne under definisjonen som er laget for trace i figurene som er med i denne studien. Den andre pasienten med flere målinger var en mellompuddel tise på 5 år med diagnosen IMHA. Hun hadde trace ved oppstart og negative resultater 57 og 73 dager etter oppstart. Den tredje pasienten var en golden retriever tise på 11 år med diagnosen IMHA som hadde 0,3 g/L proteinuri ved oppstart, nedgang til 0 etter 5 dager og en økning til 1 g/L etter seks dager. Den fjerde pasienten var en gordon setter hannhund på 1 år med diagnosen SRMA som hadde et utslag på 0,394 g/L proteinuri ved oppstart, nedgang til 0,06 g/L etter 62 dager og negative resultater etter 201 dager ut i behandlingen.

Kjønn

Elleve pasienter var hannhunder og 16 var tisper. Vi hadde urinverdier før oppstart av prednisolon på åtte av hannhundene og 11 av tispene. Fem av hannhundene hadde proteinuri før oppstart av behandling. Disse fem tilsvarer en andel på 45% av hannhundene det fantes urinverdier på. Fire av hannhundene hadde en økning i graden proteinuri etter oppstart av behandling. Tre av disse gikk ned i graden proteinuri ved neste måling, mens resten ble det ikke utført flere urinprøver på. En av hannhundene viste nedgang i mengde proteinuri etter oppstart av behandling. Ni av tispene hadde proteinuri før oppstart av behandling. Dette tilsvarer en andel på 75% av de tispene vi hadde urinverdier på. Tispen med størst grad av

proteinuri før oppstart fikk påvist urinveisinfeksjon noen dager etter oppstart av behandling og fikk cytostatika ved siden av prednisolonbehandlingen. Fem av de ni tispene med registrert proteinuri før oppstart av behandling hadde nye registrerte urinprøver etter oppstart. Prøvene var tatt på tilfeldige dager etter oppstart av behandling. Fire av de fem hadde lavere proteinnivå i urinen etter oppstart av behandling med prednisolon enn før behandling, bortsett fra en tise som svingte i målingene i løpet av behandlingen fra 0,3 g/L til 0 g/L og deretter til 1 g/L.

Alder

I databasen av hunder som er samlet inn og som tilfredsstill kriteriene var fire 1 år, to var 2 år, fire var 3 år, tre var 4 år, fem var 5 år, en var 6 år, to var 7 år, fire var 8 år og to var 11 år. Med tanke på alder er dette en relativt god normalfordeling. Av de to eldste hundene i vårt datamateriell er det en som utviklet UVI i løpet av behandlingen med prednisolon og den andre hunden ble avlivet cirka en uke etter oppstart på grunn av manglende respons på behandling.

Raser

Rasene på hundene i denne oppgaven var fordelt mellom mange forskjellige raser; fire cocker spaniel, en border collie, en mellompuddel, en storpuddel, to blandingshunder, en beagle, en norsk elghund grå, en golden retriever, en nova scotia duck tolling retriever, en flat coated retriever, en labrador retriever, en rottweiler, en gordon setter, en dachshund strihåret, en dvergdachshund langhåret, en berner sennen, en dansk svensk gårdshund, en tibetansk spaniel, en klein spitz, en saluki, en lapsk vallhund og en shih tzu. Det er en stor spredning i raser og de fleste rasene som er med i vårt datamateriale forekommer kun en gang. Det er derimot en rase som forekommer fire ganger og det er cocker spaniel. Blant cocker spanielene

som er med i vårt datamateriale er det en som har SRMA, en har ITP og to har IMHA. Cockeren med ITP hadde 0 g/L proteiner i urinen på de urinprøvene som er funnet ved oppstart og tre dager etter. Denne hunden var 6 år gammel. Cockeren med SRMA hadde trace som tilsvarer under 0,3 g/L ved oppstart, deretter 1,03 g/L tre dager etter oppstart og 0,11 g/L 45 dager etter oppstart. Hos denne hunden ble det tatt UPC som viste proteinutslag 1,03 g/L tre dager etter oppstart og denne hunden var 1 år gammel. UPC verdien tre dager etter oppstart hos denne pasienten var 0,5. Denne pasienten hadde også en UPC-måling 17 dager etter oppstart som viste 0,51 med 0,11 g/L som utgjorde proteinandelen. De to siste cockerne hadde diagnosen IMHA og her er det en som ikke hadde noen urinprøve ved oppstart, men 0,3 g/L syv dager etter oppstart. Hunden var 7 år gammel da diagnosen ble stilt. Den andre cockeren med IMHA hadde ingen urinprøve ved oppstart, 1 g/L 31 dager etter og 5 g/L 45 dager etter oppstart.

Dosering

Alle pasientene som er med i denne studien stod initielt på immunsuppressive doser med prednisolon. Dette vil si doser som på eller over 0,199 mg/kg. Søkbarheten i journalsystemet var sterkt begrenset grunnet utfordringer med overføring av data fra gammelt journalsystem og det ble derfor vanskelig å finne ut hvilke doser de forskjellige hundene stod på når urinprøvene ble tatt. Ut fra det som er funnet av doseringer i journalene begynner de aller fleste hundene på doser mellom 2-4 mg/kg. Flere av hundene hadde gradvis nedtrapping, men vi fant at flere startet med en lavere dose initielt for deretter å øke den, før den ble nedjustert igjen eller hele behandlingen ble avsluttet grunnet dårlig prognose. Hos pasientene som fikk flere medikamenter ble det målt både 0 g/L, trace, 0,68 g/L og 1-5 g/L proteinuri før oppstart av behandling. Pasienten med 0 g/L hadde fått azatriopin, et immunsuppressivt middel, pasienten med trace mottok dexametason, som er et annet glukokortikoid som også virker

immunsuppressivt, pasienten med 0,68 g/L stod på ciklosporin, som er et tredje immunsuppressivt middel og pasienten med 1-5 g/L proteinuri fikk cytostatika som er et celledrepende middel. Pasienten som fikk azatriopin hadde en økning fra 0 g/L til 5 g/L etter 72 dager, pasienten som fikk deksametason hadde en økning fra trace til 1,03 g/L etter tre dager, pasienten som fikk ciklosporin hadde bare en urinprøve og pasienten som fikk cytostatika gikk fra 1-5 g/L til 1 g/L etter et uvisst antall dager. En siste pasient mottok også deksametason i tillegg til prednisolon og hadde 5 g/L proteinuri et uvisst antall dager ut i behandlingen. Dette var den eneste urinprøven på denne pasienten.

Diskusjon

Proteinuri før oppstart

22 av 27 hunder hadde registrert proteinuri i vårt datamateriale. 18 av disse hadde registrert urinprøve før oppstart av behandling, hvorav 12 hunder hadde proteiner i urinen i ulik grad før de ble satt på prednisolon. Dette utgjør en prosent på 44,4 % av de som hadde urinprøve ved oppstart av behandling. Det er ikke optimalt for denne studien at pasientene har proteinuri før oppstart med prednisolon, men det kan gi en indikasjon på at det ikke nødvendigvis er prednisolonen som fører til proteinurien, men heller sykdommen i seg selv. Proteinuri ved oppstart med behandling kan skyldes prerenale årsaker slik som hemoglobinuri som ses ved hemolyse som man blant annet får ved IMHA (Vaden & Elliott, 2016). Ved en rekke av de immunmedierte lidelsene ser man ofte at pasienter utvikler feber som er en fysiologisk renal årsak til proteinuri og kan gi en forbigående proteinuri. Feber ser man blant annet ved mange tilfeller av IMPA (Johnson & Mackin, 2012). Hos pasientene der det ble sett nedgang i proteinuri kan årsaken ha vært forbigående og forbundet med den immunmedierte lidelsen. Det er dermed usikkert om nedgangen skyldes at man får behandlet den immunmedierte

lidelsen eller de generelle antiinflammatoriske egenskapene til prednisolon. Hos pasientene hvor man ser en stigning i proteinuri og de som har svært høye verdier på en måling tatt en stund ut i forløpet vil glomerulær proteinuri være mest sannsynlig. Hos disse pasientene kan prednisolon være en medvirkende årsak til proteinuri.

Den største andelen av pasientene med proteinuri hadde diagnosen IMHA, men det er også denne diagnosen flest pasienter i vårt datamateriale har. En mulig forklaring på hvorfor hunder med IMHA er overrepresentert i vårt datamateriale er fordi det er vanlig å se etter hemoglobin og bilirubin urinen på disse pasientene, men det gir oss altså ikke et godt grunnlag for diskusjon.

Utvikling av proteinuri

Urinprøvene i vårt datamateriale ble målt på helt ulikt antall dager ut i behandlingsforløpet. Avhengig av hvordan man leser tallene vil man kunne få ulike resultater. Ser man på kun to målinger utført på samme pasient kan det se ut som at flere har en økning i graden proteinuri underveis i behandlingen. Dette er vist i Figur 4 tidligere i oppgaven. I Figur 4 inkluderes også de pasientene som ikke har urinprøve før oppstart av behandling. Dersom man ser på det totale bildet, der det er mulighet for dette, ser det ut til at graden av proteinuri synker mot slutten av behandling med prednisolon. Hos de fire pasientene vi har tre urinprøver som inkluderer urinprøve ved oppstart ser man at graden proteinuri kan svinge opp og ned. Dette kan forklares på flere måter. Enten fordi graden av proteinuri avhenger av antall dager pasienten har stått på prednisolon, fordi sykdommen i seg selv kan føre til proteinuri, fordi doseringen er ulik på det gitte tidspunktet, fordi pasientene har begynt med nedtrappingsplan,

fordi de har ulikt kjønn, fordi de har ulik alder, fordi de er av ulik rase eller på grunn av individuelle forskjeller mellom hver enkelt pasient.

Kjønn

Av de hundene vi hadde urinprøve på før oppstart av behandling hadde 45% av hannhundene og 75% av tispene proteinuri før oppstart med behandling. Andelene er beregnet fra totalt 19 pasienter som hadde urinprøve før oppstart, åtte var hannhunder og 11 var tisper. Blant hannhundene var det flest som viste en økning i proteinuri etter oppstart av behandling, mens hos tispene viste flesteparten en nedgang i graden proteinuri. Igjen er prøvene tatt på ulike dager etter behandlingsstart og grunnlaget for direkte sammenligning blir usikkert.

Alder

Det er god fordeling i alder blant pasientene som er med i studien. Alderen varierer fra 1-11 år. Det er flest pasienter som er 5 år og svært få pasienter ligger i det øvre sjiktet mellom 6-11 år. Flesteparten av hundene er under 5 år og fire av disse er bare 1 år. Hundene som er 1 år har alle diagnosen SRMA. Dette er å forvente da SRMA er en sykdom som oftest opptrer hos unge hunder (Giraud et al., 2021). Det er to pasienter som er 11 år i datamaterialet og en av disse ble avlivet på grunn av manglende respons på behandling. Den andre pasienten utviklet urinveisinfeksjon (UVI) i løpet av behandlingen. Denne pasienten fikk i tillegg cytostatika som behandling for IMHA og det blir derfor vanskelig å konstatere om det var alder, medikamenter eller andre årsaker til at denne pasienten fikk UVI. Likevel viser en studie utført på 100 tilsynelatende friske seniorhunder at 11% av hundene hadde tydelig proteinuri, mens 14% lå på grensen til proteinuri (Marynissen et al., 2017), slik at aldersrelaterte nyreforandringer kan være årsaken til proteinuri hos denne pasienten.

Raser

I resultatdelen ser man at de fleste hunderasene kun forekommer en gang i datamaterialet, med unntak av cocker spaniel som forekommer fire ganger. Det er vist at cocker spaniel er av rasene som er mest utsatt for å utvikle IMHA (Balch & Mackin, 2007) og det er derfor logisk at cocker spaniel forekommer mer enn andre raser i datamaterialet da det er flest hunder med IMHA det var tatt urinprøver på.

Dosering

Alle hundene stod på immunsuppressive doser med prednisolon en periode i løpet av behandlingen. Flesteparten startet med høyeste dose og ble deretter trappet gradvis nedover, mens det hos noen har vært en økning i dosering etter det første døgnet med behandling. Hos pasientene som fikk flere medikamenter i tillegg til prednisolon hvor fire av de mottok et annet immunsuppressivt middel og den siste fikk cytostatika var resultatet også en variasjon i graden av proteinuri. To av pasientene som fikk et annet immunsuppressivt middel i tillegg, viste en økning i proteinuri og de to siste hadde bare en urinprøve. Pasienten som fikk cytostatika hadde en nedgang i proteinuri. På grunnlag av dette kan det ikke trekkes noen klar sammenheng i om variasjon i medikamenter gir noen tydelige utslag på lavere eller høyere grad av proteinuri. Dette utgjør i tillegg bare fem av 27 pasienter, så igjen kan det sies at pasientgrunnet for å trekke en slik konklusjon er for snevert.

Diagnoser

I vårt datagrunnlag er det overrepresentert med pasienter med IMHA, noe vi tror er tilfeldig på grunn av utfordringene med overføring av data fra det gamle journalsystemet. Ved en rekke av de immunmedierte lidelsene ser man ofte at pasienter utvikler feber som i seg selv kan gi en forbigående proteinuri, slik som ved IMPA (Johnson & Mackin, 2012). Dette er noe som bidrar til å stille spørsmålsteget til om det er lidelsen i seg selv som fører til proteinuri hos pasienter med immunmedierte lidelser.

Inklusjonskriterier

For at vi kunne ta med en pasient i vår studie måtte pasienten ha NMBU Dyresykehuset Smådyr, være registrert med en immunmediert lidelse, blitt behandlet med immunsupprimerende doser prednisolon, ha minst en registrert urinprøve, være nyrefriske ved oppstart og ikke ha andre sykdommer. Dette gjorde det vanskelig for oss å finne tilstrekkelig datamateriale. Mange pasienter ble ekskludert fordi de ikke oppfylte alle kriteriene og spesielt fordi det manglet urinprøver. En pasient måtte for eksempel ekskluderes da det viste seg at hunden hadde en pågående urinveisinfeksjon før oppstart av behandling og en annen ble ekskludert da den hadde diagnosen histiocytært sarkom i tillegg. Mange av pasientene som ble inkludert i studien hadde allerede proteinuri og vi kunne på den måten ikke vite om disse pasientene var nyrefriske ved oppstart av behandling. Vi valgte likevel å inkludere disse pasientene da dette viste seg å gjelde et stort antall av tilgjengelige pasienter.

Svakheter ved denne oppgaven

Det finnes en rekke svakheter ved denne oppgaven. Den aller største svakheten mener vi er at mengden datamateriale er alt for liten til å kunne trekke konklusjoner. Det skulle egentlig

vært pasienter vi samlet inn prospektivt og på denne måten kunne vi ha opprettet standardiserte forhold for bedre kontroll over hva som ble undersøkt og til hvilket tidspunkt i tillegg til dosering av prednisolon. En annen svakhet er at urinprøvene er tatt på ulike tidspunkt og at ikke alle pasientene hadde urinprøve før oppstart av behandling med prednisolon. En tredje svakhet er at vi ikke vet hva slags dosering pasientene stod på når urinprøven ble tatt. Dette skyldes de store utfordringene med å overføre data fra gammelt journalsystem til nytt. Prosessen var i tillegg svært tidkrevende da urinprøvene måtte letes fram i journalteksten. En fjerde svakhet er at majoriteten av prøvene ble tatt ved hjelp av dipsticks. Denne målemetoden gir oss mindre spesifikke verdier enn for eksempel UPC eller måling av mikroalbumin i urinen. Det er ikke mulig å si noe tydelig om mengden proteiner i urinen er unormal da vi ikke har en UPC, da det med andre ord mangler noe å standardisere proteinnivået mot. En femte svakhet er at mange av pasientene i denne studien allerede hadde proteinuri før oppstart av behandling, noe som skaper ekstra usikkerhet rundt våre resultater.

Våre funn sammenlignet med tidligere funn

I en studie utført på ni unge, friske beagle hannhunder ble det testet å gi disse hannhundene prednisolon i 42 dager før de ble avlivet (Waters et al., 1997). Poenget med studien var å finne ut om UPC steg i løpet av disse dagene. Det ble utført UPC ved dag 0, 7, 14, 21, 28 og 42. De ble behandlet med 2,2 mg/kg po to ganger daglig (BID) (Waters et al., 1997). Det ble i tillegg til å sjekke UPC også gjort patologisk vurdering av nyrene etter avliving for å se etter mulige likheter i nefropatologi. Gjennomsnittlig UPC ved dag 0 var 0,29 +/-1,10. Den gjennomsnittlige UPC-en økte drastisk ved dag 28 og den høyeste økningen var da på 1,27 +/- 1,02. På dag 42 gikk målingene noe ned til 0,92 +/-0,56, men forble over normalverdier (Waters et al., 1997).

I denne studien ble det etter avlivning funnet patologiske forandringer i nyrene. Det ble funnet generalisert hypercellulære kapillærnettverk i glomerulus og hos fire hunder ble det funnet adhesjoner mellom kapillærnettverkene og Bowmans kapsel og fortykket Bowmans kapsel i flere av nefronene. Det ble ikke funnet immunglobulin-deponering hos noen av hundene. Det ble utført elektronmikroskopi som hos 7 av hundene viste mild segmentert fortykkelse av basalmembran, fusjon av podocytter og glomerulær adhesjoner. I denne studien ble konklusjonen at langtidsbruk av glukokortikoider resulterer i signifikant proteinuri og glomerulære forandringer hos hundene (Waters et al., 1997). Dette er en eksperimentell og derfor standardisert studie, hvor blant annet alle pasientene måtte gjennom en rekke tester før de ble erklært friskmeldte til å delta, de stod på samme type fôr, ble utsatt for samme type miljø, alle hundene var av rasen beagle. Alt skulle være mest mulig likt for å kun se på utviklingen av proteinuri ved langtidsbruk av høye doser med prednisolon (Waters et al., 1997).

Ved denne studien er det ikke mulig å se om skadene som forekom ved langtidsbruk av glukokortikoider er reversible, da hundene ble avlivet på dag 42 for å undersøke for mulig patologi i nyrene. I denne studien var hundene friske før oppstart med prednisolon, slik at man kun ser på nefropatologi og proteinuri da prednisolon trolig er den eneste faktoren som spiller inn, sammenlignet med vår studie som har en rekke faktorer som kan føre til proteinuri samt snevert datagrunnlag. I vår studie er det funnet både pasienter som stiger i mengden proteinuri og noen som får nedgang i mengden proteinuri. Hos de som har en nedgang kan dette skyldes den underliggende sykdommen som nevnt tidligere i studien, mens hos de som går opp kan prednisolon være årsaken. Til forskjell fra vår studie er dette en eksperimentell studie som ikke kan sammenliknes med det som skjer i klinisk praksis. Det er derfor viktig at

det gjennomføres studier slik vi forsøkte på, for å se på hva prednisolon gjør i sammenheng med sykdom.

I en annen studie ble det undersøkt om administrering av hydrokortison øker systemisk blodtrykk og om det øker utskillelsen av proteiner i urinen. Inkludert i studien var det seks kontrollhunder og seks hunder som ble behandlet med 8 mg/kg hydrokortison to ganger om dagen i tolv uker. I denne studien fant de at blodtrykk og UPC økte betraktelig hos hundene som ble behandlet med hydrokortison, men at dette var reversibelt en måned etter avsluttet behandling (Schellenberg et al., 2008). Hydrokortison er et korttidsvirkende kortikosteroid som krever høyere dosering (Nelson & Couto, 2014). Alle de tolv hundene som ble inkludert i studien var unge friske hunder av rasen beagle. Seks av de var hannhunder og seks av de var tisper (Schellenberg et al., 2008). Sammenlignet med vår studie var dette tilsynelatende friske hunder i motsetning til vår studie som kun inneholdt hunder med en immunmediert lidelse. I tillegg inneholder studien kun hunder av rasen beagle, slik som den forrige studien som ble nevnt. Dette gjør det mindre representativt for alle hunderaser. Om hydrokortison gir en økt sannsynlighet for å utvikle høyt blodtrykk og proteinuri sammenlignet med prednisolon er også usikkert.

En tredje studie viser til at administrering av prednisolon en gang daglig kontra to ganger daglig gir færre bivirkninger hos pasienter med IMHA (Swann, Szladovitis et al., 2019). Dette gjelder for prednisolon og ikke hydrokortison og kan derfor ikke sammenlignes direkte, samtidig som det er hunder med en immunmediert lidelse som ble undersøkt. Likevel kan det hende at dosering to ganger daglig har hatt en innvirkning på graden av høyt blodtrykk og proteinuri hos disse seks hundene som fikk hydrokortison. Dette kan likevel ikke

sammenlignes direkte med vår studie da vi har sett på hunder med en immunmediert lidelse og bruk av prednisolon.

I en fjerde studie som ble nevnt i innledningen av denne oppgaven ble det undersøkt rundt prevalens og risikofaktorer relatert til systemisk hypertensjon hos hunder med spontan hyperadrenokortisisme. Her ble det funnet at 40,7 % av hundene med hyperadrenokortisisme hadde proteinuri. Hos disse hundene ble det funnet at medianverdien for systolisk høyt blodtrykk var høyere for pasientene med proteinuri enn de som ikke hadde proteinuri (García et al., 2020). Studien viser også til andre studier som har kommet frem til ulike resultater når det gjelder årsaker til proteinuri hos disse pasientene og at konklusjonen må være at det finnes multifaktorelle årsaker til hvorfor pasienter med hyperadrenokortisisme utvikler proteinuri (Garcia et al., 2020). En multifaktoriell årsak til proteinuri kan også gjelde for pasienter med immunmedierte lidelser som behandles med prednisolon. I fremtidige studier kan det derfor være lurt å inkludere parametere for blodtrykk for å kunne avdekke om hvorvidt det finnes en sammenheng mellom proteinuri, høyt blodtrykk og glukokortikoidenes effekt på nyrene.

Hvis man ser på antall pasienter i vår studie som kun har en urinprøve registrert utgjør disse 43 % av vårt datamateriale. Vi sitter derfor igjen med svært lite data å analysere. Siden det er om lag like mange hunder i studien som får en økning i mengde proteinuri, som det er av de som får en nedgang kan man ikke ut fra dette si at langtidsbruk med immunsuppressive doser med prednisolon mot immunmedierte lidelser fører til proteinuri.

Det er stor variasjon i doseringsregime, alder, rase og når i forløpet urinprøvene tas. Det er flere pasienter som har fått andre type medikamenter samtidig som prednisolon, det er pasienter som har blitt avlivet i løpet av behandlingen og det er en pasient som har utviklet

UVI i løpet av behandling. Slike faktorer skaper støy i datamaterialet og gjør at det blir umulig å si om økningen i proteinuri, som man ser hos noen av pasientene, faktisk er på grunn av langtidsbruk av immunsuppressive doser med prednisolon mot de immunmedierte lidelsene eller om de andre faktorene har spilt en rolle.

Konklusjon

Ut ifra våre resultater kan vi ikke konkludere med sikkerhet hvilken effekt prednisolon har på proteinuri hos pasienter med immunmediert sykdom. I et fremtidig studie må planlegges god tid til å samle inn pasienter og urinprøvene, helst UPC eller mikroalbuminuri må kjøres ved oppstart, minst ett satt tidspunkt underveis i behandlingen, ved seponering av behandling og en stund etter hunden er friskmeldt fra den immunmedierte lidelsen. I tillegg kan det være en idé å inkludere blodtrykksmålinger sammen med urinprøvene. Det må lages strenge ekskluderingskriterier, som for eksempel at hunden ikke kan stå på andre medikamenter samtidig og ikke ha andre sykdommer. Det er hele 12 av totalt 27 pasienter som har proteinuri ved oppstart med prednisolon, som vil si at så mange som 44,4% av hundene har proteinuri allerede før oppstart med behandling. Hvis vi skal forsøke å konkludere med noe, så er det at det kan se ut som at sykdommen kan bidra til tilstedeværelsen av proteinuri før oppstart av behandling, og det kan virke som at noen hunder får en bedring i proteinurien med behandling, mens andre derimot kanskje utvikler proteinuri på grunn av glukokortikoidbehandling. Igjen vil dette kunne enklere vurderes med en prospektiv studie. Konklusjonen som med sikkerhet kan dras ut fra denne studien er derimot at rammene for en fremtidig studie må settes før datainnsamlingen begynner.

Takk til bidragsytere

Vi vil gjerne si tusen hjertelig takk til våre fantastiske hjelpsomme veileder, Heidi Sjetne Lund og Sivert Nerhagen, for gode råd, støtte og ikke minst oppfølgingen vi fikk underveis i skriveprosessen. Vi vil gjerne takke Martine Hagen som har hjulpet oss i framstillingen av datamateriale i figurer. Det må også rettes en stor takk til venner og familie som har vist tålmodighet, omsorg og støtte under prosessen.

Summary

Title: Proteinuria in dogs treated with immunosuppressive doses of prednisolon for immunemediated disorders

Authors: Camilla Falla and Kristine Rambøl Hagen

Supervisor: Heidi Sjetne Lund and Sivert Nerhagen, Department of Companion Animal Clinical Sciences

The goal in this thesis was to explore the connection between development of proteinuria and high doses of prednisolone in dogs with immunemediated disease. Unfortunately, we did not manage to collect the required number of patients we needed during the time limit we had.

We therefore decided to perform a retrospective study of patients treated with immunosuppressive doses of prednisolone for immune mediated disorders registered in the electronical patient record system for the Norwegian University of Life Sciences, University Hospital for Small Animals. We included patients treated with immunosuppressive doses of prednisolone for immunemediated disorders. The data consisted of 27 dogs from 1 to 11 years of different breeds. The results showed no obvious signs that the prednisolone led to proteinuria. Our data revealed that some dogs had an improvement in proteinuria compared to before prednisolone therapy, and others had a worsening. Our data contained different factors that led to noise in the results and we had no or limited ability to draw any conclusions to what the proteinuria was caused by. Because a large percentage of the patients had proteinuria before therapy was started, we suspect that the condition itself contributes to the proteinuria seen in these patients. The effect of the medication is therefore difficult to assess fully, and might, in some cases actually lead to an improvement in proteinuria

Referanser

1. ABBAS, A. K., LICHTMAN, A. H. & PILLAI, S. 2014. Basic immunology
2. Functions and Disorders of the Immune System, Philadelphia, Elsevier Saunders.
3. BALCH, A. & MACKIN, A. 2007. Canine immune-mediated hemolytic anemia: pathophysiology, clinical signs, and diagnosis. *Compend Contin Educ Vet*, 29, 217-25.
4. BLAINE, J. 2016. Proteinuria: Basic Mechanisms, Pathophysiology and Clinical Relevance, Switzerland, Springer International Publishing.
5. EHRENSPERGER, F. 2018. [Autoimmune diseases in dogs and their impact for breeding programs with special reference of the Nova Scotia Duck Tolling Retriever]. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 160, 711-717.
6. FELIPPE, J. B. 2017. Immune-Mediated Hemolytic Anemia. Interpretation of Equine Laboratory Diagnostics.
7. GARCÍA SAN JOSÉ, P., ARENAS BERMEJO, C., CLARES MORAL, I., CUESTA ALVARO, P. & PÉREZ ALENZA, M. D. 2020. Prevalence and risk factors associated with systemic hypertension in dogs with spontaneous hyperadrenocorticism. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34, 1768-1778.
8. GIRAUD, L., GIROD, M. & CAUZINILLE, L. 2021. Combination of Prednisolone and Azathioprine for Steroid-Responsive Meningitis-Arteritis Treatment in Dogs. *J Am Anim Hosp Assoc*, 57, 1-7.
9. GRAUER, G. F. 2011. Proteinuria: Measurement and Interpretation. *Topics in Companion Animal Medicine*, 26, 121-127.
10. HARLEY, L. & LANGSTON, C. 2012. Proteinuria in dogs and cats. *Can Vet J*, 53, 631-8.

11. JOHNSON, K. C. & MACKIN, A. 2012. Canine immune-mediated polyarthritis: part 2: diagnosis and treatment. *J Am Anim Hosp Assoc*, 48, 71-82.
12. LAU, J., NETTIFEE, J. A., EARLY, P. J., MARIANI, C. L., OLBY, N. J. & MUÑANA, K. R. 2019. Clinical characteristics, breed differences, and quality of life in North American dogs with acute steroid-responsive meningitis-arteritis. *J Vet Intern Med*, 33, 1719-1727.
13. LOWE, A. D., CAMPBELL, K. L. & GRAVES, T. 2008. Glucocorticoids in the cat. *Vet Dermatol*, 19, 340-7.
14. MAIOLINI, A., OTTEN, M., HEWICKER-TRAUTWEIN, M., CARLSON, R. & TIPOLD, A. 2013. Interleukin-6, vascular endothelial growth factor and transforming growth factor beta 1 in canine steroid responsive meningitis-arteritis. *BMC Vet Res*, 9, 23.
15. MARYNISSEN, S. J. J., WILLEMS, A. L., PAEPE, D., SMETS, P. M. Y., PICAVET, P., DUCHATEAU, L. & DAMINET, S. 2017. Proteinuria in Apparently Healthy Elderly Dogs: Persistency and Comparison Between Free Catch and Cystocentesis Urine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31, 93-101.
16. MILLER, E. 1992. Immunosuppressive Therapy in the Treatment of Immune-mediated Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 6, 206-213.
17. MURGIER, P., JAKINS, A., BEXFIELD, N. & ARCHER, J. 2009. Comparison of semiquantitative test strips, urine protein electrophoresis, and an immunoturbidimetric assay for measuring microalbuminuria in dogs. *Vet Clin Pathol*, 38, 485-92.
18. NAM, A., KIM, S. M., JEONG, J. W., SONG, K. H., KOO, T. S. & SEO, K. W. 2017. Comparison of body surface area-based and weight-based dosing format for oral prednisolone administration in small and large-breed dogs. *Pol J Vet Sci*, 20, 611-613.

19. NARITA, T., SATO, R., MOTOISHI, K., TANI, K., NAITO, Y. & HARA, S. 2007. The interaction between orally administered non-steroidal anti-inflammatory drugs and prednisolone in healthy dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, 69, 353-363.
20. NELSON, R. W. & COUTO, C. G. 2014. *Small animal internal medicine*, St. Louis, Elsevier.
21. PEY, P., DAMINET, S., SMETS, P. M., DUCHATEAU, L., TRAVETTI, O. & SAUNDERS, J. H. 2012. Effect of glucocorticoid administration on adrenal gland size and sonographic appearance in beagle dogs. *Vet Radiol Ultrasound*, 53, 204-9.
22. SCHELLENBERG, S., METTLER, M., GENTILINI, F., PORTMANN, R., GLAUS, T. M. & REUSCH, C. E. 2008. The effects of hydrocortisone on systemic arterial blood pressure and urinary protein excretion in dogs. *J Vet Intern Med*, 22, 273-81.
23. SJAASTAD, Ø. V., SAND, O. & HOVE, K. 2010. *Physiology of domestic animals*, Oslo, Scandinavian Veterinary Press.
24. SWANN, J. W., GARDEN, O. A., FELLMAN, C. L., GLANEMANN, B., GOGGS, R., LEVINE, D. N., MACKIN, A. J. & WHITLEY, N. T. 2019. ACVIM consensus statement on the treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs. *J Vet Intern Med*, 33, 1141-1172.
25. SWANN, J. W., SZLADOVITS, B., THRELFALL, A. J., GARDEN, O. A., CHANG, Y.-M., CHURCH, D. B. & GLANEMANN, B. 2019. Randomised controlled trial of fractionated and unfractionated prednisolone regimens for dogs with immune-mediated haemolytic anaemia. *Veterinary Record*, 184, 771-771.
26. VADEN, S. L. & ELLIOTT, J. 2016. Management of Proteinuria in Dogs and Cats with Chronic Kidney Disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 46, 1115-30.
27. WAHREN-HERLENIUS, M. & DÖRNER, T. 2013. Immunopathogenic mechanisms of systemic autoimmune disease. *The Lancet*, 382, 819-831.

28. WATERS, C. B., ADAMS, L. G., SCOTT-MONCRIEFF, J. C., DENICOLA, D. B., SNYDER, P. W., WHITE, M. R. & GASPARINI, M. 1997. Effects of glucocorticoid therapy on urine protein-to-creatinine ratios and renal morphology in dogs. *J Vet Intern Med*, 11, 172-7.

Vedlegg

Vedlegg 1: Lapp hengt opp i klinikk

Har du en hund som skal starte på Prednisolon?

VI TRENGER URINPRØVE TIL FORDYPNINGSPROSJEKT!!



Vi skal undersøke sammenhengen med Prednisolon og proteinuri hos pasienter som behandles mot immunmedierte lidelser som IMHA, IMPA, SRMA ++

TA KONTAKT MED

Heidi Sjetne Lund: 67 23 24 10/ 93 21 81 86

Sivert Nerhagen: 458 32 776

Kristine Hagen: 90 26 89 48



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Postboks 5003
NO-1432 Ås
67 23 00 00
www.nmbu.no