

Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Untersuchung verschiedener prognostischer Marker einschliesslich des C-reaktiven  
Proteins bei der caninen autoimmunhämolytischen Anämie**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
**Christine Griebisch**  
Tierärztin aus Lüdenscheid

Berlin 2008

Journal-Nr. 3168

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. L. Brunnberg  
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. B. Kohn  
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Dr. A. Grabner  
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. F. J. Schweigert

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

dogs, dog diseases, autoimmune diseases, haemolytic anaemia, prognostic markers, acute phase proteins, c reactive protein

Tag der Promotion: 25.04.2008

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-532-5

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2008**

Dissertation, Freie Universität Berlin

**D 188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© **mensch und buch** verlag 2008

Nordendstr. 75 - 13156 Berlin – 030-45494866  
verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

# INHALT

<b>I. EINLEITUNG</b>	1
<b>II. LITERATURÜBERSICHT</b>	3
<b>1. Immunhämolytische Anämie (IHA) beim Hund</b>	3
1.1. Definition primäre und sekundäre IHA	3
1.2. Pathogenese	4
1.3. Klinisches Erscheinungsbild	6
1.4. Labordiagnostik	8
1.5. Weiterführende Diagnostik	12
1.6. Prognose und Verlauf	14
1.7. Therapie	21
<b>2. Akute-Phase-Proteine (APPs) als Marker bei der IHA des Hundes</b>	29
2.1. Zytokine und Akute-Phase-Antwort	29
2.2. APPs als Marker in der Humanmedizin	31
2.2.1. C-reaktives Protein (CRP)	31
2.2.2. Weitere Akute-Phase-Proteine	32
2.3. APPs in der Veterinärmedizin	33
2.3.1. APPs beim Hund	34
2.3.1.1. C-reaktives Protein	34
2.3.1.2. Haptoglobin (Hp)	44
2.3.1.3. Serum Amyloid A (SAA)	49
2.3.1.4. Coeruloplasmin (Cp)	50
2.3.1.5. $\alpha$ 1-Acid-Glycoprotein (AGP)	51
2.3.1.6. Fibrinogen	53
2.3.1.7. Albumin	53
2.3.2. Beeinflussung von APPs durch Medikamente	54
2.3.3. Effekte der Akute-Phase-Antwort auf die Wirksamkeit von Medikamenten	54
<b>3. Erythropoetin</b>	55
3.1. Erythropoetin und die Akute-Phase-Antwort	56
3.2. Erythropoetin und hämolytische Anämie	57

<b>III. MATERIAL UND METHODEN</b>	58
1.1. Patienten	58
1.2. Methoden	58
1.2.1. Eigene Untersuchungen	58
1.2.1.1. Anamnese	58
1.2.1.2. Klinische Untersuchung	58
1.2.1.3. Hämatologische Untersuchung	58
1.2.1.4. Differentialblutbild, Erythrozytenmorphologie	59
1.2.1.5. Objektträgeragglutination	60
1.2.1.6. Retikulozyten	60
1.2.1.7. Klinisch-chemische Blutuntersuchung	61
1.2.1.8. Harnuntersuchung	62
1.2.1.9. Plasmatische Gerinnung	62
1.2.1.10. Röntgen- und Ultraschalluntersuchung	63
1.2.2. Weiterführende Untersuchungen	63
1.2.2.1. Direkter Antiglobulin-Test (Coombs-Test)	63
1.2.2.2. Thrombozyten (Tc)-gebundene Antikörper	64
1.2.2.3. Serumantikörper- und PCR-Untersuchungen	64
1.2.2.4. Knochenmarkpunktion	65
1.2.3. Bestimmung der Akute-Phase-Proteine (APPs)	65
1.2.3.1. C-reaktives Protein (CRP)	65
1.2.3.2. Haptoglobin (Hp)	66
1.2.3.3. Fibrinogen	66
1.2.4. Erythropoetin (EPO)	66
1.2.5. Therapie und Verlauf	67
1.2.6. Histopathologische Untersuchung	67
1.2.7. Statistische Auswertung	68
<b>IV. ERGEBNISSE</b>	69
1. Signalement	69
1.1. Rasse	69
1.2. Alter	70
1.3. Geschlecht	71
2. Befunde bei Erstvorstellung	71

2.1.	Anamnese	71
2.2.	Klinische Allgemeinuntersuchung	72
2.3.	Hämatologische Untersuchung	72
2.3.1.	Hämatokrit, Hämoglobinkonzentration und Erythrozytenzahl	72
2.3.2.	Hämolyse	74
2.3.3.	Erythrozytenmorphologie	74
2.3.4.	Objektträgeragglutination	75
2.3.5.	Retikulozyten	76
2.3.6.	Normoblasten	77
2.3.7.	Leukozyten	77
2.3.8.	Thrombozyten	80
2.4.	Klinisch-chemische Blutuntersuchung	81
2.5.	Harnuntersuchung	91
2.6.	Plasmatische Gerinnung	92
2.7.	Weiterführende Untersuchungen	96
2.7.1.	Coombs-Test	96
2.7.2.	Thrombozyten-gebundene Antikörper	96
2.7.3.	Serumantikörper- und PCR-Untersuchungen	96
2.7.4.	Knochenmarkpunktion	96
2.8.	Bestimmung von Akute-Phase-Proteinen (APPs)	97
2.8.1.	C-reaktives Protein (CRP)	97
2.8.2.	Haptoglobin (Hp)	100
2.8.3.	Fibrinogen	101
2.9.	Bestimmung von Erythropoetin (EPO)	102
2.10.	Röntgen- und Ultraschalluntersuchung	103
2.11.	Therapie	104
3.	Histopathologische Untersuchungen	107
<b>V.</b>	<b>DISKUSSION</b>	108
1.	Signalement	108
2.	Befunde bei Erstvorstellung	109
2.1.	Anamnese	109
2.2.	Klinische Befunde	110
2.3.	Coombs-Test	110

2.4.	Hämatologische Untersuchungen	111
2.5.	Klinisch-chemische Blutuntersuchung	114
2.6.	Harnuntersuchung	116
2.7.	Plasmatische Gerinnung	117
2.8.	Bestimmung von Akute-Phase-Proteinen (APPs)	118
2.8.1.	C-reaktives Protein (CRP)	118
2.8.2.	Haptoglobin (Hp)	121
2.8.3.	Fibrinogen	122
2.9.	Bestimmung von Erythropoetin (EPO)	122
2.10.	Therapie	123
<b>VI.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>125</b>
<b>VII.</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>128</b>
<b>VIII.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>131</b>
<b>VIII.</b>	<b>ANHANG</b>	<b>149</b>

## Verwendete Abkürzungen:

AAP	$\alpha$ 1-Anti-Protease
Abb.	Abbildung
AGP	Alpha <sub>1</sub> -saures Glykoprotein
AID	„Anemia of Inflammatory Disease“
Ak	Antikörper
ALT	Alanin-Aminotransferase
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
AP	Alkalische Phosphatase
APP	Akute-Phase-Proteine
AST	Aspartat-Amino-Transferase
AT 3	Antithrombin 3
bzw.	beziehungsweise
C3	Komplementfaktor 3
CIBDAI	canine IBD activity index
CK	Kreatinkinase
Cp	Coeruloplasmin
CRP	C-reaktives Protein
cRPLA	capillary reverse passive latex agglutination test
d	Tag
DAT	direkter Antiglobulin-Test
DIC	disseminated intravascular coagulation (disseminierte intravasale Koagulation)
dl	Deziliter
DNA	Desoxyribonucleinsäure
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetraacetat
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EPO	Erythropoetin
FFP	Fresh Frozen Plasma
FSP	Fibrinspaltprodukte
GLDH	Glutamatdehydrogenase
Hb	Hämoglobin
Hkt	Hämatokrit

Hp	Haptoglobin
IBD	Inflammatory Bowl Disease
Ig	Immunglobulin
IHA	Immunhämolytische Anämie
IL	Interleukin
ITP	Immunbedingte Thrombozytopenie
ITA	Immunoturbidimetric Assay
IU	International Units
i.v.	intravenös
K	Kalium
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
KM	Knochenmark
m	männlich
MCH	Mittlere Hämoglobinkonzentration der Einzelerythrozyten
MCHC	Mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozytenmasse
MCV	Mittleres Erythrozytenvolumen
mk	männlich kastriert
ml	Milliliter
M	Median
MW	Mittelwert
n	Anzahl
Na	Natrium
PBS	phosphate buffered saline
PCV	packed cell volume
pIHA	primäre immunhämolytische Anämie
p.o.	per os
PRCA	Pure Red Cell Aplasia
PT	Prothrombinzeit
PTE	pulmonale Thromboembolie
rHuEPO	rekombinantes humanes Erythropoetin
RNA	Ribonukleinsäure
RPLA	slide reverse passive latex agglutination test
SAA	Serum Amyloid A

s.c.	subkutan
sec	Sekunden
sIHA	sekundäre immunhämolytische Anämie
SLE	Systemischer Lupus Erythematosus
Std	Stunden
Tab.	Tabelle
Tc	Thrombozyten
TNF	Tumornekrosefaktor
TR-IFMA	Time-resolved immunofluorometric Assay
u.a.	unter anderem
UPC	Urin-Protein/-Kreatinin-Ratio
v.a.	vor allem
w	weiblich
wk	weiblich kastriert
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil
μl	Mikroliter
μmol	Mikromol



## I. EINLEITUNG

Eine immunbedingte hämolytische Anämie (IHA) entsteht durch den Zusammenbruch der Immunselbsttoleranz, wodurch es zu einer immunbedingten Zerstörung von Erythrozyten durch die Bindung von Antikörpern (DAY, 1999) und/oder Komplement an die Erythrozytenmembran kommt. Die IHA kann primär (idiopathisch) oder sekundär sein. Bei einer primären IHA sind die Antikörper gegen unveränderte Erythrozytenmembranen gerichtet. Bei einer sekundären IHA liegen verschiedene Ursachen (wie Neoplasien, Infektionskrankheiten oder Medikamente) vor, die auslösend sein könnten. Die Diagnostik beruht auf persistierender Objektträgeragglutination, einem positiven Coombs-Test-Ergebnis und dem Nachweis von zahlreichen Sphärozyten im Blutaussstrich. Alle Ursachen für eine sIHA müssen ausgeschlossen werden, um die Diagnose einer pIHA stellen zu können.

Die pIHA ist assoziiert mit einer hohen Letalitätsrate. Verschiedene negative prognostische Faktoren sind in der Literatur beschrieben wie ein niedriges „packed cell volume“ (PCV) (SWITZER und JAIN, 1981; KLAG et al., 1993), nicht regenerative Anämie (SWITZER und JAIN, 1981; KLAG et al., 1993), das Vorliegen von Autoagglutination (DUVAL und GIGER, 1996; WEINKLE et al., 2005), eine intravaskuläre Hämolyse (DIEHL, 1996), eine Leukozytose und Linksverschiebung (BURGESS et al., 2000; WEINKLE et al., 2005), Thrombozytopenie (CARR et al., 2002, WEINKLE et al., 2005), ein erhöhter Bilirubinwert (KLAG et al., 1993; DUVAL und GIGER, 1996; REIMER et al., 1999; CARR et al., 2002; DAVIDOW und ONCKEN, 2004a; WEINKLE et al., 2005), eine AP-Erhöhung (REIMER et al., 1999), eine ALT-Erhöhung (WEINKLE et al., 2005), eine Hypokaliämie, eine CK-Erhöhung (WEINKLE et al., 2005), Hypoalbuminämie (CARR et al., 2002; WEINKLE et al., 2005), Hypoproteinämie (WEINKLE et al., 2005), eine Verlängerung der PTT (BURGESS et al., 2000; WEINKLE et al., 2005) bzw. PT (WEINKLE et al., 2005), das Vorliegen einer Thromboembolie (KLEIN et al., 1989; KELLERMAN et al., 1995; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001) und das Vorliegen einer DIC (FRYER et al., 2005). Detaillierte Angaben über Verläufe der hämatologischen, klinisch-chemischen und Gerinnungs-Parameter werden in den obengenannten Studien nicht gemacht.

Die Akute-Phase-Reaktion ist ein nicht spezifisches komplexes frühes Phänomen der angeborenen Immunantwort, bei dem eine Anzahl von Plasma-Proteinen - die Akute-Phase-Proteine - nach Gewebeverletzungen verursacht durch Infektionen, Entzündungen, malignen Neoplasien, chirurgischen Eingriffen und anderen Ursachen ansteigen. Ihre Aufgabe ist es, die Homöostase des Organismus wieder herzustellen und die Ursache für die Akute-Phase-

Reaktion zu beseitigen (WHICHER und WESTACOTT, 1992; MOSHAGE, 1997; EBERSOLE und CAPELLI, 2000; CERON et al., 2005).

Beim Hund ist das C-reaktive Protein (CRP) das wichtigste und am besten untersuchte Akute-Phase-Protein. Es steigt über 100fach an nach Stimulation. CRP wurde bei vielen pathologischen Prozessen des Hundes bestimmt und korrelierte in vielen Fällen mit der Schwere der Erkrankung (YAMAMOTO et al., 1994a; MATIJATKO et al., 2002; SPILLMANN et al., 2004; ULUTAS et al., 2005). In verschiedenen Studien wurde CRP als Marker zur Kontrolle des Behandlungserfolges gemessen. Führt eine erfolgreiche Behandlung zum Absinken der CRP-Konzentration (YAMAMOTO et al., 1993; JERGENS et al., 2003; HOLM et al., 2004), so deutete ein dauerhaft erhöhter CRP-Spiegel bzw. ein weiteres Ansteigen von CRP auf mangelnden Therapieerfolg bzw. ein Rezidiv hin (MARTINEZ-SUBIELA et al. 2002; TECLES et al., 2005). Es gibt nur wenige Untersuchungen, die sich mit der CRP-Konzentration bei der IHA des Hundes beschäftigen (CASPI et al., 1987; TECLES et al., 2005).

Haptoglobin (Hp) gehört beim Hund zu den moderaten APPs: Es steigt 2-3fach an bei Inflammation, Infektion oder Trauma (ECKERSALL und CONNER, 1988; ECKERSALL, 1995). Eine Aufgabe von Hp ist die Komplexbildung mit während der Hämolyse freiwerdendem Hämoglobin (TAKAMI, 1993), weshalb es bei IHA in verschiedenen Spezies zu einer Erniedrigung von Hp kommt. Die Gabe von Prednisolon führt zu einer Erhöhung (HARVEY und WEST, 1987; McGROTTY et al., 2003; ECKERSALL, 2003; JERGENS et al., 2003) von Hp. Es gibt nur wenige Daten zur Hp-Konzentration bei Hunden mit IHA (McGROTTY et al., 2003; TECLES et al., 2005).

Ziel dieser Studie war die Evaluierung von CRP und Hp als mögliche Marker für Prognose und Behandlungserfolg bei der caninen pIHA unter Einbeziehung bereits bekannter prognostischer Parameter. Alle Parameter wurden sowohl initial als auch im Verlauf untersucht, um Aussagen machen zu können, ob Veränderungen der einzelnen Parameter ebenfalls prognostisch relevant sein könnten.

## II. LITERATURÜBERSICHT

### 1. Immunhämolytische Anämie (IHA) beim Hund

#### 1.1. Definition primäre und sekundäre IHA

Unabhängig von der Ursache entsteht eine immunbedingte hämolytische Anämie durch den Zusammenbruch der Immunselbsttoleranz. Es kommt zu einer immunbedingten Zerstörung von Erythrozyten durch die Bindung von Antikörpern (IgG und/oder IgM, evtl. auch IgA [DAY, 1999]) und/oder Komplement (C3) an die Erythrozytenmembran, was zu einer direkten Zerstörung oder vorschnellen Phagozytose und Entfernung aus der Zirkulation führt (HONECKMAN, 1997, McCULLOUGH, 2003). Die Zerstörung der Erythrozyten kann (seltener) innerhalb des vaskulären Systems (intravaskuläre Hämolyse) oder (in den meisten Fällen) in Milz und/oder Leber (extravaskuläre Hämolyse) erfolgen. Der immunvermittelte Krankheitsprozess kann primär (idiopathisch) oder sekundär sein. Bei einer primären IHA sind die Antikörper gegen unveränderte Erythrozyten gerichtet. In der Literatur wird für die pIHA eine Prävalenz von ca. 60% im Vergleich zur sIHA beschrieben (BURGESS et al., 2000; ENGELBRECHT et al., 2002). Einer sekundären Immunantwort liegt eine identifizierbare Ursache zugrunde, die die Immunreaktion des Körpers „triggert“ (McCULLOUGH, 2003) und zu einer Veränderung der Erythrozytenantigene führt. Fremdantigene können an die Oberfläche körpereigener Gewebe und Zellen binden, so dass sich Antikörper gegen diese Hapten-Zellkomplexe bilden können (HONECKMANN et al., 1996). Als Ursachen für eine sIHA sind Neoplasien (z.B. Lymphom, Hämangiosarkom, Sarkom) (MELLANBY et al., 2004), Infektionskrankheiten (parasitär, mykotisch, bakteriell, viral, z.B. Ehrlichiose, Babesiose, Leishmaniose, Leptospirose) (STEWART und FELDMAN, 1993b; LOBETTI und SCHOENMAN, 2001; ENGELBRECHT et al., 2002), inkompatible Bluttransfusionen (COTTER, 1992), immunologische Erkrankungen (SLE) (SWITZER und JAIN, 1981; HONECKMAN, 1997), Medikamente (SCHWARTZ et al., 1995) oder Läufigkeit und Trächtigkeit (JACKSON und KRUTH, 1985) in der Literatur beschrieben. NOBLE und ARMSTRONG (1999) beschreiben das Auftreten einer sIHA bei 2 Hunden nach multiplen Bienenstichen. Auch diverse bakterielle Infektionen wie Abszesse, Discospondylitis, Pyometra und Pyelonephritis kommen als Ursachen für eine sIHA in Betracht (GIGER, 2005). MELLOR et al. (2005) beschreiben erstmals das Auftreten einer IHA und einer neutrophilen Dermatitis nach Gabe von Carprofen. In einer retrospektiven Studie waren 25% aller Hunde mit einer IHA unbekannter Ursache innerhalb eines Monats

vor dem Auftreten klinischer Symptome geimpft worden. Da es sich bei den Impfstoffen jedoch um modifizierte und Tot-Vakzine von verschiedenen Herstellern handelte, scheint es wahrscheinlicher, dass Impfstoffe eine bereits schwelende Immunantwort „triggern“ und verstärken und nicht die auslösende Ursache für eine IHA darstellen (DUVAL und GIGER, 1996). In einer Studie, in der 151 Hunde untersucht wurden, waren 30% innerhalb von 2 Monaten vor Ausbruch der Erkrankung geimpft worden (WEINKLE et al., 2005). In weiteren Studien konnte kein Zusammenhang zwischen Impfung und Entwicklung einer IHA festgestellt werden (CARR et al., 2002; DAVIDOW und ONCKEN, 2004). Ein jahreszeitlicher Zusammenhang konnte in einer Studie festgestellt werden mit einem vermehrten Auftreten von IHA in den Monaten Mai und Juni, was auf eine mögliche infektiöse Ursache einschliesslich durch Zecken übertragbare Krankheiten schliessen liess (KLAG et al., 1993). WEINKLE et al. (2005) fanden hingegen ein gehäuftes Aufkommen in den kalten Monaten zwischen April und September. Weitere Studien konnten diesen jahreszeitlichen Zusammenhang jedoch nicht bestätigen (KELLERMAN et al., 1995; BURGESS et al., 2000; DAVIDOW und ONCKEN, 2004).

## **1.2. Pathogenese**

IHA entsteht durch die Entwicklung von IgG- oder IgM-Antikörpern, die gegen die Erythrozyten-Membran gerichtet sind (GIGER, 2005). Es wurden alle 4 Subklassen der IgG Antikörper nachgewiesen, wobei IgG1 und IgG4 jedoch vorherrschen. Auch IgA wurde auf der Erythrozyten-Membran nachgewiesen, wobei die Signifikanz von relativ niedrigen IgA-Konzentrationen jedoch fraglich ist (DAY, 1999). Die Bildung von Autoantikörpern geschieht durch Präsentation von Eigen-Antigen durch MHC-Moleküle und Interaktion zwischen autoreaktiven B- und T-Lymphozyten. Autoreaktive T-Zellen (gerichtet gegen Proteine der Erythrozytenmembran und Glycophorinpeptide) werden gelegentlich im Blut von klinisch gesunden Hunden nachgewiesen, die z.T. mit von IHA betroffenen Hunden verwandt sind (DAY, 1999). Manchmal ist der Autoantikörper gegen Erythrozyten-Vorläuferzellen im Knochenmark gerichtet, was zum Auftreten einer schweren nicht regenerativen IHA führt (pure red cell aplasia [PRCA]). Hunde mit PRCA haben nicht immer an zirkulierende Erythrozyten gebundene Antikörper, aber Serum-IgG dieser Hunde kann die Erythropoese in vitro inhibieren (DAY, 1999). Die meisten Autoantikörper sind Erythrozyten-gebunden, nur wenige zirkulieren frei im Blut. Das Ausmass der Erythrozytenzerstörung ist abhängig von Typ und Menge der an die Erythrozytenmembran bindenden Antikörpern und der Beteiligung von Komplement.

IgG besitzt nur zwei Antigen-bindende Stellen (monomer) und kann Erythrozyten üblicherweise nicht direkt agglutinieren, wenn nicht eine grosse Menge an Antikörpern vorhanden ist. Binden IgG-Antikörper an die Erythrozyten-Membran, wird der Erythrozyt von Makrophagen phagozytiert, die multiple Rezeptoren für das konstante Fragment (Fc) des IgG-Moleküls haben. Da diese Makrophagen vornehmlich in der Milz gefunden werden, resultiert eine aktive Erythrophagozytose in Splenomegalie (WARREN und COLLINS, 1988). Steigt die Immunglobulin-Produktion weiter an und werden so immer mehr IgG-Antikörper an die Erythrozytenmembran gebunden, kommt es auch zu einer Erythrophagozytose in der Leber, was zu Hepatomegalie führt (McCULLOUGH, 2003). Sind die Erythrozyten sehr stark mit IgG bedeckt, können sie soviel Komplement aktivieren, dass es zu einer intravaskulären Hämolyse kommt (GIGER, 2005).

Die Aktivierung des Komplementsystems und Binden von Komplement-Proteinen an Erythrozyten spielt eine Schlüsselrolle in der Entwicklung einer IHA. Aktivierung von Komplement kann zu direkter intravaskulärer Hämolyse führen oder die extravaskuläre Lyse noch verstärken und zur Produktion von Sphärozyten führen. C1, eine Serin-Protease der Leber, startet die Komplement-Kaskade und führt durch eine Serie von Enzymreaktionen zur Bildung eines „Membrane Attack Complex“, der sich an die Erythrozytenmembran anlagert. Der „Membrane Attack Complex“ „schlägt Löcher“ in die Erythrozytenmembran, was zum Einströmen von Wasser und Elektrolyten, Anschwellen der Zelle und Lyse führt (WARREN und COLLINS, 1988; STEWART und FELDMAN, 1993a). Der C3b-Membran-Komplex kann in der Milz von Makrophagen entfernt werden (partielle Phagozytose), was zur Entstehung von Sphärozyten führt. Sphärozyten sind starrer als normale Erythrozyten und werden daher schneller in Milz oder Leber zerstört (DODDS, 1977).

IgM ist ein grosses pentamerisches Immunglobulin und agglutiniert Erythrozyten (WARREN und COLLINS, 1988). Makrophagen haben keine Fc-Bindungsstelle für IgM, so dass die Zerstörung von IgM-bedeckten Erythrozyten durch Komplement geschieht (GIGER, 2005). Nach Binden von IgM kann auch C1 gebunden und somit die Komplementkaskade aktiviert werden. Nach der Komplementaktivierung kann IgM sich wieder lösen und an andere Erythrozyten binden.

Neuere Studien zeigen, dass auch oxidativer Stress eine Rolle in Pathogenese und Entwicklung von IHA spielen könnten. Weitere Studien sind hier nötig, um die Signifikanz oxidativer Stress-Marker und die Rolle von Antioxidanzien bei der Behandlung von IHA zu klären (PESILLO et al., 2004).

In der Humanmedizin gibt es Studien, die sich mit der Rolle von Zytokinen bei der Pathogenese der IHA beschäftigen. In verschiedenen in vitro Studien wurde eine Imbalance zwischen IL-10 und IL-12 festgestellt, die mit ursächlich für die Produktion von Antikörpern bei der IHA des Menschen sein könnte. Es wurde postuliert, dass die Neutralisation von IL-10 bzw. die Gabe von IL-12 eine mögliche Option zur Therapie der IHA darstellen könnte (TORIANI-TERENZI et al., 2002; FAGIOLO et al., 2003; FAGIOLO, 2004; TORIANI-TERENZI et al., 2005). Einem Anstieg der Akute-Phase-Proteine geht immer eine Veränderung der Zytokine voraus (siehe Kapitel 2.1.). Da es bei Hunden mit IHA zu einem Anstieg verschiedener Akute-Phase-Proteine kommt (CASPI et al., 1987; McGROTTY et al., 2003; TECLES et al., 2005), ist es nahe liegend, dass die Akute-Phase-Reaktion an der Pathogenese der IHA beteiligt ist (siehe Kapitel 2.3.1.).

### **1.3. Klinisches Erscheinungsbild**

Von einigen Autoren wird eine **Rassedisposition** bei der pIHA beschrieben, wobei u.a. Zwergpinscher (MILLER et al., 2004), Amerikanischer Cocker Spaniel (GIGER, 2005), Cocker Spaniel (DODDS, 1977; KLAG et al., 1993; KELLERMAN et al., 1995; REIMER et al., 1999; BURGESS et al., 2000; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001; CARR et al., 2002, ENGELBRECHT et al., 2002; WEINKLE et al., 2004; DAVIDOW und ONCKEN, 2004; MILLER et al., 2004), Irish Setter (DODDS, 1977), Pudel (DODDS, 1977; KELLERMAN et al., 1995; REIMER et al., 1999), Collies (KLAG et al., 1993; REIMER et al., 1999; BURGESS et al., 2000; MILLER et al., 2004), Englischer Springer Spaniel (KLAG et al., 1993; REIMER et al., 1999), Labrador Retriever (BURGESS et al., 2000), Zwergschnauzer (KELLERMAN et al., 1995; REIMER et al., 1999; BURGESS et al., 2000; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001; WEINKLE et al., 2005), Bobtail (ENGELBRECHT et al., 2002), Finnische Spitze (MILLER et al., 2004), Bichon Frise (MILLER et al., 2004) und Shih Tzu (KELLERMAN et al., 1995) vermehrt betroffen sein sollen. In einer anderen Studie konnte keine Rassedisposition festgestellt werden. Mit 12 von 41 Hunden waren Mischlinge am häufigsten vertreten (PRÜFER, 1995). Mittelalte weibliche kastrierte Tiere sind laut Literaturangaben häufiger betroffen als männliche (DODDS, 1977; JACOBS et al., 1984; JACKSON und KRUTH, 1985; KELLERMAN et al., 1995; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001; CARR et al., 2002; MILLER et al., 2004), wobei erhöhte Östrogenspiegel die Entstehung autoimmuner Krankheiten zu begünstigen scheinen. In einer Studie von WEINKLE et al. (2005) waren weibliche Hunde und kastrierte Hunde beiderlei Geschlechts überrepräsentiert. Ein Erklärungsversuch hierfür war ein eventueller protektiver Effekt von

Androgenen. In einer Studie von ENGELBRECHT et al. (2002) war das **Geschlechterverhältnis** leicht zugunsten der männlichen jungen und mittelalten Tiere verschoben. Ein ausgeglichenes Geschlechtsverhältnis wurde bei 42 Hunden (KLAG et al., 1993) festgestellt. Das mittlere **Alter** betroffener Hunde wird in der Literatur mit 1 bis 13 Jahren angegeben (KLAG et al., 1993). In einer Studie von WEINKLE et al. (2005), in die 151 Hunde eingingen, lag das Alter bei  $6,6 \pm 2,9$  Jahren, in einer weiteren hatten 2-4 und 5-7 Jahre alte Hunde ein höheres Risiko, eine IHA zu entwickeln, als andere (REIMER et al., 1999).

MILLER et al. (2004) untersuchten, ob Blutgruppen Risikofaktoren für die Entwicklung einer IHA darstellen. Hierzu untersuchten sie 33 Hunde mit IHA, 1.014 Hunde ohne IHA mit bekannter Blutgruppe, 15.668 Hunde bekannter Rasse ohne IHA und 15.589 Hunde mit bekanntem Geschlecht. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass das Antigen 7 mit einem signifikanten protektiven Effekt beim Cocker Spaniel assoziiert war.

Wichtig zur Diagnosestellung ist vor allem eine vollständige und gründliche **Anamnese**. So sollte nach Art und Zeitpunkt der letzten Impfung, Auslandsaufenthalten, Medikamentengaben (v.a. Antibiotika und NSAIDs), mögliche Aufnahme von Zwiebeln oder „Pennies“ (McCULLOUGH, 2003) und der letzten Läufigkeit gefragt werden.

Die meisten klinischen **Symptome** werden durch schwere Anämie und die dadurch in Organsystemen wie Leber, Lunge, Herz, Niere und Darm hervorgerufene Hypoxie ausgelöst (McCULLOUGH, 2003).

Die Symptome bei Erstvorstellung können bei einer chronischen IHA eher unspezifisch sein. Häufig werden die Tiere wegen Lethargie, Schwäche, Belastungsintoleranz oder Anorexie vorgestellt. Eine Episode von Erbrechen und Durchfall kann den typischen Anzeichen einer Anämie und Hämolyse (Pigmenturie, Ikterus) vorausgehen. Symptome einer akuten IHA sind das plötzliche Zusammenbrechen eines zuvor gesunden Tieres, Blässe oder Ikterus (DODDS, 1983). Die klinische Untersuchung kann blasse Schleimhäute, Tachypnoe, Tachykardie, schwache Herzgeräusche (sekundär herabgesetzte Blutviskosität durch die Anämie), Splenomegalie, Hepatomegalie, Ikterus, Fieber, Bilirubinurie und/oder Hämoglobinurie ergeben (KLAG et al., 1993; HONECKMAN, 1997; REIMER et al., 1999; BURGESS et al., 2000). Eine Dyspnoe ist Zeichen eines pulmonalen Problems, z. B. einer Thromboembolie (GIGER, 2005).

#### 1.4. Labordiagnostik

Bei einem Hund mit Verdacht auf IHA sollte ein vollständiges Blutbild, eine Retikulozytenzählung, die Bewertung eines Blutausstrichs, eine klinische Chemie, Untersuchung auf Infektionskrankheiten wie Anaplasrose, Babesiose, Ehrlichiose und Leishmaniose, eine Gerinnung und eine Urinanalyse sowie Röntgen von Thorax und Abdomen und Sonographie des Abdomens umfassen. Eine vorläufige Diagnose kann oft schon anhand des Blutausstrichs gestellt werden, wenn andere Ursachen der Anämie ausgeschlossen sind. Ein positiver Coombs-Test erhärtet die Diagnose. Es ist wichtig, alle Ursachen einer sIHA bestmöglich auszuschliessen, bevor man die Diagnose pIHA stellt (HONECKMAN, 1997). In einigen Fällen zeigen die Laborergebnisse die Folgen einer akuten hämolytischen Krise mit hypoxischen Multiorganschäden und -nekrosen und dadurch bedingter Akute-Phase-Reaktion.

In verschiedenen Studien lag der **PCV**-Wert bei Erstvorstellung zwischen 4 und 35% (M 15) (n = 151) (WEINKLE et al., 2005), zwischen 5 und 33% (MW  $16 \pm 5$ ) (n = 72) (CARR et al., 2002), zwischen 5,2-30% (MW 13,7) (n = 70) (REIMER et al., 1999) und zwischen 10-34% (MW  $18 \pm 7$ ) (n = 23) (ENGELBRECHT et al., 2002). Bei 42 Hunden lag der initiale PCV-Wert bei 88% der Hunde  $<20\%$  (KLAG et al., 1993), bei 60 Hunden hatten 98% einen Hkt-Wert  $<25\%$  (MW und M 14) (BURGESS et al., 2000).

Die meisten Fälle einer IHA sind regenerativ, da reife Erythrozyten hämolysiert werden und die Erythrozytenvorläufer davon nicht betroffen sind. Ein Fehlen von **Retikulozyten** schliesst eine IHA jedoch nicht aus, da es zu einer Immunantwort auch gegen die Vorläuferzellen kommen kann und bei einer akuten Anämie erst nach ca. 3 Tagen Retikulozyten im Blut nachgewiesen werden können (HONECKMAN, 1997; KOHN und GIGER, 2001). Weiterhin wird angenommen, dass der Krankheitsprozess der IHA das Mikroklima des Knochenmarks so verändern kann, dass es zu einer Hemmung der Erythropoese kommt (GIGER, 2005). In verschiedenen Studien wurde der Grad der Regeneration bei 38–71% der Hunde initial als stark regenerativ (KLAG et al., 1993; REIMER et al., 1999; BURGESS et al., 2000; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001; ENGELBRECHT et al., 2002; WEINKLE et al., 2005), bei 10-35% als leicht regenerativ (KLAG et al., 1993; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001; ENGELBRECHT et al., 2002) und bei 26% (ENGELBRECHT et al., 2002) bzw. 30% (SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001) als nicht regenerativ beschrieben.

**Sphärozyten** sind mikrozytär erscheinende Erythrozyten ohne zentrale Aufhellung. Sie entstehen durch partielle Phagozytose oder Lyse, sind starr und ihre osmotische Fragilität ist erhöht. Eine grosse Anzahl von Sphärozyten kommt bei nahezu 2/3 der Hunde mit IHA vor,

jedoch können einige wenige Sphärozyten auch bei Tieren mit Hypophosphatämie, Zink-Intoxikation oder mikroangiopathischer Hämolyse gesehen werden (GIGER, 2005). In verschiedenen Studien konnten bei 67% (n = 42) (KLAG et al., 1993), 75% (BURGESS et al., 2000), 79% (n = 70) (REIMER et al., 1999), 89% (n = 151) (WEINKLE et al., 2005), 94% (CARR et al., 2002) und 95% (SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001) der Hunde Sphärozyten gefunden werden.

Eine **Autoagglutination**, die auch nach dreimaligem Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung persistiert, ist nahezu pathognomonisch für eine IHA (KLAG et al., 1993).

IgM- und IgG-Antikörper in grösseren Mengen können eine direkte Autoagglutination auslösen. Autoagglutination kann bereits makroskopisch sichtbar sein, wenn Blut sich in einem EDTA-Röhrchen befindet oder auf einen Objektträger verbracht wird.

Autoagglutination muss von *Rouleaux-Bildung* (Geldrollen-Bildung) unterschieden werden. Aus bisher nicht bekannten Gründen haben Erythrozyten die Eigenschaft, in Anwesenheit von Plasma bei kälteren Temperaturen unspezifisch zu agglutinieren. Die Zugabe eines Tropfens physiologischer Kochsalzlösung zu einem Tropfen Blut führt bei gesunden Tieren zum Aufbrechen dieser unspezifischen Agglutination. Bricht die Agglutination nicht auf, so ist es wichtig zu bestimmen, ob die Agglutination nach dreimaligem Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung persistiert, was als wahre Autoagglutination bezeichnet wird (GIGER, 2005). In 3 Studien persistierte die Agglutination bei 10% (n = 42) (KLAG et al., 1993), 52% (n = 58) (DUVAL und GIGER, 1996) und 4 % (n = 23) (ENGELBRECHT et al., 2002) der Hunde nach dreimaligem Waschen mit PBS. In anderen Studien wurde bei 40% (n = 20) (SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001), 42% (n = 30) (CARR et al., 2002), 78% (n = 151) (WEINKLE et al., 2005), 89% (n = 60) (BURGESS et al., 2000), und 100% (n = 26) (DAVIDOW und ONCKEN, 2004) der Hunde eine Autoagglutination festgestellt. In diesen Studien wurde eine Autoagglutination definiert als persistierende Agglutination nach Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung, ein Waschen der Erythrozyten wurde allerdings nicht durchgeführt. REIMER et al. (1999) fanden bei 66% von 70 Hunden eine Autoagglutination. Jedoch fand nicht bei allen Hunden eine Zugabe von physiologischer Kochsalzlösung statt, um eine Rouleauxbildung auszuschliessen. ENGELBRECHT et al. (2002) fanden bei allen Hunden (n = 23) mit pIHA eine makroskopische Erythrozytenagglutination.

Patienten mit IHA zeigen in den meisten Fällen eine leichte bis schwere **Leukozytose** mit Linksverschiebung und toxisch veränderten neutrophilen Granulozyten. McMANUS und CRAIG (2001) fanden einen Zusammenhang zwischen der Schwere der Leukozytose und dem Ausmass von Gewebnekrosen in den einzelnen Organen, wobei die häufigste

Veränderung beim Hund die zentrolobuläre hepatische Nekrose war. Lag nur eine schwache Leukozytose (17,6-28,0 G/L) vor, wurden in der Sektion Thromben ohne Anzeichen einer Nekrose, eine kortikosteroid-induzierte Hepatopathie oder Cholestase gefunden; bei mittlerer (28,0-40,0 G/L) und starker (>40 G/L) Leukozytose fand man hingegen zentrolobuläre hepatische Nekrosen und Infarkte in Milz, Niere, Lunge und Herz. Komplement-Faktor 5a und ein Spaltprodukt der C3-Komponente sind an der Stimulierung der Neutrophilen-Freisetzung aus dem Knochenmark beteiligt und führen so zu einer weiteren Erhöhung der zirkulierenden Neutrophilen (SKUBITZ, 1999). Auch sekundär nach Nekrose, Infektion und Neoplasie freigesetzte Zytokine erhöhen die Freisetzung der Neutrophilen aus dem Knochenmark (OPDENAKKER et al., 1998). Eine schwere Leukozytose >60 G/l gilt als negativer prognostischer Faktor für das Überleben der Tiere (BURGESS et al., 2000).

In einigen Fällen liegt zusätzlich eine **Thrombozytopenie** vor. In einer Studie hatten 70% der Hunde eine Thrombozytopenie <200.000/ $\mu$ l, davon wiesen 22% Thrombozytenwerte <50.000/ $\mu$ l auf. Thrombozytopenie galt als negativer prognostischer Faktor mit höherer Letalität und erhöhtem Risiko der Entwicklung von Thromboembolien (CARR et al., 2002). Leichte bis schwere Thrombozytopenie lag bei 67% der Hunde in einer Studie mit 42 Tieren vor (KLAG et al., 1993), in einer weiteren mit 60 Tieren lag eine Thrombozytopenie bei 68% der Tiere vor, wobei 11 der Hunde Thrombozyten <50.000/ $\mu$ l aufwiesen (BURGESS et al., 2000). 13 von 20 Hunden hatten Thrombozytenzahlen unter dem Referenzbereich von 200-900  $\times 10^3$ / $\mu$ L, wobei 5 von diesen Tieren eine Thrombozytenzahl <50  $\times 10^3$ / $\mu$ L aufwiesen (SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001).

Die **klinische Chemie** gibt Hinweise auf evtl. hypoxisch oder durch Hämoglobinämie bedingte Multiorganschäden mit *Azotämie* (prärenal oder renal), erhöhtem *Protein*, erhöhten *Leberenzymen* (ALT, AP, AST) sowie erhöhtem *Bilirubin* (McCULLOUGH, 2003). In einer Studie hatten 71% der Hunde initial 1 oder mehrere abnorme Blutchemiewerte: 58% hatten eine ALT-, 69% eine AST- und 80% eine AP-Erhöhung. 20% der Hunde wiesen Bilirubinwerte im Normbereich auf, bei 80% lag der Bilirubinwert >0,4 mg/dl (Median 3,59 mg/dl) (BURGESS et al., 2000). In einer Studie mit 20 Hunden lagen Bilirubinwerte zwischen 0,1 und 38,0 mg/dl vor (Median 1,0, Ref. 0,1-0,8), wobei 12 Hunde einen erhöhten Bilirubinwert aufwiesen (SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001). Hyperbilirubinämie entsteht durch erhöhte Freisetzung von Bilirubin gepaart mit erniedrigter hepatischer Clearance (McMANUS und CRAIG, 2001). In verschiedenen Studien war ein hoher Bilirubin-Spiegel mit einer signifikant höheren Letalität assoziiert (CARR et al., 2002; DAVIDOW und ONCKEN, 2004). In chronischen Fällen kann der Bilirubin-Spiegel jedoch nur leicht erhöht

sein, was mit einem hocheffektiven gesteigerten Bilirubin-Metabolismus erklärt wird. Weiterhin ist es möglich, dass hohe Bilirubinwerte aufgrund einer bereits bestehenden Hepatopathie vorliegen. Tatsächlich haben Hunde mit IHA oft erhöhte Leberwerte, noch bevor sie Glukokortikoide erhalten (GIGER, 2005). Eine Hämoglobinämie und/oder -urie hatten in einer Studie 10% der Hunde (KLAG et al., 1993).

Eine **Urinanalyse** sollte durchgeführt werden, da Hunde mit IHA oft eine Bilirubinurie und bei intravaskulärer Hämolyse eine Hämoglobinurie zeigen (HONECKMAN, 1997). Eine Hämoglobinurie entsteht, wenn die tubuläre Kapazität, Haptoglobin und Hämopexin zu reabsorbieren, erschöpft ist. Steril entnommener Harn sollte mikrobiologisch untersucht werden. Eine bakterielle Zystitis kann sowohl eine der IHA zugrunde liegende infektiöse Erkrankung anzeigen als auch als Komplikation verursacht durch immunsuppressive Therapie auftreten, weshalb eine mikrobiologische Untersuchung des Harnes regelmässig wiederholt werden sollte (GIGER, 2005).

In einer Studie von SCOTT-MONCRIEFF et al. (2001) hatten 8 von 20 Hunden eine abnormale Urin Protein/Kreatinin-Ratio (UPC-Ratio), wobei sich dies bei 7 der Hunde durch das Vorliegen von Hämaturie und/oder Hämoglobinurie erklären liess.

Eine veränderte **Gerinnung** kann Hinweise geben auf das Vorliegen einer *disseminierten intravasalen Koagulopathie (DIC)* und eines *Thromboembolismus*. Höhere Mortalitätsraten standen im Zusammenhang mit Thromboembolien (KLEIN et al., 1989; KLAG et al., 1993; KELLERMAN et al., 1995), jedoch nicht immer mit DIC (CARR et al., 2002). Obwohl der Grund für die Entwicklung von Thromboembolien noch unbekannt ist, konnte in einer Studie gezeigt werden, dass sich einige Hunde mit IHA in einem hyperkoagulatorischen Zustand befinden (MISCHKE, 1998). Hyperkoagulabilität entsteht durch eine erhöhte Konzentration an prokoagulatorischen Faktoren (z.B. Fibrinogen), erniedrigte Konzentration an fibrinolytischen oder antikoagulatorischen Faktoren (z.B. Antithrombin), Vaskulitis, DIC, erhöhte Plättchenaktivität, Anwesenheit von Antiphospholipid-Antikörpern oder Kombination dieser Faktoren (SCHAFER, 1985; FELDMAN et al., 1999; BICK, 1994; SCOTT-MONCRIEFF, 2005). Die Effekte von Zytokinen, die von geschädigten Erythrozyten und Endothelien freigesetzt werden, könnten die Ursache vieler dieser Abnormitäten sein (SCOTT-MONCRIEFF, 2005). In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass Hunde mit IHA häufig veränderte Gerinnungsparameter aufweisen bzw. einem erhöhten Risiko unterliegen, eine DIC zu entwickeln (KLAG et al., 1993; BURGESS et al., 2000; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001). SCOTT-MONCRIEFF et al. (2001) stellte bei 9 von 20 Hunden aufgrund des Vorliegens von 4 oder mehr labordiagnostischen Anzeichen einer DIC die

Diagnose DIC, bei 4 Tieren wurde aufgrund des Vorliegens von lediglich 3 Anzeichen eine DIC angenommen. Bei 2 überlebenden Hunden wurde aufgrund des Auftretens einer akuten Dyspnoe eine pulmonale Thromboembolie vermutet. Insgesamt 6 Hunde verstarben, wobei bei 1 Hund eine pulmonale Thromboembolie, bei 2 Hunden eine DIC mit Hinweis auf Thrombose festgestellt wurde. In einer weiteren Studie mit 72 Hunden lagen von 32 Hunden Gerinnungsparameter vor. Bei 10 von 31 Hunden, bei denen genügend Daten vorlagen, um eine DIC diagnostizieren zu können, wurde eine DIC festgestellt, bei 8 Hunden wurde sie lediglich vermutet. Insgesamt starben 19 von 72 Hunden und 23 wurden euthanasiert. Bei 20 von 25 pathologisch untersuchten Hunden wurden Thromboembolien in verschiedenen Organen festgestellt. Signifikante Risikofaktoren für die Entwicklung einer Thromboembolie waren eine schwere Thrombozytopenie, Bilirubinwerte  $>5$  mg/dl und Hypoalbuminämie. Hunde mit einer erhöhten AP, erhöhten Bilirubinwerten und Hypoalbuminämie unterlagen einem erhöhten Risiko, eine Thromboembolie zu entwickeln (CARR et al., 2000). In einer Studie von KELLERMAN et al. (1997) waren das Vorliegen von Dyspnoe und pulmonaler Thromboembolie mit einer signifikant höheren Letalität assoziiert, wobei die Inzidenz einer pulmonalen Thromboembolie (PTE) mit dem Vorliegen einer intravaskulären Hämolyse korrelierte.

Die **Untersuchung des Knochenmarks** wird vor allem benötigt, wenn der Patient eine nichtregenerative Anämie aufweist, eine direkte Zerstörung von erythroiden Vorläuferzellen angenommen wird oder weitere Zytopenien vorliegen. Knochenmarkaspirate können hilfreich sein bei der Diagnose von PRCA, neoplastischer Infiltration oder immunbedingter Zerstörung von erythroiden Vorläuferzellen (McCULLOUGH et al., 2003). Eine Knochenmarkpunktion wurde bei 11 von 20 Tieren vorgenommen: bei 6 Tieren lag eine erythroide, bei 7 eine myeloide und bei 4 eine megakaryozytäre Hyperplasie vor, während bei einem Hund eine ineffektive Erythropoese vorlag (SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001).

### **1.5. Weiterführende Diagnostik**

Der Antiglobulin-Test wurde 1945 durch den Tierarzt Robin RA Coombs entwickelt (WARDROP, 2005).

Der direkte **Coombs-Test** oder direkte Antiglobulin-Test wird benutzt, um Antikörper und/oder Komplement auf der Erythrozyten-Oberfläche nachzuweisen. Die sogenannten „inkompletten“ Antikörper auf den Erythrozyten führen nach Zugabe von spezies-spezifischen Antiglobulinen gegen IgG, IgM und C3b (Coombs-Reagens) zu einer Antikörper-Brückenbildung und somit zur Agglutination oder Lyse der Antikörper-beladenen

Erythrozyten. Die spezies-spezifischen Antikörper werden den gewaschenen Erythrozyten des Patienten in unterschiedlichen Konzentrationen zugesetzt und sowohl bei 37°C als auch bei 4°C inkubiert. Da der Endpunkt des Coombs-Tests in einer Agglutination der Erythrozyten besteht, schliesst eine „wahre“ Autoagglutination das Durchführen eines Coombs-Tests aus. Die Stärke der Coombs-Test-Reaktion spiegelt nicht notwendigerweise die Schwere der Hämolyse wieder. Um die definitive Diagnose IHA stellen zu können, sollte der Coombs-Test positiv sein (GIGER, 2005). In einer Studie mit 42 Hunden wiesen 74% ein lediglich IgG-positives Testergebnis auf und waren IgM und C3 negativ (KLAG et al., 1993). In einer Studie von ENGELBRECHT et al. (2002) hatten 15 von 22 Hunden ein IgG-positives Coombs-Test Ergebnis, 6 Hunde waren IgG und C3 positiv und einer war IgG, IgM und C3 positiv. SLAPPENDEL (1979) stellte bei 32 Hunden mit IHA folgende Verteilung der Antikörperklassen fest: IgG (n = 6), IgG + C (n = 18), IgM + C (n = 1), C (n = 7).

Falsch negative Testergebnisse können entstehen durch technische Fehler, wie fehlerhafte Reagentien, falsche Verdünnungen, falsche Inkubationstemperaturen sowie ungenügendes Waschen der Erythrozyten. Negative Testergebnisse können auch bei Tieren auftreten, deren Antikörper-Konzentration für den Nachweis durch den Coombs-Test zu gering ist, jedoch ausreicht, um zu einer Zerstörung von Erythrozyten zu führen. Auch bei Tieren, deren Krankheit sich bereits in Remission befindet, kann das Testergebnis negativ ausfallen. Es ist jedoch unwahrscheinlich, dass einige wenige Tage immunsuppressiver Therapie bereits zu einem negativen Testergebnis führen, und behandelte Tiere können für einen langen Zeitraum nach Therapiebeginn noch ein positives Testergebnis haben (GIGER, 2005; WARDROP, 2005).

Zu falsch positiven Testergebnissen kann es durch technische Fehler wie verschmutzte Platten oder mit Schwermetallen, Silikon-Gel oder Bakterien verunreinigte Reagentien kommen. Auch fehlerhaftes Ablesen, das Benutzen geronnener Proben, die in vitro gebundenes Komplement enthalten oder von Proben, die in Silikon-Gel enthaltenen Gefässen aufgefangen oder aus Infusionsschläuchen entommen wurden, die mit Dextrose-haltigen Lösungen in Kontakt waren, führen zu falsch positiven Ergebnissen. Das Vorhandensein polyagglutinierbarer Erythrozyten bei septikämischen Patienten führt ebenfalls zu einem falsch positiven Ergebnis. Dieser polyagglutinierbare Zustand resultiert aus dem Freilegen eines sogenannten Thomsen-Freidenreich (T) Kryptantigens, welches ein natürlich vorkommendes Antigen auf der Oberfläche der Erythrozyten darstellt. Es wird normalerweise durch eine Schicht N-Acetyl-Neuramin-Säure bedeckt, welches durch die bakterielle Neuraminidase „aktiviert“ oder freigelegt werden kann. Normales Hasen-Serum enthält anti-

T-Ak und kann somit zu einer Agglutination von T-aktivierten Erythrozyten führen. Auch eine Hypergammaglobulinämie kann durch eine nichtspezifische Bindung der in hoher Konzentration vorkommenden Immunglobuline zu einem falsch positiven Ergebnis führen. Auf jedem Erythrozyten kommen natürlicherweise geringe Mengen an IgG und C3 vor und bei gesunden Hunden kann es zu kälte-reaktiver Autoagglutination kommen. Aus diesem Grund sollte das Ergebnis bei Patienten, die keine Symptome aufweisen, stets mit Vorsicht interpretiert werden (WARDROP, 2005).

Weitere Testmöglichkeiten zum Nachweis antierythrozytärer Antikörper stellen der *indirekte Antiglobulin-Test (IAT)*, ein *Enzyme-linked Antiglobulin-Test (DELAT)*, ein *Immunfluoreszenz-Test*, ein *Gel-Test* (WARDROP, 2005) sowie die *Durchflusszytometrie* (QUIGLEY et al., 2001) dar.

### **1.6. Prognose und Verlauf**

Die Letalitätsrate bei Hunden mit IHA ist in der Literatur mit 20-75% angegeben (GIGER, 2005).

In einer Studie von DIEHL (1996) starben 16 von 20 Hunden mit intravaskulärer Hämolyse (n = 7) oder wurden euthanasiert (n = 9). Fünf Hunde wurden innerhalb der ersten 24 Stunden euthanasiert, bei 4 Hunden wurde die Euthanasie innerhalb von 3 bis 5 Tagen auf Besitzerwunsch durchgeführt, obwohl sich der klinische Zustand nicht verschlechtert hatte.

SWITZER und JAIN (1981) stellten in einer Studie mit 77 Hunden eine Letalitätsrate von 37,7% fest. Mit einer erhöhten Letalität assoziiert waren ein PCV <10% und ein Retikulozyten-Produktions-Index <2,5 (Tab. 1). Jedoch hatten nur 45 Hunde eine pIHA, die restlichen Hunde hatten zusätzlich ITP u./o. SLE. Die Letalitätsrate der Hunde mit pIHA lag bei 33,3% innerhalb der ersten Tage.

In einer Studie mit 42 Hunden lag die Letalitätsrate während des Klinikaufenthaltes bei 29%, insgesamt bei 33%. 30 Hunde konnten entlassen und 18 über einen Zeitraum von 2-130 Tagen beobachtet werden. 2 Hunde wurden 1 Monat nach Entlassung wegen unbeherrschbarer IHA euthanasiert. Eine signifikant höhere Letalität lag vor bei einer initial niedrigen korrigierten Retikulozytenzahl ( $1,4 \pm 1,1\%$ ), einem initial sehr niedrigen PCV ( $13,0 \pm 2,2\%$ ) und Bilirubinwerten  $>10$  mg/dl (Tab. 1). Keine statistisch signifikant höhere Letalität lag vor bei persistierender Autoagglutination und der Gabe von Bluttransfusionen (Tab. 2) (KLAG et al., 1993).

DUVAL und GIGER (1996) teilten 58 Hunde in 1 Monat vor Krankheitsausbruch geimpfte (n = 15, Gruppe 1) und vor länger als 1 Monat geimpfte (n = 48, Gruppe 2) Hunde ein. Die Tiere

wurden über einen Zeitraum von 92-750 Tagen (MW 290 Tage, Median 268 Tage) beobachtet. Die Letalitätsrate lag bei 60% in Gruppe 1 und 44% in Gruppe 2. Über 75% der verstorbenen Tiere verstarben innerhalb der ersten 3 Wochen. Eine signifikant höhere Sterblichkeit lag vor bei Hyperbilirubinämie (MW 7,32 mg/dl) in der Gruppe 2 und bei Vorliegen von Autoagglutination in beiden Gruppen (Tab. 1). Eine intravaskuläre Hämolyse (n = 12) war nicht mit einer signifikant höheren Letalität assoziiert (Tab. 2).

In einer weiteren Studie mit 151 Hunden konnten 76% entlassen werden, 62% lebten noch 60 Tage nach Therapiebeginn (schliesst man 13 Hunde aus, die nicht weiter verfolgt werden konnten). Es gab keinen Zusammenhang zwischen Schwere der Anämie und Letalitätsrate. Hunde, die bis zur Entlassung überlebten, hatten initial signifikant niedrigere stab- und segmentkernige neutrophile Granulozyten, höhere Thrombozytenzahlen, eine kürzere aPTT und PT, höhere Serumkonzentrationen an Protein, Albumin, Kalium und Bicarbonat, niedrigere Bilirubinkonzentrationen und niedrigere ALT- und CK-Werte (Tab. 1). Zudem waren sie jünger und hatten eine niedrigere Atemfrequenz verglichen mit den Hunden, die starben oder euthanasiert wurden. Weiterhin war die Gabe von niedrig dosiertem Aspirin mit Azathioprin mit einer signifikant höheren Überlebenszeit assoziiert, verglichen mit Tieren, die nur Azathioprin oder Azathioprin und Heparin erhielten (WEINKLE et al., 2005).

BURGESS et al. (2000) untersuchten 60 Hunde, die im Mittel 6 (1-17) Tage in der Klinik behandelt wurden. 45% starben oder wurden euthanasiert. 55% wurden entlassen und wenn möglich bis mindestens 2 Jahre nach Diagnosestellung verfolgt. Von den 33 entlassenen Hunden erlitten 7 innerhalb von 2-21 Tagen (MW 7) und 1 Hund 1.300 Tage nach Entlassung einen Rückfall (Hkt-Abfall <25%). 4 Hunde verstarben, 3 konnten nicht weiter verfolgt werden und einer überlebte. Von den restlichen 25 entlassenen Hunden lebten nach 2 Jahren noch 13 Hunde, 12 konnten nicht weiter verfolgt werden. Die Letalitätsrate lag bei insgesamt 52% innerhalb der ersten 2 Jahre nach Diagnosestellung. Mit einer signifikant höheren Letalität assoziiert waren eine Leukozytose >60 G/l und eine PT >10 Sekunden (Ref. <9) (Tab. 1). Positiv auf das Überleben wirkten sich die Gabe von Erythrozytenkonzentrat und die zusätzliche Gabe von Azathioprin aus. Hunde, die keine Transfusion erhielten, lebten im Median 2 Tage, Hunde, die Transfusionen erhielten, 21 Tage. Hunde, die Prednisolon und Cyclophosphamid erhielten, überlebten im Median 9 Tage, Hunde, die zusätzlich zu Prednisolon Azathioprin erhielten, 370 Tage. Eine weitere statistische Bewertung war jedoch aufgrund des sehr unterschiedlichen Therapieregimens nicht möglich. Kein statistischer Zusammenhang hinsichtlich der Letalität lag vor bei Alter, Gewicht, Geschlecht, Symptomen bei Erstvorstellung, Vakzination, Coombs-Test-Ergebnis, dem Vorliegen von

Autoagglutination und Sphärozytose und den weiteren Ergebnissen aus Blutbild, klinischer Chemie und Gerinnung (Tab. 2).

GRUNDY und BARTON (2001) beschreiben in einer Studie mit 88 Hunden, dass der Einsatz von Cyclophosphamid mit dem gleichzeitigen Einsatz von Oxyglobin mit einer 100%igen Letalität verbunden war. Jedoch wurde Oxyglobin erst später in besonders schweren Fällen von IHA verwendet und stand auch nicht während des gesamten Zeitraums zur Verfügung. Die Letalität lag insgesamt bei 50,5%.

REIMER et al. (1999) untersuchten in einer retrospektiven Studie 70 Hunde. 41,4% der Tiere starben während des Klinikaufenthaltes, der durchschnittlich 6,5 Tage andauerte. 59% konnten entlassen werden, davon starben 10 Tiere innerhalb eines Monats, 5 innerhalb von 3 Monaten und weitere 5 innerhalb eines Jahres nach Erstvorstellung. Somit lag die Letalitätsrate insgesamt bei 70%. Mit einer signifikant höheren Letalität assoziiert waren initial hohe Bilirubinwerte (22 hatten einen Bilirubinwert  $>3$  mg/dl, davon verstarben 21) sowie eine AP-Erhöhung (Median 318 U/l) (Tab. 1). Nicht assoziiert mit einer höheren Letalität waren Albumin- und ALT-Konzentration, Hkt-Wert, Leukozytenzahl, Sphärozytenzahl und das Vorliegen einer Autoagglutination (Tab. 2). Die Überlebenszeiten der verschiedenen Behandlungsgruppen wurden verglichen: Hunde, die nur mit Prednison therapiert wurden ( $n = 16$ ), lebten im Median 57 Tage, Hunde, die mit Prednison und Cyclophosphamid therapiert wurden ( $n = 28$ ) 28 Tage, Hunde, die Prednison und Azathioprin erhielten, 974 Tage, Hunde, die Prednison, Cyclophosphamid und Azathioprin erhielten ( $n = 16$ ), 15 Tage und Hunde, die nicht therapiert wurden ( $n = 5$ ), verstarben innerhalb des 1. Tages. Aufgrund der unterschiedlichen und zum Teil sehr geringen Fallzahlen in den einzelnen Behandlungsgruppen konnte keine statistisch signifikante Analyse der Behandlungsgruppen durchgeführt werden.

*Thromboembolien* und *DIC* sind schwere Komplikationen, die zu einer sehr hohen Morbidität und Letalität führen. Bisher gibt es keine Studie, die über erfolgreiche Prävention oder Management dieser lebensbedrohlichen hämostatischen Probleme der IHA berichtet. Obwohl die Pathogenese nicht genau bekannt ist, scheinen Venenpunktionen, Katheter und Glukokortikosteroid-Therapie prädisponierende Faktoren zu sein, die soweit wie möglich limitiert werden sollten. Mit Hilfe von Infusionen und Transfusionen sollte für eine ausreichende Perfusion und Oxygenierung der Gewebe gesorgt werden. Antikoagulantien werden in der Regel erst gegeben, wenn es bereits Hinweise auf eine Thromboembolie gibt (GIGER, 2005). In einer Studie konnten 9 von 37 verstorbenen oder euthanasierten Hunden

pathologisch untersucht werden. Bei allen Tieren wurden Thrombosen in Milz (6), Lunge (5), Niere (4), Herz (2) und Lymphknoten (2) gefunden (WEINKLE et al., 2005).

In einer Studie konnte bei 10 von 31 Hunden (32%) mittels pathologischer Untersuchung eine pulmonale Thromboembolie festgestellt werden. 9 weitere Hunde entwickelten Atemnot: 7 verstarben und 2 überlebten. Bei 3 dieser Tiere wurde eine pathologische Untersuchung durchgeführt, wobei jedoch keine Todesursache gefunden werden konnte. Alle Hunde mit thromboembolischen Komplikationen verstarben oder wurden innerhalb von 48 Stunden euthanasiert. Mit einer signifikant höheren Inzidenz einer Thromboembolie assoziiert waren eine Hyperbilirubinämie, das Vorhandensein eines intravenösen Katheters und ein negatives Coombs-Test-Ergebnis. Die Autoren räumen jedoch ein, dass es auch zu falsch negativen Coombs-Test-Ergebnissen kommen kann und ein negatives Ergebnis somit ein unzuverlässiger Indikator für ein erhöhtes Risiko der Entwicklung einer Thromboembolie darstellt. Signifikanz erreichte das Verabreichen von mehreren Bluttransfusionen ( $p = 0,06$ ). Nicht signifikant mit einem höheren Risiko der Entwicklung einer Thromboembolie assoziiert waren Geschlecht, ein Rezidiv, Autoagglutination, Sphärozytose, Retikulozytenzahl, Hämatokrit-, Thrombozyten- oder Leukozytenwert, Proteinurie und hohe AP- oder ALT-Werte (KLEIN et al., 1989).

KELLERMAN et al. (1995) untersuchten 37 Hunde. Die Letalitätsrate lag bei 18%. Eine signifikant höhere Letalität lag vor bei Dyspnoe und dem Vorkommen von pulmonaler Thromboembolie (PTE) (Tab. 1). Nicht signifikant mit einer höheren Letalität assoziiert waren der initiale sowie der niedrigste Hämatokritwert, der Retikulozyten-Produktions-Index (RPI), das Vorliegen einer intravaskulären Hämolyse, Ikterus, Autoagglutination und Sphärozytose (Tab. 2).

SCOTT-MONCRIEFF et al. (2001) untersuchten die hämostatischen Abnormalitäten von 20 Hunden mit pIHA. Weitere untersuchte Parameter waren: Hämatokrit, Thrombozytenzahl, Retikulozytenzahl, das Vorliegen von Sphärozyten, Schistozyten, persistierende Agglutination, die Leukozytenzahl und die Bilirubinkonzentration. 4 der Tiere verstarben während des Klinikaufenthalts, 2 innerhalb eines Monats nach Entlassung. Alle Tiere wurden pathologisch untersucht und es konnten eine pulmonale Thromboembolie ( $n = 1$ ), eine DIC mit Hinweisen auf Thrombose ( $n = 2$ ) und eine bakterielle Hepatitis ( $n = 1$ ) festgestellt werden. Bei 2 Tieren war keine Todesursache zu finden. Somit war Thromboembolie die häufigste Todesursache. Die Letalität war mit keinem Symptom oder Laborwert signifikant assoziiert. 14 Hunde lebten noch 10 Monate nach Diagnosestellung. Die Langzeitletalität lag bei 30%.

In einer retrospektiven Studie untersuchten CARR et al. (2002) 72 Hunde hinsichtlich der prognostischen Faktoren für Letalität und Thromboembolie. 19 Hunde starben, 23 wurden euthanasiert, was einer Letalitätsrate von 52% entspricht. Von 25 obduzierten Hunden wiesen 20 Thromboembolien in verschiedenen Organen auf. Thrombozytopenie und erhöhtes Bilirubin (>5 mg/dl) waren mit einer erhöhten Letalität assoziiert (Tab. 1) und Hypoalbuminämie erreichte diesbezüglich Signifikanz. Ein erhöhtes Risiko für Thromboembolien wurde gefunden bei schwerer Thrombozytopenie, erhöhtem Bilirubin (>5 mg/dl) und Hypoalbuminämie. Keine signifikanten Unterschiede im Hinblick auf Letalität lagen vor hinsichtlich Autoagglutination, Coombs-Test-Ergebnis, Anzahl der Transfusionen, dem Vorliegen von hämostatischen Abweichungen oder dem Vorkommen einer DIC (Tab. 2). DAVIDOW und ONCKEN (2004) untersuchten 26 Hunde prospektiv. 18 Hunde (69%) konnten entlassen werden, 1 Hund starb und 7 wurden aufgrund einer schlechten Prognose euthanasiert. Hunde, die starben oder euthanasiert wurden, hatten einen signifikant höheren Bilirubinwert während des stationären Aufenthaltes (33,5) als die Hunde, die entlassen wurden (4,8) (Tab. 1). Kein Unterschied lag vor hinsichtlich Alter, PCV, Leukozytenzahl, Thrombozytenzahl, Bilirubinwert bei Erstvorstellung oder dem Vorliegen von Hämoglobinurie oder -ämie (Tab. 2). 13 der 18 entlassenen Hunde konnten noch 3 Monate verfolgt werden. Von den 13 entlassenen Hunden lebten 7 noch 3 Monate nach Diagnosestellung, was einer Langzeitüberlebensrate von 33% entspricht. Es gab keinen Unterschied hinsichtlich Alter, Hämatokrit, Leukozytenzahl, Thrombozytenzahl, Bilirubinwert bei Erstvorstellung, Anzahl der vorgenommenen Transfusionen oder Dauer des Klinikaufenthaltes zwischen Überlebenden und nicht Überlebenden. Keines der Tiere, die länger als 3 Monate lebten, zeigte Hämoglobinämie oder -urie während des Klinikaufenthaltes. Der höchste Bilirubingehalt war signifikant höher bei den Nicht-Überlebenden (23,7) als bei den Überlebenden (1,9). Ein Bilirubinwert über 5,16 während des Klinikaufenthaltes war mit einer sehr schlechten Prognose assoziiert.

FRYER et al. (2005) untersuchten den Effekt von Heparin auf das Überleben von 47 Hunden mit IHA. In der Heparin-Gruppe (n = 31) überlebten 14 Hunde und konnten entlassen werden, 17 starben oder wurden euthanasiert. In der nicht-Heparin-Gruppe (n = 16) überlebten 14 Hunde und 2 starben oder wurden euthanasiert. Die Autoren erklärten dieses statistisch signifikante Ergebnis damit, dass endogenes Heparinsulfat (HS), welches sich an Endothelzellen befindet, unter physiologischen Bedingungen an AT bindet, was dazu führt, dass antiinflammatorische Mediatoren freigesetzt werden. Dieser antiinflammatorische Effekt bleibt bei Gabe von exogenem Heparin aus. Hinweise auf oder eine bestätigte DIC standen

statistisch signifikant im Zusammenhang mit einer erhöhten Letalität (Tab. 1). Der initiale Hkt-Wert, der Bilirubingehalt und die Anzahl der Neutrophilen erreichten keine Signifikanz (Tab. 2).

**Tabelle 1:** Statistisch signifikante negative prognostische Faktoren bei der IHA des Hundes

Negative prognostische Faktoren	Autor
PCV <10 %	SWITZER & JAIN, 1981
PCV 13 ± 2,2 %	KLAG et al., 1993
Retikulozyten-Produktions-Index <2,5	SWITZER & JAIN, 1981
Korrigierte Retikulozytenzahl 1,4 ± 1,1 %	KLAG et al., 1993
Bilirubin >10 mg/dl	KLAG et al., 1993
Bilirubin >3 mg/dl	REIMER et al., 1999
Bilirubin >5 mg/dl	CARR et al., 2002
Bilirubin ↑	DUVAL & GIGER, 1996; DAVIDOW & ONCKEN, 2004
Bilirubin >1,5 mg/dl	WEINKLE et al., 2005
Thromboembolie	KLEIN et al., 1989; KELLERMAN et al., 1995; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001
Autoagglutination	DUVAL & GIGER, 1996; WEINKLE et al., 2005
Intravaskuläre Hämolyse	DIEHL, 1996
Leukozytose >60 G/l	BURGESS et al., 2000
Gesamtleukozytenzahl ↑	WEINKLE et al., 2005
Stabkernige Neutrophile >3.000/μl	
AP ↑	REIMER et al., 1999
ALT ↑	WEINKLE et al., 2005
Thrombozyten ↓	CARR et al., 2002
Thrombozyten <150.000/μl	WEINKLE et al., 2005
Albumin ↓	CARR et al., 2002
Albumin <3,0 g/dl	WEINKLE et al., 2005
Protein ↓	WEINKLE et al., 2005
PT >10 Sekunden	BURGESS et al., 2000
PT ↑	WEINKLE et al., 2005
aPTT ↑	WEINKLE et al., 2005
DIC	FRYER et al., 2005
Heparingabe	
Kalium <3,5 mEq/l	WEINKLE et al., 2005
Bicarbonat ↓	
CK >250 U/l	

**Tabelle 2:** Faktoren, die keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Überleben bei der IHA des Hundes hatten

Autoagglutination	KLAG et al., 1993; KELLERMAN et al., 1995; REIMER et al. 1999; BURGESS et al., 2000; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001; CARR et al., 2002
Intravaskuläre Hämolyse Hämoglobinurie bzw. -ämie	KELLERMAN et al., 1995; DUVAL & GIGER, 1996; DAVIDOW & ONCKEN, 2004
Retikulozytenzahl	KELLERMAN et al., 1995; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001; WEINKLE et al., 2005
Sphärozyten	KELLERMAN et al., 1995; REIMER et al., 1999 ; BURGESS et al., 2000; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001 ; WEINKLE et al., 2005
Schistozyten	SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001
PCV	KELLERMAN et al., 1995; REIMER et al., 1999; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001; DAVIDOW & ONCKEN, 2004; FRYER et al., 2005; WEINKLE et al., 2005
Leukozytenzahl	REIMER et al., 1999; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001; DAVIDOW & ONCKEN, 2004
Thrombozytopenie	SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001; CARR et al., 2002; DAVIDOW & ONCKEN, 2004
ALT-Erhöhung	REIMER et al., 1999; WEINKLE et al., 2005
AP-Erhöhung	WEINKLE et al., 2005
Bilirubin initial	KELLERMAN et al., 1995; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001 ; DAVIDOW & ONCKEN, 2004; FRYER et al., 2005
Kreatininwert	WEINKLE et al., 2005
Albuminkonzentration	REIMER et al., 1999
OSPT↑	CARR et al., 2002
aPTT↑	
FDPs↑	
Fibrinogenkonzentration	WEINKLE et al., 2005
D-Dimere	
DIC	CARR et al., 2002
Gabe von Bluttransfusionen	KLAG et al., 1993; CARR et al., 2002; DAVIDOW & ONCKEN, 2004
i.v. Katheter	WEINKLE et al., 2005
Alter der Hunde	DAVIDOW & ONCKEN, 2004
Pulsfrequenz	

Rektaltemperatur	WEINKLE et al., 2005
Gewicht	

### 1.7. Therapie

Die Therapie besteht bei der sIHA zunächst im Beseitigen der Ursache, also z.B. Behandlung der Grunderkrankung und Absetzen von Medikamenten, die nicht unbedingt nötig sind.

Eine **immunsuppressive Behandlung** besteht vor allem in der Gabe von Kortikosteroiden (Prednisolon, Prednison, Dexamethason, Methylprednisolon). Glukokortikoide führen zu einer verminderten Affinität der Immunglobuline für die Erythrozytenmembran und ändern die Funktion oder Wiedererkennung des konstanten Fragments des Immunglobulin (Fc)-Rezeptors auf den Makrophagen. Dadurch wird das Erkennungssystem der Makrophagen für IgG, IgM und C3 inhibiert, es kommt zu einer verminderten Sphärozytose und die Komplementkaskade wird inhibiert. Desweiteren senken Glukokortikoide nach einigen Wochen die Produktion der Immunglobuline. Es wird ausserdem angenommen, dass Glukokortikoide die Retikulozytenbildung steigern. Weiterhin inhibiert Prednison die Produktion zahlreicher Zytokine (IL-1, IL-6,  $\gamma$ -Interferon), die wichtig sind für die T-Zell-Bildung und -Funktion (MILLER, 2000; McCULLOUGH, 2004).

Es gibt keinen Vorteil von Prednison gegenüber Dexamethason. Die Dosierung von Prednison oder Prednisolonazetat reicht von 1-2 mg/kg 2x täglich p.o. oder i.v., Dexamethason kann alternativ in einer Dosierung von 0,5 bis 1 mg/kg 1x täglich gegeben werden (MASON et al., 2003). Die Gabe von Prednison in oben genannter Dosierung sollte für 2 Wochen beibehalten werden oder bis der Hkt stabil oder ansteigend ist. Nach Stabilisierung des Hkt kann die Prednisondosis um ca. 25% alle 2-4 Wochen gesenkt werden. Abrupte Wechsel in der Prednisontherapie können zum Rückfall führen. Die Dauer der Prednisontherapie kann bis zu 3-6 oder mehr Monaten betragen. Der Hkt sollte bis zur Stabilisierung 2x wöchentlich, dann wöchentlich während der gesamten Therapie und nach Absetzen geprüft werden (McCULLOUGH, 2004).

In schweren Fällen mit persistierender Agglutination, intravaskulärer Hämolyse, Bilirubinkonzentrationen  $>10$  mg/dL und bei nicht Ansprechen auf Prednisolon sollte zusätzlich ein **Zytostatikum** eingesetzt werden (McCULLOUGH, 2003).

**Ciclosporin A** unterdrückt die zellmedierte Immunantwort, indem es die Aktivierung von Lymphozyten und Makrophagen unterdrückt. Es blockiert die Freisetzung von IL-2 von T-Helfer-Zellen und verhindert so die Aktivierung von zytotoxischen T-Zellen, B-Zellen und Makrophagen. Desweiteren blockiert Ciclosporin A die Freisetzung anderer immunsystemaktivierender Faktoren wie Interferon  $\gamma$ , „cytotoxic differentiation factor“ und

B-Zell-Differenzierungs-Faktor aus den T-Helfer-Zellen. Das Endergebnis ist eine Unterdrückung der zellmedierten Immunität und eine Reduktion der Ak-Produktion durch den T-Zell-abhängigen B-Zell-Mechanismus (BENNETT und NORMAL, 1986; McCULLOUGH, 2004). Medikamente, die in der Leber ebenfalls über den Cytochrom P-450-Weg abgebaut werden, können den Ciclosporin-Spiegel im Blut beeinflussen. Ciclosporin wird variabel gastrointestinal absorbiert und kann Erbrechen, Durchfall und Anorexie verursachen sowie zur Bildung von Papillomen führen. Es wird empfohlen, den Serumspiegel alle 2 bis 4 Wochen zu messen. Die empfohlene Dosierung liegt bei 5-10 mg/kg 1-2x täglich. Eine mittlere Serumkonzentration von 100-300 ng/mL sollte erreicht und beibehalten werden. Ciclosporin kann reduziert werden, wenn eine Remission für mindestens 2 Wochen eingetreten ist (McCULLOUGH, 2004).

**Cyclophosphamid** inhibiert die humorale und zelluläre Immunantwort mit Schwerpunkt auf der humoralen Immunantwort. Seine toxische Wirkung auf B- und T- Zellen wird durch eine Vernetzung von DNA-Strängen (cross-linking) von sich teilenden und ruhenden Zellen bedingt. Cyclophosphamid unterdrückt die T-Zell-abhängige B-Zell-Antwort und führt so zu sinkenden Lymphozytenzahlen und Ak-Konzentrationen. Weiterhin unterdrückt es die Funktion von Neutrophilen und Makrophagen (McCULLOUGH, 2004). Cyclophosphamid kann zu Anorexie, gastrointestinalen Symptomen, Myelosuppression, vermindertem Haarwachstum und v.a. zu hämorrhagischer Zystitis führen, weshalb es nicht als immunsuppressives Erhaltungsmedikament empfohlen wird (McCULLOUGH, 2004). Die gleichzeitige intravenöse Gabe von Furosemid und Cyclophosphamid führte in einer Studie mit 216 Hunden mit Lymphom zu einem verminderten Auftreten einer Cyclophosphamid-induzierten sterilen hämorrhagischen Zystitis (CHARNEY et al., 2003). Es sind zwei verschiedene Behandlungsprotokolle für den Einsatz von Cyclophosphamid als frühe und aggressive Behandlung einer refraktären IHA beschrieben: (1) Cyclophosphamid kann initial einmalig i.v. oder p.o. in einer Dosierung von 200 mg/m<sup>2</sup> gegeben werden oder (2) in einer Dosierung von 50 mg/m<sup>2</sup> (2,2 mg/kg) i.v. oder p.o. 1x täglich an 4 aufeinander folgenden Tagen jeder Woche bis der Hkt ansteigt (PLUMB, 2001). Es wird empfohlen, Cyclophosphamid nicht länger als 4-6 Wochen und vorzugsweise am Morgen zu geben. Kommt es zu einer Beeinträchtigung von Leber- oder Nierenfunktion, muss die Dosis reduziert werden (PLUMB, 2001). Neuere Studien lassen vermuten, dass Cyclophosphamid bei der Behandlung der IHA nicht so effektiv ist, wie einst angenommen und die Mortalitätsrate sogar erhöhen kann (REIMER et al., 1999; GRUNDY und BARTON, 2001; BURGESS et al., 2000; MASON et al., 2003).

**Azathioprin** ist ein Purin-Analog, das mit der DNA- und RNA-Synthese interferiert und humorale und zellmedierte Funktionen beeinflusst (BEALE, 1988). Die Umwandlung von Azathioprin zu 6-Mercaptopurin (6-MP) und schliesslich in seine aktive Form 6-Thioinosin-Azetat geschieht in der Leber. Diese aktive Form unterdrückt die Synthese von Adenin und Guanin und inkorporiert sich selbst in die RNA und DNA als 6-Thioguanin (BEALE, 1988; MILLER, 2000). Der Einbau von Thioguanin führt zu unsinnigen DNA- und RNA-Strängen, die für die Zellteilung ineffektiv sind. Azathioprin scheint effektiver in der Reduzierung der T-Lymphozyten-Funktion (zellmedierte Immunität) zu sein, beeinflusst aber auch die primäre und sekundäre lymphozytenabhängige Antikörper-Produktion (humorale Immunität) (BEALE, 1988). Es kann zusammen mit Prednison in einer Dosierung von 2 mg/kg 1x täglich oder jeden 2. Tag gegeben werden. Alternativ kann Azathioprin nach Absetzen von Prednison jeden 2. Tag für 3 Monate weitergegeben werden. Wegen der myelosuppressiven Wirkung von Azathioprin sollte eine Blutbildkontrolle während der ersten 8 Wochen wöchentlich und danach monatlich durchgeführt werden. Nebenwirkungen von Azathioprin sind selten, aber Pankreatitis (ENGELBRECHT et al., 2002), Hepatotoxikose, gastrointestinale Beschwerden und Myelosuppression wurden beschrieben (McCULLOUGH, 2003). Es existieren verschiedene Studien, die eine verlängerte Überlebenszeit bei mit Azathioprin behandelten Patienten feststellten (BURGESS et al., 2000; KLAG et al., 1993; REIMER et al., 1999; WEINKLE et al., 2005).

**Danazol** ist ein synthetisches Androgen, welches die IgG-Produktion senken und das Binden von Ak und Komplement an Erythrozyten reduzieren kann. Danazol spielt ebenfalls eine primäre Rolle bei der Unterdrückung der Komplement-Aktivierung und -Bindung an die Zellmembran (AHN et al., 1985). Zusätzlich kann es die Anzahl der Fc-Rezeptoren auf den Makrophagen senken. Es kann bis zu 3 Wochen dauern, bis es zu einem Hämatokritanstieg kommt. Dosisangaben schwanken zwischen 5 mg/kg 2x/d bis 4 mg/kg 3x/d p.o.. Eine Doppelblindstudie, die die Effektivität von Danazol untersuchen sollte, konnte keinen Unterschied in der Überlebenszeit bei caninen IHA-Patienten feststellen (BEALE, 1988).

Bei IHA-Patienten, die nicht auf aggressive Chemotherapie ansprechen, kann die **Splenektomie** als letzte Alternative in Betracht gezogen werden. Obwohl IHA-Patienten keine guten Kandidaten für eine Operation darstellen, gibt es in der Literatur Berichte über erfolgreiche Splenektomien bei diesen Patienten (FELDMAN et al., 1985). Eine Splenektomie ermöglicht die Entfernung einer Quelle von B-Zellen und aktivierten Makrophagen und führt so zu einer erniedrigten Ak-Produktion und verminderten Erythrozytenzerstörung (SCHREIBER und FRANK, 1988). Nichtsdestotrotz ist die Milz auch

eine potentielle Quelle hämatopoetischer Zellen. Der Patient muss während und nach der Operation streng überwacht werden. Es besteht ein geringes Risiko der Entwicklung von Infektionen direkt nach der Splenektomie sowie des späteren Auftretens systemischer bakterieller Infektionen (GIGER, 2005).

**Humanes intravenöses Immunglobulin (HIG)** besteht aus polyspezifischem IgG und wurde in der Humanmedizin erfolgreich eingesetzt, um IHA und andere Autoimmunerkrankungen zu behandeln. Es wird angenommen, dass HIG die Fc-Rezeptoren auf den Makrophagen blockiert und es senkt die Phagozytenaktivität in vitro (WHITE et al., 2002). Dies konnte auch in einer Studie mit caninen Makrophagen bestätigt werden (SCOTT-MONCRIEFF et al., 1997). Zusätzlich kann HIG die T-Lymphozyten-Funktion beeinflussen, die Aktivität der natürlichen Killerzellen herabsetzen, die komplement-medierte Zellerstörung blockieren und es beeinflusst die Freisetzung und Funktion proinflammatorischer Zytokine (KELLERMAN et al., 1997). In der Literatur gibt es vereinzelte Berichte, in denen HIG bei der Behandlung der caninen IHA eingesetzt wurde (KELLERMAN et al., 1997; SCOTT-MONCRIEFF et al., 1997; GRUNDY und BARTON, 2001; WHITE et al., 2002; GERBER et al., 2002) oder sogar als hochwirksam beschrieben wurde (LINK und DORSCH, 2001). Indikation für die Gabe von HIG war in der Regel ein ungenügendes Ansprechen auf immunsuppressive Therapie (KELLERMAN et al., 1997; SCOTT-MONCRIEFF et al., 1997). Bei 10 Hunden, die mit HIG behandelt wurden kam es zu keinen Nebenwirkungen, die offensichtlich auf die Gabe von HIG zurückzuführen waren, jedoch entwickelten 6 Hunde eine Thrombozytopenie und bei 5 von 7 verstorbenen Hunden wurden Thromboembolien festgestellt (SCOTT-MONCRIEFF et al., 1997). In einer weiteren Studie erhielten 13 von 37 Hunden HIG. 11 Hunde wurden einmalig und 2 Hunde zweimalig behandelt (einer im Abstand von 5 Wochen). Es kam zu keinen relevanten Nebenwirkungen. Bei 11 Hunden kam es zu einem Anstieg des Hkt-Wertes, ein Hund starb 1 Stunde nach Anstieg des Hkt und einer wurde 24 Stunden nach Gabe von HIG euthanasiert (KELLERMAN et al., 1997). In der Literatur wird eine Dauertropfinfusion über 6 bis 12 Stunden in einer Dosierung von 0,5 bis 1,5 g/kg vorgeschlagen, wobei man eventuell mit Diphenhydramin vorbehandeln sollte. In der Regel erfolgt die Gabe einmalig, aber wiederholte Gaben unter strenger Überwachung auf mögliche Transfusionsreaktionen und Bildung pulmonaler Thromboembolien sind möglich (McCULLOUGH, 2003). HIG scheint nützlich zu sein zur Stabilisierung von Hunden, die ungenügend auf die immunsuppressive Therapie ansprechen, verbessert aber nicht das Langzeitüberleben (SCOTT-MONCRIEFF et al., 1997). Limitierend für den Einsatz von HIG sind seine hohen Kosten.

Bei der **Plasmapherese** werden rote Blutzellen von Plasma getrennt. Die Erythrozyten werden dem Patienten wieder zugeführt, während das Plasma gefiltert wird, um Antikörper und Immunkomplexe zu entfernen. Plasmapherese scheint bei dem grossen pentameren IgM-Molekül besonders wirksam zu sein. In der Literatur gibt es einen Fallbericht, der die Behandlung zweier Hunde mit pIHA mit Prednison, Cyclophosphamid und Plasmapherese beschreibt. Der Autor kam zu dem Schluss, dass die Plasmapherese zu einer kurzzeitigen Stabilisierung beider Hunde führte, jedoch zum Tod einer der beiden Hunde beigetragen haben könnte (MATUS et al., 1985).

Kritisch kranke Patienten entwickeln häufig eine Anämie aufgrund von entzündlichen Erkrankungen („anemia of inflammatory disease“, AID). Dies ist charakterisiert durch einen unverhältnismässig niedrigen EPO-Spiegel im Vergleich zur Anämie oder eine verminderte Ansprechbarkeit des Knochenmarks auf EPO (JELKMANN, 1998). In der Humanmedizin wird **EPO-Therapie** bei kritisch kranken Patienten als eine mögliche Alternative zur Bluttransfusion angesehen. Da es auch bei IHA zu einer Akute-Phase-Reaktion und somit verminderte Produktion von bzw. vermindertem Ansprechen auf EPO kommen kann, könnte die EPO-Therapie in Zukunft auch eine Rolle bei der Behandlung von IHA-Patienten spielen, aktuelle Daten über die Therapie von IHA-Patienten mit EPO liegen jedoch nicht vor (GOODNOUGH, 2001; McCULLOUGH, 2003) (siehe S.55-57).

Da die Forschung gerade im Bereich der Transplantationsmedizin immer grössere Fortschritte macht, das Immunsystem effektiver zu manipulieren, wird es in Zukunft noch mehr Medikamente geben, um Immunkrankheiten kontrollieren zu können. **Leflunomid**, ein Inhibitor der Pyrimidin-Biosynthese, wurde eingesetzt, um Transplantat-Abstossungsreaktionen bei Hunden zu verhindern und humane Autoimmunerkrankungen zu behandeln. Leflunomid inhibiert die Proliferation von T- und B-Zellen, indem es die Tyrosinkinase inhibiert. Die Tyrosinkinase ist Bestandteil des IL-2 abhängigen Transduktionswegs (PEDDI und FIRST, 2001). Das Medikament wird in einer Dosierung von 4 mg/kg 1x/d gut vertragen und wurde bereits eingesetzt, um refraktäre Fälle von IHA und immunbedingter Thrombozytopenie zu behandeln (GREGORY et al., 1998).

IHA-Patienten unterliegen der grossen Gefahr, Magenulzera zu entwickeln und sollten deshalb **Magenprotektiva** bekommen. Die Langzeitgabe von Kortikosteroiden und Chemotherapeutika in Kombination mit einer gastrointestinalen Minderdurchblutung fördert die Ulkusbildung. Empfohlene Medikamente sind Histaminblocker (Ranitidin, Famotidin), schleimhautschützende Medikamente (Sucralfat), Prostaglandin-Analoga (Misoprostol) und Protonenpumpen-Inhibitoren (Omeprazol) (McCULLOUGH, 2003).

Einer IHA kann immer eine okkulte Infektion zugrunde liegen. Auch sind betroffene Tiere aufgrund der Immundysregulation und immunsuppressiven Therapie prädisponiert für Infektionen. Aus diesen Gründen sollten alle Hunde mit IHA mit **Antibiotika** behandelt werden (GIGER, 2005).

Die **Infusionstherapie** ist essentiell, um die Organperfusion zu verbessern und so das Risiko der Entwicklung von DIC und Thromboembolien zu minimieren (GIGER, 2005). Intravenöse Katheter können zu einer Prädisposition für die Entwicklung von venösen Thromben führen. Jugularkatheter können zur Entstehung von grösseren Thromben führen als periphere Katheter, weshalb ein möglichst kleiner Katheter benutzt und täglich auf die Entwicklung einer Thrombophlebitis überprüft werden sollte (McCULLOUGH, 2003).

Die Pathophysiologie der IHA kann zur Entwicklung einer DIC und Thromboembolien führen (DENNIS, 1993). Bedingungen wie verringerte Fliessgeschwindigkeit, Hyperkoagulabilität und endotheliale Schäden schaffen die Voraussetzungen für die Entwicklung von Thromben (Virchowsche Trias). Prophylaktische Gaben von Heparin und Warfarin können der Thrombenbildung vorbeugen, jedoch ist die effektivste Dosierung hierfür noch unbekannt. Antikoagulantien wie Heparin und Warfarin helfen, eine Thrombenbildung zu verhindern, jedoch nicht, bereits bestehende Thromben wieder aufzulösen (DENNIS, 1993; McCULLOUGH, 2003).

**Unfraktioniertes Heparin** ist stark proteingebunden und hat eine niedrige Bioverfügbarkeit nach der subkutanen Applikation. Es verhindert die Anlagerung von Fibrin und Plättchen an die Thrombin-Oberfläche, wofür jedoch ausreichende Mengen an AT vorhanden sein müssen. Nach der Komplexbildung mit Heparin wird AT aktiviert und inhibiert eine Reihe von Serin-Proteasen des Koagulationssystems (z.B. Thrombin und Faktor Xa). Eine grosse Spannweite an Heparindosierungen wurde für Hunde empfohlen und pharmakokinetische Studien haben einen signifikanten Unterschied der anti-Xa-Aktivität zwischen verschiedenen gesunden Hunden festgestellt (MISCHKE et al., 2001). Deshalb wird ein engmaschiges Monitoring der Gerinnung (aPTT, Thrombinzeit, anti-Xa-Aktivität) während der Therapie empfohlen. Einige Autoren empfehlen die Verlängerung der PTT um 1,5 bis 2x des Ausgangswertes oder einen Anstieg der ACT um 15 bis 20 Sekunden (BURNS, 1995). Dosierungsangaben für Heparin in der Literatur schwanken zwischen 75 bis 300 IU/kg subkutan 3-4x/d. Eine initiale intravenöse Gabe von 200 IU/kg, gefolgt von 100 bis 200 IU/kg alle 6 Stunden subkutan oder eine Dauertropfinfusion von 15 bis 20 IU/kg/h wird ebenfalls vorgeschlagen. Die AT-Konzentration sinkt mit wiederholter Heparinabgabe (SCOTT-MONCRIEFF, 2005). Heparin bindet an canine Granulozyten, weshalb eine Leukozytose die Pharmakokinetik von Heparin

ebenso beeinflussen könnte wie die variable Bindung an endotheliale Zellen, Makrophagen und verschiedene Plasma-Proteine (SCOTT-MONCRIEFF, 2005).

**Low molecular weight heparin (LMWH)** wird aus konventionellem Heparin mittels enzymatischer Depolymerisation hergestellt. Es hat eine höhere Bioverfügbarkeit, eine längere Halbwertszeit, eine niedrigere Proteinbindung, eine besser vorhersehbare Pharmakokinetik, eine niedrigere Frequenz von Blutungsepisoden und erfordert weniger strenges Monitoring als das konventionelle Heparin. Es wird jedoch bisher nur empirisch bei Hunden mit IHA eingesetzt und weitere Studien sind nötig (SCOTT-MONCRIEFF, 2005).

**Warfarin** antagonisiert die Produktion der Vitamin-K-abhängigen Faktoren II, VII, IX und X. Da die Gerinnung nicht beeinflusst wird, bevor nicht die bereits existierenden Gerinnungsfaktoren verbraucht sind, gibt es eine Verzögerung der Wirkung um bis zu 7 Tage (DENNIS, 1993) und da die antikoagulatorischen Proteine C und S als erste inhibiert werden, gibt es eine vorübergehende hyperkoagulatorische Phase. Aus diesem Grunde sollte die ersten paar Tage eine zusätzliche Gabe von Heparin erfolgen. Obwohl Dosierungen und Behandlungsprotokolle für Hunde etabliert wurden, gibt es bisher keine Studien zur Effektivität der Prävention von Thromboembolien (SCOTT-MONCRIEFF, 2005). Warfarin kann oral in einer initialen Dosierung von 0,2 mg/kg gegeben werden, gefolgt von einer Gabe von 0,05-0,1 mg/kg täglich, um eine 1,5-2fache Verlängerung der PT zu erreichen. Heparin kann initial gegeben werden und auf Warfarin umgestellt werden, wenn der Patient entlassen wird. Die Thrombozytenzahl, PT und PTT sollten regelmässig kontrolliert werden (McCULLOUGH, 2003).

In einer weiteren Studie empfehlen WEINKLE et al. (2005) die Gabe von niedrig dosiertem **Aspirin** (0,5 mg/kg/Tag) an 2 aufeinander folgenden Tagen und fanden in einer Studie mit 151 Hunden eine signifikant verbesserte Überlebenszeit der Hunde, die zusätzlich mit Aspirin therapiert wurden. Risiken der Aspirin-Gabe sind Blutungen und gastrointestinae Ulzera bei der gleichzeitigen Gabe von Glukokortikoiden (SCOTT-MONCRIEFF, 2005).

Es bestehen kontroverse Ansichten über den Einsatz von **Blutprodukten** und **Oxyglobin**, um den Effekten der Minderdurchblutung und Anämie entgegen zu wirken.

Die Ansicht, dass *Bluttransfusionen* bei Hunden mit IHA zu einem ungünstigen Verlauf beitragen können, hat sich in verschiedenen Studien nicht bestätigt (KLAG et al., 1993). In einer Studie erhielten 24 von 42 Hunden Vollblut oder Erythrozytenkonzentrat, davon wurden 11 Hunde mehrmals transfundiert. Es zeigten sich keine relevanten Nebenwirkungen, keine Hinweise auf verstärkte Hämolyse und keine Unterschiede in der Letalität (KLAG et al., 1993). In einer weiteren Studie erhielten 54 von 60 Hunden Transfusionen, davon 36

mehrmals. Auch hier wurden keine Nebenwirkungen oder verstärkte Hämolyse festgestellt. Hunde, die transfundiert wurden, lebten im Median 21, Hunde, die nicht transfundiert wurden lediglich 2 Tage (BURGESS et al., 2000). Auch CARR et al. (2002) fanden keine Korrelation zwischen der Gabe von Transfusionen und vermindertem Überleben: 40 von 72 Hunden erhielten Transfusionen, davon 16 mehrmalig. In einer Studie mit 151 Hunden, in der 70% der Tiere eine Transfusion erhielten (davon 21% Oxyglobin), konnte ebenfalls kein negativer Einfluss auf das Überleben festgestellt werden (WEINKLE et al., 2005).

*Oxyglobin* ist ein seit 1988 in den USA für Hunde zugelassener Sauerstoffträger, der hochgereinigtes polymerisiertes Hämoglobin aus Rinderblut in einer modifizierten Ringer-Laktat-Lösung enthält und die Sauerstoffversorgung von Organen und Geweben für mindestens 24 Stunden verbessert. Es wird als unterstützende Therapie bei stark anämischen Tieren eingesetzt, bis Bluttransfusionen verfügbar sind und die der Anämie zugrunde liegende Ursache therapiert werden kann. Die maximale Infusionsgeschwindigkeit beträgt 10 ml/kg/h mit einer Dosierungsspanne von 15-30 ml/kg/Tag insgesamt je nach Zustand des Tieres. Bei Gabe von mehr als 15 ml/kg kommt es zu einer gelben bis orangeroten Verfärbung der Skleren und Schleimhäute, die zwischen 1-3 Tagen anhalten kann. Weitere Nebenwirkungen sind Erbrechen, Durchfall und Arrhythmien sowie in sehr seltenen Fällen Nystagmus, der zwischen wenigen Stunden bis zu Tagen anhalten kann und mit einer plötzlichen Verbesserung der Sauerstoffversorgung des Vestibularorgans erklärt wird. Nach Gabe von Oxyglobin stellt der gemessene Hämatokritwert nicht mehr die volle Sauerstoffträger-Kapazität dar, weshalb der Hämoglobinwert bestimmt werden muss. Die Gabe von 30 ml/kg Oxyglobin entspricht einem Anstieg des Hkt-Wertes um 12%. In einer retrospektiven Studie mit 88 Hunden (7 erhielten Oxyglobin) führte der Einsatz von Cyclophosphamid und Oxyglobin bei Hunden mit IHA zu einem signifikanten Anstieg der Letalität (100%), jedoch wurde Oxyglobin erst zu einem sehr späten Zeitpunkt der Therapie in Fällen mit schwerer refraktärer Anämie eingesetzt (GRUNDY, et al., 2001). In einer weiteren retrospektiven Studie mit 143 Hunden mit IHA erfolgte ein Vergleich der Behandlung mit Blut/Oxyglobin (n=16), Oxyglobin/Blut (n=17), und Oxyglobin allein (n= 110) auf die Überlebensrate. Die mittlere Überlebensrate lag bei 62%, wobei es keine Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen gab (RENTKO et al., 2002).

PESILLO et al. (2004) bestimmten **Plasma-Malondialdehyd (MDA)** und **Serum-Vitamin-E** Konzentrationen bei 36 Hunden mit IHA und 40 gesunden Kontrollhunden. Sie fanden eine signifikant höhere MDA und niedrigere Vitamin-E-Konzentration bei Hunden mit IHA. Diese Resultate deuten auf einen erhöhten oxidativen Stress und reduzierte Antioxydantien-

Reserven bei Hunden mit IHA hin. Weitere Studien sind nötig, um die potentiellen Vorteile einer eventuellen Gabe von Antioxydantien bei diesen Hunden näher zu klären.

## **2. Akute-Phase-Proteine (APPs) als Marker bei der IHA des Hundes**

### **2.1. Zytokine und Akute-Phase-Antwort**

Die Akute-Phase-Antwort ist ein nicht spezifisches komplexes frühes Phänomen der angeborenen Immunantwort, bei dem eine Anzahl von Plasma-Proteinen - die Akute-Phase-Proteine- nach Gewebeerletzungen verursacht durch Infektionen, Entzündungen, malignen Neoplasien, chirurgischen Eingriffen und anderen Ursachen ansteigen. Ihre Aufgabe ist es, für das Überleben des Organismus während der kritischen Anfangsphase zu sorgen, bevor das erworbene Immunsystem greifen kann. Sie sollen die Gewebeerzörung minimieren, die Ursache der Gewebeerletzung beseitigen und Prozesse in Gang setzen, die zur Wiederherstellung der Funktion des Gewebes bzw. Organes notwendig sind und somit die Homöostase, d.h. das Gleichgewicht des Organismus wieder herstellen (WHICHER und WESTACOTT, 1992; MOSHAGE, 1997; EBERSOLE und CAPELLI, 2000; CERON et al., 2005).

Die Produktion der APPs geschieht als Antwort auf proinflammatorische Zytokine, die von Makrophagen und Monozyten am Ort der Infektion oder Inflammation produziert werden. Zytokine sind Protein-Mediatoren der Zell-zu-Zell-Kommunikation. Eine initiale Freisetzung dieser pro-inflammatorischen Zytokine wird durch ihre parakrine Wirkung erhöht, was wiederum eine weitere Stimulation der Zytokin-Freisetzung stimuliert und eventuell in einer systemischen Freisetzung von Zytokinen resultiert. Ein Anstieg der Zytokine im Blut stimuliert dann auch die hepatische Akute-Phase-Antwort, wobei ebenfalls eine Reihe von Zytokin-Antagonisten-Systemen zum Einsatz kommen, um ihre Aktivität zu limitieren (MOSHAGE, 1997). **IL-6**, **TNF-alpha** und **IL-1** gelten als die Schlüssel-Mediatoren der Akute-Phase-Antwort. Sie wirken an spezifischen Rezeptoren an verschiedenen Zielzellen und führen zu einer systemischen Reaktion, die gekennzeichnet ist durch Fieber, Leukozytose, eine erhöhte Sekretion von ACTH und Glukokortikoiden, erniedrigte Thyroxin-Konzentration, Aktivierung von Komplement und Gerinnungskaskade, Absinken der Serumspiegel von Eisen und Zink und weiteren Spurenelementen, metabolische Veränderungen (z.B. Lipolyse, Gluconeogenese, Muskelkatabolismus) und dramatische Veränderungen in der Konzentration der APPs. Zytokine kontrollieren sowohl quantitative als auch qualitative Veränderungen der APPs (HEINRICH et al., 1990; KUSHNER und

MACKIEWICZ, 1993; ECKERSALL, 1995; ECKERSALL, 2000). Es gibt negative APPs, die während der Akute-Phase-Antwort in ihrer Konzentration absinken und positive APPs, die ansteigen. Zu den negativen APPs gehören **Albumin** und **Transferrin**, zu den positiven **C-reaktives Protein (CRP)**, **Serum-Amyloid A (SAA)**, **Haptoglobin (Hp)**,  **$\alpha$ 1-Acid-Glykoprotein (AGP)**, **Coeruloplasmin (Cp)** und **Fibrinogen**. Die Konzentration der zirkulierenden APPs ist abhängig von der Schwere der zugrunde liegenden Ursache (ECKERSALL, 2000). Das gleiche APP kann sowohl pro- als auch anti-inflammatorische Funktionen haben.

APPs werden hauptsächlich von der Leber produziert, neuere Studien zeigen jedoch, dass auch andere Gewebe an der Bildung und Freisetzung der APPs beteiligt sind. So wird **AGP** von Lymphozyten produziert, wodurch sich die hohen Serumspiegel von AGP bei Hunden und Katzen mit Lymphom erklären lassen (GAHMBERG und ANDERSON, 1978). In der Humanmedizin wurde eine AGP-Produktion auch in Niere, Darm und Herz sowie in verschiedenen Arten weisser Blutzellen (FOURNIER et al., 2000) und in der Prostata beschrieben (POLAND et al., 2002). Die Produktion von **SAA** konnte in Darm, Niere, Knochenmark, Adipozyten (bei Hyperglykämie) und in der Mamma (bei Mastitis) bei verschiedenen Tierarten nachgewiesen werden (LIN et al., 2001; ECKERSALL et al., 2001). **Hp** kann von Lunge, Fettgewebe, Niere und Milz gebildet werden (DOBRYSYCKA, 1997; EBERSOLE und CAPELLI, 2000). Bei transgenen Mäusen für humanes **CRP** fand man eine Produktion von CRP in der Leber, jedoch auch zu einem geringeren Anteil in Thymus, Gehirn, Lunge und Niere (CILIBERTO et al., 1987). YASOJIMA et al. (2000) konnten feststellen, dass neuronale Zellen bei Alzheimer-Patienten CRP exprimierten und fanden ebenfalls eine autonome CRP-Produktion in humanen arteriosklerotischen Plaques (2001). STEINHOF et al. (1992, 1997) beurteilten das Messen von CRP im Urin nierentransplantierter Patienten als wertvollen diagnostischen Marker früher Abstossungsreaktionen. Der Anteil von CRP im Urin korrelierte hierbei nicht mit dem Serumgehalt an CRP, woraus sie schlossen, dass transplantierte Nieren selber CRP produzieren könnten. Weitere Studien bestätigten diese Theorie (JABS et al., 2003).

Veränderungen der CRP-, AGP- und Albumin-Spiegel treten zeitlich verzögert zu den Veränderungen der Zytokin-Spiegel auf (YAMASHITA et al., 1994). Als Grund für diese Verzögerung wird die oben beschriebene Kaskade von Reaktionen angesehen, die die Aktivierung von Entzündungszellen und den Transport der Akute-Phase-Mediatoren vom Ort der lokalen Entzündung zur Leber beinhaltet. Somit ändert sich die Zytokin-Aktivität schneller als die der APPs. Zytokin-Assays könnten zur Quantifizierung der induzierten

systemischen Antwort auf Gewebeverletzungen herangezogen werden, jedoch haben sich APP-Assays als praktikabler erwiesen (ECKERSALL, 1999).

## **2.2. APPs als Marker in der Humanmedizin**

### **2.2.1. C-reaktives Protein (CRP)**

Das Monitoring der Konzentration von APPs als Biomarker für Infektion und Inflammation wird seit Jahrzehnten in der Humanmedizin praktiziert. Das erste Akute-Phase-Protein, das vor über 70 Jahren entdeckt wurde, war das *C-reaktive Protein*. Seinen Namen hat es von seiner Fähigkeit, an die Polysaccharid-C-Fraktion von Pneumokokken zu binden (TILLET und FRANCIS, 1930).

Die Funktion von CRP *in vivo* ist noch nicht vollkommen verstanden, was auf die vielen verschiedenen sogar teilweise entgegengesetzten Effekte von CRP *in vitro* zurückzuführen ist. CRP bindet in seiner nativen pentamerischen Struktur an verschiedene zelluläre und nukleäre Antigene sowie an mikrobielle Zellwandbestandteile und spielt eine Rolle bei der Beseitigung dieser Antigene mittels Phagozytose. Es aktiviert Komplement und schützt gleichzeitig apoptotische Zellen vor einer durch die Anhäufung von Komplement-Faktoren möglichen Nekrose. Es schützt vor bakteriellen Lipopolysacchariden sowie vor *Streptococcus pneumoniae*- und *Salmonella enterica*-Infektion. Neuere Studien lassen vermuten, dass CRP auch an der Migration von Mastzellen in entzündetes Gewebe während der Akute-Phase-Antwort beteiligt ist und so eine wichtige Rolle bei Hypersensitivität und inflammatorischen Prozessen spielen könnte (FUJIMOTO et al., 2003). Generell ist die Funktion nativen CRPs eher als protektiv und antiinflammatorisch denn als proinflammatorisch zu beurteilen (JABS et al., 2003). Beim Menschen ist es ein Haupt-APP, dessen Konzentration auf das über 200fache ansteigen kann (THOMPSON et al., 1992). Das CRP ist einer der besten unspezifischen biochemischen Indikatoren für viele pathologische Veränderungen. Die quantitative Messung von CRP ist ein nützlicher Marker in der Diagnose, der Kontrolle des Behandlungserfolges und der Prognose für den Patienten (SZCZEPANEK et al., 1997, JOHNSON et al., 1999) bei einer Vielzahl von pathologischen Prozessen. So führen u.a. Neoplasien (MERLINI et al., 1993; McMILLAN et al., 1995) zu einem Anstieg von CRP. Bei postoperativen Komplikationen kommt es zu einem frühzeitigen signifikanten Anstieg von CRP (BORALESSA et al., 1986; SZCZEPANEK et al., 1997; JOHNSON et al., 1999; CRAIG et al., 2001; MALIK et al., 2001). Es konnte nachgewiesen werden, dass CRP alleine oder zusammen mit Procalcitonin ein wertvoller Marker für Sepsis bei Intensivpatienten ist (RENY et al., 2002). CRP kann genutzt werden, um das Ansprechen auf Antibiotika bei

Patienten mit bakteriellen Infektionen zu überwachen (ANGERMAN et al., 1980) oder als Marker der Krankheitsaktivität und Ansprechen auf Medikamente bei rheumatoider Arthritis (MALYA et al., 1982; LACKI et al., 1995) und Osteoarthritis (SIPE, 1995). Auch zur Unterscheidung zwischen Erkrankung und Infektion bei Patienten mit Systemischem Lupus erythematodes (SLE) (CENGIC et al., 2002) und ulzerativer Colitis wurde CRP schon früh eingesetzt (PEPYS et al., 1982). Die CRP-Bestimmung dient als Unterscheidungsmarker zwischen Infektion und Abstossungsreaktion bei Knochenmark-Transplantationen, da es nach Infektionen zu einem Anstieg von CRP kommt (SAARINEN et al., 1987). CRP dient als prognostischer Faktor bei atherosklerotischen kardiovaskulären Erkrankungen des Menschen (KEREIAKES, 2003). Wurde früher ein nur leichter Anstieg von APPs als irrelevant angesehen, so zeigten neuere Studien, dass bereits ein leichter CRP-Anstieg assoziiert war mit einer Prädisposition für coronare Herzerkrankungen (GABAY und KUSHNER, 1999). Automatisierte CRP-Assays (nephelometrisch oder turbidimetrisch) sind verfügbar, so dass in der Regel auf humanen Intensivstationen jederzeit eine CRP-Bestimmung durchgeführt werden kann (RENY et al., 2002).

### **2.2.2. Weitere Akute-Phase-Proteine**

Andere bekannte APPs sind das **SAA**, **SAP**, **Hp**, **AGP**, **Fibrinogen**,  **$\alpha$ 1-Anti Protease (AAP)**, **Cp** (THOMPSON et al., 1992) und **Ferritin**. Von diesen APPs ist SAA ein Haupt-APP, während Hp, AGP, Fb und AAP moderate APPs darstellen, da ihre Serumkonzentration nur ungefähr 3fach während der Akute-Phase-Antwort ansteigt.

OWEN et al. (1964) fanden in einer Studie einen Anstieg von **Hp** bei Infektion, rheumatoider Arthritis, disseminiertem Lupus, Neoplasien, Gallengangobstruktion, Glomerulonephritis, Pyelonephritis, ulzerativer Colitis, akutem rheumatischem Fieber und nach Myokardinfarkt, wobei die Werte durchschnittlich um das 3-4fache erhöht waren. Erniedrigte Hp-Serumkonzentrationen fanden sie bei IHA, unbehandelter megaloblastischer Anämie und bei einigen Patienten mit hepatozellulären Erkrankungen. Beim Menschen werden nur sehr niedrige bis nicht mehr nachzuweisende Konzentrationen an Hp bei Hämolyse gefunden, was auf der Komplexbildung mit Hämoglobin und der Entfernung dieser Komplexe aus dem Blut durch die Leber beruht (ANDERSSON und SEVELIUS, 2001). Weiterhin sind beim Menschen 3 verschiedene Hp-Phänotypen beschrieben: Hp 1-1, Hp 2-1 und Hp 2-2 (KUROSKY et al., 1980). In der Humanmedizin stehen diese verschiedenen Phänotypen im Zusammenhang mit der Prävalenz verschiedener Krankheiten. Desweiteren wird eine

abnorme Glycosylierung von Hp als eine Konsequenz von Lebererkrankungen, Krebs und immunologischen Störungen beim Menschen beschrieben (ANDERSSON et al., 1998).

Die  **$\alpha$ 1-AGP**-Konzentration wird u.a. zum „Staging“ und zur Verlaufskontrolle bei bestimmten malignen Erkrankungen wie Lymphomen (CHILD et al., 1978), colorektalen (STAMATIADIS et al., 1990), zervikalen (AVAIL LUNDQVIST et al., 1991; XIE, 1991) und oesophagealen Neoplasien (SAITO et al., 1991) eingesetzt, wobei bei einer aktiven Erkrankung eine erhöhte  $\alpha$ 1-AGP-Konzentration vorliegt. In Studien konnte eine hemmende Wirkung auf von Tumoren produzierte Enzyme (STAMATIADIS et al., 1990), eine Bedeutung im Abwehrmechanismus gegen mikrobielle Infektionen (KAJIKAWA et al., 1999) sowie eine neutralisierende Wirkung auf TNF- $\alpha$  im Tierexperiment festgestellt werden (LIBERT et al., 1994).

Die Serumkonzentration von **Ferritin** steigt bei akuten Entzündungen und Neoplasien an (NIMEH und BISHOP, 1980), was bei der Interpretation von Ferritin-Spiegeln beachtet werden sollte (BLAKE et al., 1981; COENEN et al., 1991). Nach experimenteller Infektion konnte beim Menschen ein Anstieg der Ferritinkonzentration im Serum innerhalb von 24-30 Stunden festgestellt werden. Die Werte blieben über Wochen trotz Abklingen der Symptome erhöht (BODEL, 1974; ELIN et al., 1977).

### **2.3. APPs in der Veterinärmedizin**

Zunehmend hält die Bestimmung der APPs Einzug in die Veterinärmedizin. Untersuchungen in neuerer Zeit haben gezeigt, dass die Quantifizierung der APP-Konzentration im Plasma oder Serum wichtige diagnostische Information bei der Aufdeckung, Prognose und Überwachung von Krankheiten liefert. Dabei ist die Übertragung von Untersuchungsergebnissen von einer Spezies auf die andere nur bedingt möglich, da es eine starke Differenz der Akute-Phase-Antwort zwischen den einzelnen Spezies gibt (ECKERSALL, 1999; CERON et al., 2005). Es ist nötig, jede Spezies individuell zu untersuchen und auch Immunoassays für die Proteine sollten erst vorsichtig bewertet werden, bevor sie bei verschiedenen Spezies zum Einsatz kommen. So steigt die Konzentration von CRP während der Akute-Phase-Antwort beispielsweise um mehrere 100x bei Mensch, Hund und Kaninchen an, wohingegen bei Rind, Schaf und Maus keinerlei Unterschied der CRP-Konzentration zwischen gesunden und kranken Tieren besteht. Dahingegen ist Hp bei Wiederkäuern ein Haupt-APP. Bei gesunden Tieren liegt ein fast nicht nachzuweisender Serumspiegel vor, der bei Stimulation jedoch bis zu 100fach ansteigt; beim Hund stellt es ein nur moderates APP dar.

Beim **Hund** sind *CRP*, *Hp* und *AGP* wertvolle Biomarker für Inflammation und Infektion. Bei der **Katze** liefert die Bestimmung von *AGP* wertvolle Hinweise bei der Diagnosestellung einer Felinen Infektiösen Peritonitis (FIP). Beim **Rind** ist *Hp* das wichtigste APP, welches bei mehreren wichtigen bovinen infektiösen Erkrankungen erhöht ist. Die Bestimmung von *Hp* zusammen mit *SAA* und *AGP* im Serum erlaubt eine Differenzierung zwischen akuten und chronischen Zuständen. Beim **Schwein** wurden erhöhte Protein-Spiegel von *CRP*, *Hp* und einem schweinespezifischen *Major Acute Phase Protein (MAP)* mit Hilfe experimenteller Infektion und Inflammation identifiziert (ECKERSALL, 1999).

Eine neuere Theorie beschäftigt sich mit der Frage, ob Diabetes mellitus in Zusammenhang stehen könnte mit der chronischen Stimulierung des Immunsystems und mit dem damit assoziierten Anstieg der APPs (McGROTTY et al., 2003), was auch für Diagnose und Behandlung von Diabetes mellitus beim Hund von Bedeutung sein könnte. In Zukunft wird auch die Bewertung von Effekten der Akute-Phase-Antwort auf die Pharmakokinetik veterinärmedizinischer Medikamente sowie die Assoziation zwischen der APP-Konzentration und chronischen Krankheiten von Bedeutung sein (ECKERSALL, 2000).

### 2.3.1. APPs beim Hund

APPs beim Hund können durch die Höhe ihres Konzentrationsanstiegs nach einem Stimulus in Haupt- (10-100facher Anstieg), moderate (2-10 facher Anstieg) und negative APPs eingeteilt werden.

Zu den Haupt-APPs gehören **CRP** und **SAA**. Sie steigen in der Regel sehr schnell und stark an, um dann rasch wieder abzufallen. Obwohl es keine Daten hinsichtlich der Halbwertszeit von CRP und SAA gibt, scheint die Halbwertszeit von caninem CRP kurz zu sein (CONNER et al., 1988), weshalb es einen nützlichen Indikator für die klinische Situation des Tieres zum Zeitpunkt der Blutentnahme darstellt (CASPI et al., 1984).

Moderate APPs sind **Hp**, **AGP** und **Cp**. Sie brauchen mehr Zeit, um anzusteigen und wieder auf Normalwerte abzufallen. Die Konzentration dieser Proteine bei gesunden Tieren ist jedoch höher als die der Haupt-APPs (CERON et al., 2005).

Zu den negativen APPs gehören Albumin und Transferrin (CERON et al., 2005).

#### 2.3.1.1. C-reaktives Protein

Das canine CRP hat ein Molekulargewicht von 100 kD und besteht aus 5 Untereinheiten mit jeweils 20 kD. Im Unterschied zum Menschen sind 2 der 5 Untereinheiten beim Hund

glykosyliert, was zum Teil die Schwierigkeiten erklären könnte, humane Antikörper zur CRP-Bestimmung beim Hund einzusetzen (CERON et al., 2005).

CRP ist das bisher am meisten untersuchte APP beim Hund. Der Anstieg von CRP nach Gewebeerletzung geschieht beim Hund schneller als beim Menschen: während es beim Hund bereits nach 4 Std. zu einem Anstieg von CRP kommt, ist dieser beim Menschen erst nach 6 Std. festzustellen (LAURELL, 1985).

Das **Messen** von Serum CRP geschieht in der Regel mit Hilfe von Immunoassays, die spezielle canine CRP-Antikörper benutzen (CERON et al., 2005) (Tab. 3):

Ein standardisiertes **Elektroimmunoassay** für canines CRP mittels Kaninchen anti-canine CRP-Serum wurde 1984 durch CASPI et al. etabliert. Die untere Nachweisgrenze für CRP lag bei 5 µg/ml, die obere bei 100 µg/ml. Bei 20 gesunden Hunden konnte CRP nicht nachgewiesen werden, während es bei verschiedenen Hunden nach Operation zu einem Anstieg auf bis zu 87 µg/ml kam.

1989 entwickelten ECKERSALL et al. einen **ELISA** für canines CRP und bewerteten es als effektiv in der Routinebestimmung von CRP beim Hund. Antiserum gegen canines CRP wurde auch hier mittels i.m. Injektion von CRP-Antigen und Freund's Adjuvants bei Kaninchen gewonnen.

1991 entwickelten ECKERSALL et al. einen „**immunoturbidimetric assay**“ für canines CRP. Antiserum gegen CRP wurde durch Injektion von CRP-Antigen bei Schafen gewonnen. Die gemessenen Werte wurden mit den mittels ELISA gemessenen Werten verglichen und korrelierten stark.

1992 isolierten YAMAMOTO et al. CRP aus dem Serum von operierten Hunden mittels Chromatographie. Antiserum wurde mit Hilfe von Kaninchen gewonnen, denen man Antigen mit Freund's Adjuvant s.c. injizierte. Mittels eines hierdurch entwickelten **ELISA** konnten bei 20 gesunden Hunden Werte zwischen 0,198 und 0,826 µg/ml gemessen werden.

1994(a) bestimmten YAMAMOTO et al. die CRP-Konzentration im Serum von insgesamt 150 gesunden Hunden mittels eines „**slide reverse passive latex agglutination test**“ (**RPLA**), wobei sie einen von Kaninchen isolierten caninen CRP-IgG-Antikörper benutzten und verglichen diese Werte mit den mittels eines ELISA gemessenen. Die gefundenen Werte korrelierten eng miteinander.

1996 entwickelten TAGATA et al. ein alternatives Assay-System, den „**capillary reverse passive latex agglutination test**“ (**cRPLA**) mit Kaninchen anti-caninem-CRP, der eine quantitative Bestimmung von CRP zwischen 6,9-222 µg/ml innerhalb von 15 Minuten erlaubte. Hierzu wurden die Seren von 78 Hunden mit Hilfe des cRPLA, SRID (single radial

immunodiffusion) und ELISA gemessen und verglichen, wobei enge Korrelationen zwischen den verschiedenen Testergebnissen gefunden wurden.

PARRA et al. entwickelten 2005(a) ein „**time-resolved immunofluorometric**“-Assay = **TR-IFMA** zur Bestimmung von caninem CRP in Vollblut. Sie bestimmten die Konzentrationen von CRP in Vollblut und den korrespondierenden Plasmaproben mittels des TR-IFMA und eines kommerziell erhältlichen ELISA-Testkits der Firma Tridelta Development und fanden eine hohe Korrelation der Ergebnisse untereinander. Weder die Aufbewahrung noch die Benutzung von Antikoagulantien oder das Vorliegen hämolytischer Proben beeinflussten die Messung von CRP in Vollblut. Die gleichen Autoren bestimmten mit Hilfe des gleichen Testverfahrens auch CRP in Speichel (2005b) und Effusionen (2004).

KJELGAARD-HANSEN et al. (2003a) bewerteten einen kommerziell erhältlichen **spezies-spezifischen ELISA** der Firma Tridelta als nützlich für die Bestimmung von caninem CRP zur Unterscheidung zwischen Hunden mit Infektionen, Neoplasien, endokrinen/metabolischen Störungen und gesunden Hunden sowie zum Messen dynamischer Veränderungen der CRP-Konzentration bei Hunden mit einem plötzlich auftretenden inflammatorischen Stimulus (Pyometra, Mastitis). Die kalkulierte unterste Nachweisgrenze von 0,41 µg/ml lag noch unter der in vorherigen Studien gemessenen Konzentration von CRP in normalem caninem Serum.

2005 untersuchten MARTINEZ-SUBIELA und CERON die Effekte von Hämolyse, Lipämie, Hyperbilirubinämie und verschiedener Antikoagulantien (Heparin, EDTA und Zitrat) auf das CRP-Assay der Firma Tridelta und kommerzielle erhältliche Assays zur Bestimmung von SAA und Cp. Durch alle oben genannten Faktoren kam es zu signifikanten Unterschieden bei der CRP-Bestimmung, jedoch war das Ausmass der durch die zugefügten Substanzen entstandenen Differenzen der Messwerte nicht hoch genug, als dass es Auswirkungen auf die klinische Interpretation der Ergebnisse gehabt hätte. Hämolytische Proben führten zu einem Ansteigen von CRP bis auf 5,72 mg/l, erhöhtes Bilirubin zu einem Absinken der CRP Konzentration. Die bei lipämischen Proben beobachteten Veränderungen waren nicht proportional zur CRP-Konzentration.

Auch ein kommerziell erhältliches „**turbidimetric immunoassay**“= **ITA** zur Bestimmung von humanem CRP (Bayer CRP TIA) wurde nach Vergleich der gemessenen Werte mit dem oben genannten speziespezifischen ELISA als zuverlässig zur Bestimmung caninen Serum-CRPs befunden (KJELGAARD-HANSEN et al., 2003b). Basierend auf caninen Serumproben wurde 2004 vom gleichen Autor eine interne Qualitätskontrolle eben dieses Tests durchgeführt. Das Assay zeigte eine exzellente analytische Langzeitleistung über eine Zeit von 14 Wochen.

GENTILINI et al. (2005) verglichen ein weiteres humanes ITA (Olympus) mit dem gleichen speziesspezifischen ELISA (Tridelta). Mittels ITA wurden deutlich niedrigere Werte gemessen. Sie kamen zu dem Schluss, dass jedes humane CRP-ITA vor einem routinemässigen Einsatz zur Bestimmung von caninem CRP zunächst genau überprüft werden sollte. Eine Kalibrierung mittels eines caninen Standard-CRP-Serums führte zur verlässlichen Messung von CRP mittels des humanen ITA.

Kürzlich entwickelten MCGROTTY et al. (2004) ein schnelles Assay zur qualitativen Bestimmung von CRP mittels Probenverdünnung gefolgt von Immunochromatographie auf einem vorbereiteten **Teststreifen**. So konnte zwischen Proben mit CRP-Konzentrationen <5 mg/L und >5 mg/L unterschieden werden. Jedoch gab es auch falsch positive Testergebnisse.

**Tabelle 3:** Übersicht über Nachweisverfahren zur Bestimmung von CRP

<b>Elektroimmunoassay</b>	CASPI et al., 1984
<b>ELISA</b>	ECKERSALL et al., 1989 YAMAMOTO et al., 1992 KJELGAARD-HANSEN et al., 2003a
<b>Immunoturbidimetric Assay (ITA)</b>	ECKERSALL et al., 1991 KJELGAARD-HANSEN et al., 2003b GENTILINI et al., 2005
<b>Slide reverse passive latex agglutination test (RPLA)</b>	YAMAMOTO et al., 1994a
<b>Capillary reverse passive latex agglutination test (cRPLA)</b>	TAGATA et al., 1996
<b>Time-resolved immunofluorometric Assay (TR-IFMA)</b>	PARRA et al., 2005a
<b>Teststreifen</b>	MCGROTTY et al., 2004

Ein ELISA wurde verwendet, um den **physiologischen CRP-Spiegel** (Tab. 4) bei 10 gesunden Beaglen zu bestimmen. In einem 1. Versuch erfolgte die Blutentnahme zur CRP-Bestimmung 7x/d alle 3 Std., wobei in einem 1. Experiment Werte zwischen 0,8-16,4 µg/ml, in einem 2. identischen Versuch Werte zwischen 0,8-14,0 µg/ml gemessen wurden. In einem weiteren Versuch erfolgte die Blutentnahme 3x wöchentlich über 4 Wochen. Die CRP-Werte lagen zwischen 0,8-22,6 µg/ml (M 3,65+/-1,4). Es scheint keinen circadianen Rhythmus, jedoch individuelle Unterschiede des physiologischen CRP-Spiegels zu geben (OTABE et al., 1998). YAMAMOTO et al. (1994a) bestimmten CRP in Serum und Plasma gesunder Hunde mit Hilfe eines ELISA und RPLA. Bei 66 gesunden Haushunden wurde eine mittlere CRP-Konzentration von 8,4 ± 4,9 µg/ml mit ELISA und 8,5 ± 6,3 µg/ml mit RPLA gemessen, bei

84 sechs Monate alten in Zwingern gehaltenen Beagle lag die mittlere CRP-Konzentration bei  $6,2 \pm 3,9 \mu\text{g/ml}$  mit ELISA und  $8,0 \pm 4,0 \mu\text{g/ml}$  mit RPLA gemessen. Es wurden keine signifikanten alters- oder geschlechtsabhängigen Unterschiede gefunden. Auch KURIBAYASHI et al. (2003a) fanden bei gesunden Beaglen keine **geschlechts- oder altersabhängigen** Unterschiede, wobei die mittlere CRP-Konzentration bei  $7,9 \pm 3,4 \mu\text{g/ml}$  bei männlichen ( $n = 70$ ) und bei  $8,3 \pm 4,0 \mu\text{g/ml}$  bei weiblichen ( $n = 74$ ) Tieren lag. Bei **trächtigen Tieren** ( $n = 8$ ) kam es zu einem Anstieg der CRP-Konzentration auf durchschnittlich  $77,5 \pm 7,1 \mu\text{g/ml}$  30 oder 45 Tage nach der Ovulation. Es wird angenommen, dass der Anstieg von CRP während der Trächtigkeit abhängig ist von dem Einfluss endokriner Hormone. Auch ECKERSALL et al. (1993) untersuchten die APPs bei Trächtigkeit. Sie fanden einen Anstieg von CRP bereits 20 Tage nach Fertilisation, was sie damit erklärten, dass der Embryo um den 20. Tag nach Fertilisation in das Endometrium eingebettet wird. Dieser „Schaden“ am Endometrium ist bereits ausreichend, um eine maternale Akute-Phase-Antwort auszulösen. Somit könnte eine APP-Analyse als Trächtigkeitstest beim Hund verwendet werden.

MARTINEZ-SUBIELA et al. (2003a) bestimmten einen kritischen Differenzwert des CRP von  $4,85 \mu\text{g/ml}$ , indem sie bei 11 gesunden Hunden 5 Wochen lang 1x wöchentlich CRP bestimmten. Benutzt man den kritischen Differenzwert im Zusammenhang mit den korrespondierenden Referenzwerten, so kann dieser Wert eine Hilfe bei der korrekten Interpretation der CRP-Ergebnisse darstellen, indem er festlegt, welche Differenzen zwischen 2 aufeinander folgenden Messungen bei Einzeltieren auf einer natürlichen Variation oder einer Änderung im Verlauf einer Therapie oder einer Versuchsanordnung entsprechen.

**Tabelle 4:** CRP-Werte bei gesunden Hunden

CRP	
<5 – 67 $\mu\text{g/ml}$ ( $n = 22$ )	CASPI et al., 1987
0,8 – 16,4 $\mu\text{g/ml}$ ( $n = 10$ )	OTABE et al., 1998
0,8 – 14,0 $\mu\text{g/ml}$ ( $n = 10$ )	
0,8 – 22,6 $\mu\text{g/ml}$ ( $n = 10$ )	
8,4 $\pm$ 4,9 $\mu\text{g/ml}$ ( $n = 66$ ) 6,2 $\pm$ 3,9 $\mu\text{g/ml}$ ( $n = 84$ )	YAMAMOTO et al., 1994a
7,9 $\pm$ 3,4 $\mu\text{g/ml}$ ( $n = 70$ ) 8,3 $\pm$ 4,0 $\mu\text{g/ml}$ ( $n = 74$ )	KURIBAYASHI et al., 2003
1,1 – 6,3 $\mu\text{g/ml}$ ( $n = 8$ )	KJELGAARD-HANSEN et al., 2003a
9 – 31 $\mu\text{g/ml}$ ( $n = 10$ )	FRANSSON et al., 2004
3,1 – 18,1 $\mu\text{g/ml}$ ( $n = 6$ )	ULUTAS et al., 2005

0,09 – 2,5 µg/ml M 0,59 (n = 15)	TECLES et al., 2005b
0,84 – 4,99 µg/ml M 1,43 (n = 20)	RUSH et al., 2006

HAYASHI et al. (2001) untersuchten mit Hilfe eines von YAMAMOTO et al. (1992) entwickelten ELISA u.a. die CRP-Konzentration im Serum von jungen (1 und 3 Monate alten) und adulten (18 Monate alten) Hunden nach i.m. Inokulation von Terpentinöl, nach einer Operation und intradermaler Inokulation mit *S. aureus* und viraler Vakzine. Einige der Ergebnisse sind in Tab. 5 zusammengefasst.

**Tabelle 5:** CRP-Werte bei Hunden nach Inokulation mit Terpentinöl und *S.aureus* (HAYASHI et al., 2001)

Inokulation mit Terpentinöl (1 Monat) n = 4	146,6 – 201,2 µg/ml M 173,4 ± 22,5
Inokulation mit Terpentinöl (3 Monate) n = 4	322,5 – 341,8 µg/ml M 331,1 ± 9,4
Inokulation mit Terpentinöl (18 Monate) n = 4	297,6 – 371,9 µg/ml M 335 ± 36,7
Inokulation mit <i>S.aureus</i> (1 Monat) n = 4	61,8 – 98,1 µg/ml M 82,5 ± 16

Der Anstieg der CRP-Konzentration bei 3- und 18-Monate alten Hunden nach Inokulation mit Terpentinöl war signifikant höher als bei den 1 Monate alten Hunden. Der CRP-Spiegel stieg nicht an bei Hunden, die mit viraler Vakzine inokuliert wurden. Bei Hunden mit Frakturen und perkutaner Gastrostomie korrelierte der CRP-Spiegel mit dem Zustand der Tiere. Somit scheint es sowohl von Lokalisation, Ausmass und Art der Schädigung des Körpers abhängige Konzentrationsunterschiede zwischen den einzelnen APPs zu geben. Auch das Alter der Tiere scheint eine Rolle zu spielen, weshalb APPs als diagnostische Marker vor allem bei sehr jungen Hunden vorsichtig zu beurteilen sind.

Bei 5 gesunden Beaglen stieg der CRP-Spiegel nach i.m. Injektion von Terpentinöl signifikant an und erreichte ein Maximum von  $431,5 \pm 31,3$  µg/ml an Tag 2. Nach 2-3 Wochen wurden wieder Normalwerte gemessen (YAMASHITA et al., 1994).

Nach chirurgischen Eingriffen stieg die Konzentration von CRP nach 24 Std. auf einen Maximalwert an, nachdem es vor dem Eingriff nicht zu messen war (CONNER et al., 1988).

YAMAMOTO et al. (1992) fanden bei 2 Hunden nach Gastrotomie einen Anstieg des CRP auf 305 bzw. 245 µg/ml an Tag 1 nach OP bzw. auf 221 und 260 µg/ml bei 2 Hündinnen nach Ovariohysterektomie. 2-3 Wochen nach der OP war der CRP-Spiegel bei keinem der Hunde mehr erhöht.

KJELGAARD-HANSEN et al. (2003a) benutzten einen kommerziell erhältlichen ELISA zur Bestimmung von CRP bei Hunden mit verschiedenen pathologischen Veränderungen (Tab. 6).

**Tabelle 6:** CRP-Konzentrationen bei verschiedenen pathologischen Zuständen (KJELGAARD-HANSEN et al., 2003a)

<b>Neoplasien</b> (Mammatumoren, Mastozytom, Lymphosarcom, Lipom, u.a.)	0,8 – 14,2 µg/ml (M 1,5 µg/ml)
<b>Infektionen</b> (Pyometra, Leishmaniose, Arthritis, u.a.)	13,6 – 88,6 µg/ml (M 51,7 µg/ml)
<b>Endokrine/metabolische Störungen</b> (Hyperadrenokortizismus, D.mellitus, Hypothyreose, u.a.)	0,5 – 5,2 µg/ml (M 0,8 µg/ml)

CASPI et al. (1987) untersuchten ebenfalls Hunde mit verschiedenen pathologischen Veränderungen (Tab. 7).

**Tabelle 7:** CRP-Konzentrationen bei verschiedenen pathologischen Zuständen (CASPI et al., 1987)

	<b>CRP (µg/ml)</b>
<b>Injektion von 5%igem Casein</b> (n = 9)	132 – 269 µg/ml (nach 24 h)
<b>Ovariohysterektomie</b> (n = 11)	M 144 µg/ml (nach 24 h)
<b>Orthopädische OP</b> (n = 10)	M 83 µg/ml (nach 24 h)
<b>Inokulation mit Leptospiren</b> (n = 5)	83 – 400 µg/ml (nach 2-4d)
<b>Rheumatoide/erosive Arthritis</b> (n = 4)	26, 35, 63 und <5 µg/ml
<b>Aktive nichterosive Arthritis</b> (n = 4)	<5, 5, 7 und 11 µg/ml
<b>Pankreasinsuffizienz</b> (n = 9)	<5 – 49 µg/ml
<b>Intestinale Malabsorption</b> (n = 3)	<5 µg/ml
<b>Glomerulonephritis</b> (n = 11)	<5 – 150 µg/ml (M 14 µg/ml)
<b>Benigne Mammatumoren</b> (n = 19)	<5 – 26 µg/ml (M 5 µg/ml)
<b>Maligne Mammatumoren ohne Metastasen</b> (n = 7)	<5 – 19 µg/ml (M 5 µg/ml)
<b>Maligne Mammatumoren mit Metastasen</b> (n = 10)	<5 – 246 µg/ml (M 25 µg/ml)
<b>IHA</b> (n = 3)	46, 118 und 146 µg/ml

Mit Hilfe eines ELISA fanden YAMAMOTO et al. (1993) in einer Studie einen Anstieg von CRP bei mehreren pathologischen Veränderungen (Tab. 8).

**Tabelle 8:** CRP-Konzentrationen bei verschiedenen pathologischen Zuständen (YAMAMOTO et al., 1993)

	<b>CRP (Median)</b>
<b>Orthopädische OP</b> (n = 4)	383,2 µg/ml (24-48 h post OP)
<b>OP oberflächlicher Tumoren</b> (n = 15)	249,2 µg/ml (24-48 h post OP)
<b>OP Pyometra</b> (n = 3)	181,6 µg/ml (24-48 h post OP)

<b>Ovariohysterektomie</b> (n = 3)	136,2 µg/ml (24-48 h post OP)
<b>Leptospirose</b> (n = 2)	266,4 µg/ml
<b>Bakterielle Enteritis</b> (n = 4)	169,3 µg/ml
<b>Parvovirose</b> (n = 4)	165,9 µg/ml
<b>Neoplasien</b> (n = 17)	66,3 µg/ml
<b>Hämorrhagische Gastroenteritis</b> (n = 4)	56,6 µg/ml
<b>Polypen</b> (n = 2)	32,9 µg/ml
<b>Zahnstein + Gingivitis</b> (n = 4)	28,9 µg/ml
<b>Dermatitis</b> (n = 8)	26,3 µg/ml
<b>Gastroenteritis</b> (n = 6)	17,6 µg/ml
<b>Augenkrankheiten</b> (n = 3)	8,0 µg/ml
<b>Rachitis</b> (n = 2)	7,5 µg/ml
<b>Nephritis</b> (n = 2)	6,9 µg/ml

Bei Hunden, die einer OP unterzogen wurden, erfolgte eine Blutentnahme an Tag 0, 1-2 und 8. V.a. bei Hunden mit Pyometra und Tumoren war der CRP-Spiegel an Tag 8 post OP deutlich niedriger als an Tag 0. Bei Verbesserung der Symptome kam es zu einem CRP-Abfall.

Mit Hilfe eines „Immunoturbidometric Assay“ für CRP (ECKERSALL, 1991) wurden 67 Hunde mit inflammatorischen Reaktionen (stabkernige neutrophile Granulozyten  $\geq 10^9/L$ ) untersucht. Sie zeigten eine signifikante, aber leichte Korrelation zwischen CRP und Neutrophilenzahl (BURTON et al., 1994). Der CRP-Anstieg war grösser als der der Neutrophilen, so dass die CRP-Konzentration eher auf das Ausmass der Inflammation hinzudeuten schien als die Zahl der Neutrophilen. Hieraus schloss man, dass die Messung von CRP vor allem bei Hunden mit klinischen Syndromen von Nutzen sein kann, bei denen eine insuffiziente oder abnorme Antwort des Knochenmarkes auf Entzündungsreize zu erwarten ist, wie z.B. bei Leukämie, myeloider Hypoplasie, myeloider Dysplasie, zyklischer Hämatopoese, Parvovirose oder Knochenmarksuppression durch Chemotherapeutika oder Östrogene.

YAMAMOTO et al. (1994a) fanden bei 10 Hunden mit schwerer Pneumonie CRP-Werte von 284-648 µg/ml, bei 10 Hunden mit leichter Pneumonie CRP-Werte zwischen 21,7-123,0 µg/ml.

In einer Studie wurden erhöhte CRP-Werte bei Hunden mit Pyometra gefunden (KRZYZANOWSKI et al., 2000). FRANSSON et al. (2004) bestimmten CRP bei Hunden mit Pyometra (n = 54) und zystischer endometrischer Hyperplasie/Mucometra (n = 10) mit Hilfe eines Testkits (CRP-ELISA, Fa.Tridelata Development). Eine Erhöhung der stabkernigen

neutrophilen Granulozyten in Kombination mit einer erhöhten CRP-Konzentration wies die höchste Sensitivität auf, um eine Pyometra von einer Mucometra unterscheiden zu können. Hunde mit Pyometra hatten im Mittel CRP-Werte von  $200,28 \pm 93,51 \mu\text{g/ml}$ , während der Mittelwert bei Hunden mit Mucometra zwischen  $53,51 \pm 66,24 \mu\text{g/ml}$  lag.

HOLM et al. (2004) fanden bei 16 Hunden mit akuter Pankreatitis Werte von  $56,1 \pm 12,7 \mu\text{g/ml}$  bei Erstvorstellung (Tag 1). Bei 7 Hunden, bei denen der CRP-Wert auch an Tag 3 und 5 bestimmt werden konnte, sank die CRP-Konzentration im Verlauf der Behandlung signifikant ab. SPILLMANN et al. (2004) untersuchten 14 Hunde mit akuter Pankreatitis. Sie fanden bei 9 Hunden mit Pankreasnekrose CRP-Werte von  $385,0 \pm 239,6 \mu\text{g/ml}$ , bei 5 Hunden mit ödematöser Pankreatitis Werte von  $70 \pm 67,9 \mu\text{g/ml}$  und schlossen daraus, dass CRP hilfreich bei der Bestimmung der Schwere der Erkrankung sein kann.

JERGENS et al. (2003) beurteilten CRP als nützlichen Marker für das Ansprechen der Therapie bei Hunden mit IBD. Sie untersuchten 58 Hunde mit IBD, bei denen ein CRP-Wert von  $10,42 \pm 2,56 \mu\text{g/ml}$  gemessen wurde. Bei 28 Hunden, die aufgrund ihrer klinischen Symptome einen CIBDAI („canine IBD activity index“) Score von  $>5$  aufwiesen, lagen die CRP-Werte mit  $15,33 \pm 4,85 \mu\text{g/ml}$  signifikant höher als bei den gesunden Kontrollhunden. Unter Therapie sanken sowohl CIBDAI Score als auch CRP-Werte signifikant ab.

OTABE et al. (2000) verursachten bei 6 Beaglen durch Gabe von Acetylsalicylsäure, Indomethacin oder Natriumchlorid Magenschleimhautschäden. Innerhalb von 1-3 Tagen kam es zu einem CRP-Anstieg auf  $87\text{-}390 \mu\text{g/ml}$ , innerhalb von 14 Tagen wurden wieder Normalwerte erreicht.

MARTINEZ-SUBIELA et al. (2002) fanden bei 30 Hunden mit Leishmaniose und klinischen Symptomen einen medianen CRP-Wert von  $65,03 \mu\text{g/ml}$ , die CRP-Konzentration bei 55 symptomlosen Leishmaniose positiven Hunden lag bei  $30,8 \mu\text{g/ml}$ . In einer weiteren Studie (2003 b) fanden sie einen signifikanten Abfall von CRP während der Behandlung.

TECLES et al. (2005b) untersuchten Hunde mit Leishmaniose ( $n = 6$ ), Pyometra ( $n = 4$ ) und Lymphom/Leukämie ( $n = 4$ ) und fanden bei einer guten Therapieantwort einen Abfall der APPs. Sie schlossen daraus, dass die Messung von APPs als prognostischer Faktor und zum Monitoring der Therapie herangezogen werden kann.

In einer weiteren Studie untersuchten TECLES et al. (2005a) die Konzentration von CRP, Hp, Cp und SAA bei Hunden mit akuter Inflammation, hämatologischen Neoplasien, nichthämatologischen Neoplasien und IHA (Tab. 9).

**Tabelle 9:** Konzentration von CRP, Hp, Cp und SAA bei Hunden mit verschiedenen pathologischen Veränderungen (TECLES et al., 2005a) (häm.= hämatologisch; nichthäm. = nicht hämatologisch)

	<b>CRP (mg/L)</b>	<b>Hp (g/L)</b>	<b>Cp (g/L)</b>	<b>SAA (mg/L)</b>
<b>Kontrollhunde</b>	0,09 - 2,5	0,2 - 2,4	1,1 - 6	1 - 4,3
<b>M</b>	0,6	0,8	4,1	1,8
<b>n</b>	15	15	15	15
<b>akute Inflammation</b>	59,5 - 249,2	0,3 - 19,8	3,4 - 58,7	6,1 - 231,7
<b>M</b>	112,6	11,1	15,2	30,2
<b>n</b>	12	11	7	12
<b>IHA</b>	22,2 - 91,8	0,4 - 12,2	4,4 - 51,2	5,4 - 23,8
<b>M</b>	40,8	4,4	23,2	9,6
<b>n</b>	8	8	8	8
<b>häm. Neoplasien (gesamt)</b>	7,5 - 130,8	0,7 - 11,2	3,3 - 34,5	5,4 - 302
<b>M</b>	72,8	4,15	7,8	8,1
<b>n</b>	16	16	16	16
<b>häm. Neoplasien (Lymphom)</b>	7,5 - 130,8	0,7 - 11,2	3,3 - 34,5	5,4 - 186,1
<b>M</b>	72,8	1,7	7	8,1
<b>n</b>	8	8	8	8
<b>häm. Neoplasien (Leukämie)</b>	45,4 - 111,5	0,9 - 9,8	3,6 - 38	5,6 - 302
<b>M</b>	78,3	7,7	8,6	7,9
<b>n</b>	8	8	8	8
<b>nichthäm. Neoplasien (gesamt)</b>	3,8 - 90,5	0,3 - 6,1	2,7 - 4,7	5,2 - 358,3
<b>M</b>	17,2	2,4	7,3	6,1
<b>n</b>	21	19	19	21
<b>nichthäm. Neoplasien (epithelial)</b>	4,5 - 86,8	1,6 - 5,5	2,9 - 34,7	5,2 - 6,8
<b>M</b>	11,5	3,1	16,9	5,5
<b>n</b>	9	8	7	9
<b>nichthäm. Neoplasien (mesenchymal)</b>	17,1 - 90,5	0,3 - 3,7	4,3 - 22,9	5,5 - 358,3
<b>M</b>	29,4	2,4	7,8	6,2
<b>n</b>	6	6	6	6
<b>nichthäm. Neoplasien (gemischt)</b>	3,8 - 68,8	1,4 - 5,5	2,7 - 4,9	5,6 - 13,5
<b>M</b>	7,6	1,6	3,7	6,2
<b>n</b>	6	5	6	6

Bei akuter Inflammation wurde die höchste Konzentration an Hp und CRP, bei IHA die höchste Konzentration an Cp gefunden. Bei akuter Inflammation kam es zu einem signifikanten Anstieg von Hp, Cp und CRP im Vergleich zu den gesunden Kontrollhunden, SAA stieg jedoch nicht signifikant an. Bei den hämatologischen Neoplasien kam es zu einem Anstieg aller APPs, nur der Anstieg von Hp und CRP war jedoch signifikant. Bei Hunden mit IHA kam es zu einem signifikanten Anstieg von Cp und CRP. Bei Kontrolluntersuchungen von 6 Hunden (Pyometra (n = 1), multizentrisches Lymphom (n = 2), chronische lymphatische Leukämie (n = 1), granulozytäre Leukämie (n = 1), IHA (n = 1) ) im Wochenabstand zeigte sich, dass es bei gutem Ansprechen auf die Therapie zu einem Abfall der APPs kam, bei einem Nichtansprechen auf die Therapie blieben die APPs jedoch hoch bis zum Tod des Tieres. Ein Hund mit IHA hatte an Tag 0 einen CRP-Wert von 27,5 mg/L, an Tag 30 lag der Wert bei 64,2 mg/L. Der Hp-Wert stieg von 0,4 g/L auf 6,5 g/L unter

Prednison. Dieser Hund sprach nicht gut auf die Therapie an und starb einen Monat später (TECLES et al., 2005a).

Die Konzentration von CRP stieg 4-16 Tage nach experimenteller Infektion von 5 Beaglen mit *E. canis* an und erreichte Maximalwerte von 217,8-788,8 µg/ml, wonach es zu einem schnellen Abfall von CRP kam (SHIMADA et al., 2002). Nach experimenteller Infektion von 5 Hunden mit *E. canis* kam es zu einem Peak der CRP-Konzentration an Tag 4 und 6, der 3,3-6,5x höher war als der Anfangswert und bis zum 34. Tag wieder absank. Neun von 12 Hunden, die natürlich mit *E. canis* infiziert waren, hatten CRP Werte >50 µg/ml.

8 Beagle wurden intrabronchial mit avirulenten Zellen von *Bordetella bronchiseptica* inokuliert. CRP stieg nach 1 Tag auf 385-720 µg/ml (M 498 ± 132) bei 4 nicht therapierten Beaglen und auf 372-649 µg/ml (M 551 ± 106 µg/ml) bei 4 mit Prednisolon (2mg/kg/d) behandelten Beaglen. Prednisolon hatte keinen Effekt auf CRP. Bei erneuter Inokulation mit *B. bronchiseptica* einige Wochen später war der CRP-Anstieg deutlich geringer (YAMAMOTO et al., 1994b).

Bei 50 Hunden mit Babesiose lag der CRP-Spiegel im Median bei 188,9 µg/ml, wobei der CRP-Wert in der Gruppe der Hunde mit komplizierter Babesiose signifikant höher lag (MATIJATKO, 2002). Auch ULUTAS et al. (2005) fanden bei 7 Hunden mit Babesiose signifikant erhöhte CRP-Werte zwischen 33,4 und 125 µg/ml (72,73 ± 11), deren Höhe abhängig von der Schwere der Erkrankung zu sein schien.

RUSH et al. (2006) bestimmten CRP bei 47 Hunden mit chronischer Endokardiose und fanden erhöhte CRP-Werte zwischen 0,86 und 33,8 µg/ml (M 2,17). Die Höhe der CRP-Konzentration war nicht abhängig von der Schwere der Herzinsuffizienz oder der Schwere des Herzgeräusches.

Das Messen von CRP zur Überprüfung der Medikamententherapie erwies sich als nicht von Nutzen bei Hunden mit induzierter akuter Synovitis, die mit Carprofen, Etodolac, Meloxicam oder Butorphanol behandelt wurden (BORER et al., 2003).

PARRA et al. (2006) bestimmten CRP in Ergüssen, wobei sie die höchste CRP-Konzentration in Exsudat, die niedrigste in Transsudat nachweisen konnten.

### **2.3.1.2. Haptoglobin (Hp)**

**Hp** ist ein von der Leber synthetisiertes Glycoprotein (PUTNAM, 1975). Hunde haben nur einen Hp-Subtyp, Menschen hingegen 3 (Hp 1-1, Hp 2-1, Hp 2-2). Das canine Hp ist sehr ähnlich dem humanen Hp 1-1 hinsichtlich des Aminosäuregehaltes, Molekulargewichts (81 kD), elektrophoretischen Musters und Vorkommens von α- und β-Untereinheiten in einem

Vierketten-Muster ( $\beta$ - $\alpha$ - $\alpha$ - $\beta$ ) (SHIM et al., 1971). Verglichen mit dem humanen Hp 1-1 weist canines Hp zwei strukturelle Unterschiede auf: die 2  $\alpha\beta$ -Ketten sind durch eine nichtkovalente Bindung und nicht durch Disulfidbrücken verbunden und die  $\alpha$ -Kette hat eine Oligosaccharid-Bindung und ist glycosyliert, wohingegen die humane  $\alpha$ -Kette nicht glycosyliert ist (MOMINOKI et al., 1995). Hp hat u.a. die Aufgabe, Komplexe mit Hämoglobin zu bilden, das während der Hämolyse frei wird und dadurch zum Recycling des hämgebundenen Eisens beizutragen, nachdem die Komplexe von der Leber aufgenommen wurden (TAKAMI, 1993). Hp schützt den Organismus durch eine Vielzahl von Mechanismen während der Immunantwort: Es wirkt als Antioxidans, hemmt die „neutrophil respiratory burst activity“, die Granulozyten-Chemotaxis, Phagozytose und bakterielle Aktivität und die Rezeptor-Liganden vermittelte Aktivierung des Immunsystems (ANDERSSON und SEVELIUS, 2001). IL-6 gilt als wichtigster Stimulator der Hp-Synthese (HEINRICH et al., 1990).

Zur **Bestimmung von Hp** stehen 2 verschiedene Verfahren zur Verfügung: **spektrophotometrische** Methoden und **Immunoassays** (CERON et al., 2005).

Erstere basieren auf der Fähigkeit von Hp Hämoglobin (Hb) zu binden und Hp-Hb-Komplexe zu bilden, die entweder die Absorption von Hb in Proportion zur Konzentration von Hp erhöhen oder die Peroxidase-Aktivität bei saurem pH bewahren, was dann nachgewiesen und quantifiziert werden kann (CERON et al., 2005). Ein automatisiertes spektrophotometrisches multispezifisches Assay basierend auf der Peroxidase-Aktivität von Hp-Hb-Komplexen wurde beschrieben (ECKERSALL et al., 1999; McGROTTY et al., 2003), was dazu führte, dass Hp-Assays in einigen veterinärmedizinischen Laboratorien zu einem routinemässig durchgeführten biochemischen Test wurden (SMITH et al., 1998). Ein weiterer Fortschritt resultierte aus der Untersuchung der biochemischen Interaktionen, die bei dem auf Hp-Hb-Bindung beruhenden Assay von Bedeutung sind, da die Annahme bestand, dass Serum-Albumin bei niedrigen Hp-Spiegeln zu falsch positiven Resultaten führen kann. Es wurde ein neuer Reagenz-Cocktail hergestellt, um diese Interferenz zu eliminieren, was die Entwicklung eines robusteren automatisierten biochemischen Assay-Systems ermöglichte, welches die Grundlage für das erste kommerziell erhältliche biochemische Assay-Kit für Serum Hp darstellt (ECKERSALL et al., 1999).

Weitere Testmethoden basieren auf der Bindung von Hp an Cyanmethämoglobin (SOLTER et al., 1991).

Die Messung von Hp mittels **nephelometrischer Immunoassays** beruht auf der Messung der Präzipitation von Antikörper-Antigen-Komplexen (CERON et al., 2005). Beim Schwein wurde Hp mit Hilfe eines nephelometrischen Immunoassays bestimmt (LIPPERHEIDE et al.,

1998), wobei eine ähnliche Technik der Immuno-Turbidimetrie benutzt wurde, um Hp im caninen und equinen Serum zu messen und als nützlich bei der Diagnose von Entzündung bewertet wurde (WEIDEMEYER und SOLTER, 1996).

PARRA et al. entwickelten 2005(c) ein „**time-resolved fluorometry based immunoassay**“ und bestimmten erstmals canines Hp nicht nur in Serum, sondern auch in Vollblut und Speichel. Die Hp-Konzentration im Vollblut war niedriger als die in Serum gemessene, wohingegen die Hp-Konzentration im Speichel nur wenig mit der im Serum gemessenen korrelierte. Jedoch war die Hp-Konzentration im Speichel von Hunden mit pathologischen Prozessen höher als die von gesunden Hunden. Es konnte eine hohe Korrelation der Messungen gefunden werden zwischen dem neuen Testkit und einem kommerziell erhältlichen Testkit, welches auf der Peroxidase-Aktivität von an Hämoglobin gebundenem Hp basiert. Die Hp-Konzentrationen im Serum lagen zwischen 0,03-1,88 mg/ml bei gesunden (n = 12) (Tab. 10) und zwischen 2,12-40,70 mg/ml bei Hunden mit verschiedenen pathologischen Prozessen (n = 15).

Beim Hund gehört Hp zu den moderaten APPs: Es steigt 2-3fach an bei Inflammation, Infektion oder Trauma (ECKERSALL und CONNER, 1988; ECKERSALL, 1995). Als Referenzwerte wurden mittels eines automatischen biochemischen Assays basierend auf der Haptoglobin-Hämoglobin-Bindung Konzentrationen zwischen 0 und 3 g/l ermittelt, während Konzentrationen über 10 g/l mit starken inflammatorischen Reaktionen einhergingen (ECKERSALL et al., 1999).

**Tabelle 10:** Hp-Werte bei gesunden Hunden

Hp	Autoren
0,09 – 1,6 g/l (Median 0,2)	McGROTTY et al., 2003 (n = 4)
MW 3,3 ± 0,79 mg/ml	JERGENS et al., 2003 (n = 9)
0,2 – 2,4 g/l (Median 0,8)	TECLES et al., 2005 (n = 15)
0,03 – 1,88 mg/ml	PARRA et al., 2005c (n = 12)
1,2 – 3,21 mg/ml (MW 2,18 ± 0,32)	ULUTAS et al., 2006 (n = 6)

MCGROTTY et al. (2003) benutzten diesen Test zur Bestimmung von Hp bei Hunden mit verschiedenen pathologischen Prozessen (Tab. 11)

**Tabelle 11:** Hp bei verschiedenen pathologischen Prozessen (McGROTTY et al., 2003)

Gr.	Anzahl	Krankheit	Hp (M) g/l	Spannweite	Referenzbereich <3,0 g/l	Moderater Anstieg 3-10 g/l	Starker Anstieg >10 g/l
1	33	<b>HAC</b>	4,9	0,23-8,78	9	24	0
2	4	<b>Non-IM+Ster</b>	10,12	3,79-15,12	0	2	2
3	13	<b>DM</b>	4,14	1,71-17,6	3	8	2
4	7	<b>IM</b>	3,32	0,22-6,95	3	4	0
5	17	<b>Neo</b>	5,5	0,85-31,8	7	7	3
6	3	<b>HAC+DM</b>	4,03	3,84-4,32	0	3	0
7	13	<b>IM+Ster</b>	8,45	4,55-22,4	0	9	4
8	7	<b>Neo+Ster</b>	7,04	0,58-14,6	2	2	3
9	4	<b>Control</b>	0,2	0,09-1,6	4	0	0

(Gruppe 1: Hyperadrenokortizismus (HAC); Gruppe 2: nicht-immunbedingte Krankheiten, therapiert mit Steroiden (Non-IM+Ster); Gruppe 3: Diabetes mellitus (DM); Gruppe 4: IMHA, Polyarthritits vor Behandlung (IM); Gruppe 5: maligne Neoplasie (Neo); Gruppe 6: Diabetes mellitus + Hyperadrenokortizismus (HAC + DM); Gruppe 7: immunbedingte Erkrankungen, therapiert mit Steroiden (IM + Ster); Gruppe 8: maligne Neoplasie, therapiert mit Kortikosteroiden (Neo + Ster); Gruppe 9: gesunde Kontrolltiere (Control))

Die Therapie mit Prednisolon führte zu einem starken Anstieg der Hp-Konzentration unabhängig von der zugrunde liegenden Erkrankung. Der Anstieg von Hp nach Gabe von Prednisolon war deutlich höher als der nach Stimulation durch endogene Steroide.

24 von 33 Hunden mit Hyperadrenokortizismus hatten eine Serum-Hp-Konzentration über 3,0 g/l, während bei einer anderen Gruppe von mit Glukokortikoiden behandelten Hunden eine höhere Hp-Konzentration gemessen werden konnte als bei einer vergleichbaren Kontrollgruppe. Diese Ergebnisse korrelieren mit den Ergebnissen von McGROTTY et al. (2003), weshalb Hp möglicherweise nützlich sein könnte bei der Diagnosestellung eines Hyperadrenokortizismus (ECKERSALL, 2003).

JERGENS et al. (2003) bestimmten Hp bei 58 Hunden mit IBD und fanden Werte von  $2,5 \pm 0,37$  mg/ml verglichen mit  $3,2 \pm 0,37$  mg/ml bei 9 gesunden Hunden. Unter der Therapie mit Prednisolon in einer Dosierung von 0,5 bis 1,5 mg/kg q 12 h kam es zu einem Anstieg von Hp auf  $9,5 \pm 1,1$  mg/ml innerhalb von 14 bis 21 Tagen nach Beginn der Therapie.

Auch HARVEY und WEST (1987) fanden einen Anstieg der Hp-Konzentration nach Gabe von Prednisolon. Bei fortgeschrittener Leberinsuffizienz wurde ein erniedrigter Hp-Spiegel festgestellt. Elektrophoretische Separierung und Quantifizierung von APPs zeigte, dass Hp und  $\alpha$ -1-Antitrypsin bei Hunden mit terminaler Leberzirrhose erniedrigt waren, wohingegen

normale oder erhöhte Werte prognostisch günstiger waren (SEVELIUS und ANDERSON, 1995).

Bei einer frühen Trächtigkeit (2-3 Wochen) kommt es zu einem Anstieg von Hp. VANNUCCHI et al. (2002) untersuchten 20 trächtige Dänische Doggen und fanden ab der 3. Woche Werte über 112,4 mg/dl im Gegensatz zu 80,2 mg/dl bei 20 nicht trächtigen Doggen. Nach chirurgischen Eingriffen konnte bei 6 Hunden ein Anstieg von Hp innerhalb von 24 Stunden nach der OP festgestellt werden, wobei Spitzenwerte von 120% Anstieg zwischen dem 3. und 5. Tag post OP festgestellt wurden (CONNER et al., 1988).

Eine Entzündungsreaktion konnte bis zu 6-fach sensitiver durch Bestimmung von Hp und Coeruloplasmin-Oxidase-Aktivität nachgewiesen werden verglichen mit Fibrinogenkonzentration oder Leukozytenzahl (SOLTER et al., 1991). Die Spezifität der Hp-Konzentration fiel im Vergleich zu Fibrinogen-Konzentration und Leukozytenzahl mit 88% jedoch etwas geringer aus als die der Coeruloplasmin-Oxidase-Aktivität.

MARTINEZ-SUBIELA et al. (2003b) fanden bei 8 gesunden Hunden einen mittleren Hp-Wert von 1,95 g/l. 55 asymptomatische Leishmaniose positive Hunde wiesen einen Hp-Wert von 8,2 g/l, 30 symptomatische Hunde einen Wert von 8,8 g/l im Mittel auf. Hp sank während der Therapie nicht signifikant ab.

Bei 7 Hunden mit Babesiose kam es zu einem signifikanten Abfall der Hp-Konzentration auf  $0,31 \pm 0,02$  mg/ml (0,26-0,39) (ULUTAS et al., 2005). Bei 6 gesunden Hunden wurden Hp-Werte zwischen 1,2 und 3,21 mg/ml gemessen ( $2,18 \pm 0,32$ ).

Beim Hund wurde ein dem Hp 1-1 des Menschen ähnliches Hp beschrieben (DOBRYSZYCKA et al., 1969; SHIM et al., 1971; SHIFRINE und STORMONT, 1973). ANDERSSON et al. untersuchten 1998 die krankheitsbedingte **Variation der Glycosylierung** von Hp beim Hund mit Hilfe von „Isoelectric focussing“ (IEF) und Immunoblotting. Hierzu untersuchten sie Serum von 57 Hunden, davon 36 mit Leberkrankheiten, 21 mit Anämie (11 mit pIHA, 10 mit sIHA) und 15 gesunde Tiere. Die Hp-Spiegel waren bei allen anämischen Hunden stark erhöht: Der durch Elektrophorese gemessene Hp-Spiegel bei gesunden Hunden lag bei  $1,1 \pm 0,2$  mm, bei Hunden mit IHA bei  $2,0 \pm 0,7$ , bei sich von der IHA erholenden Hunden bei 1,5, bei Hunden mit sIHA aufgrund von Inflammation, Infektion oder Koagulopathien bei  $3,14 \pm 1,2$  und bei Hunden mit sIHA aufgrund von Leukämie oder malignem Lymphom bei  $3,33 \pm 0,9$  mm. Es wurde nur ein Phänotyp des caninen Hp, jedoch eine krankheitsbedingte Variation in der Glycosylierung des Hp gefunden, die der beim Menschen gefundenen ähnlich zu sein scheint. Grosse (HpM) sowie kleine (Hpm) Aberrationen der Glycosylierung wurden häufig bei den anämischen

Hunden gefunden, 14 von 21 hatten sowohl erhöhte Hp-Konzentrationen als auch eine erhöhte Glycosylierung des Hp, meistens HpM. Gesunden Hunde wiesen keinerlei abnorme Glycosylierung auf.

In einer Studie von ANDERSSON und SEVELIUS (2001) wurde Serum von 137 Hunden mit verschiedenen Erkrankungen und 40 gesunden Hunden untersucht. Bei 26 Hunden mit IHA wurden die stärksten Veränderungen der Glycosylierung des Hp, eine stark erhöhte Konzentration an Hp (2,15 mm Hp-Fraktion) sowie sehr niedrige Spiegel an Hämoglobin (61,2 g/l) festgestellt. Angaben zur Medikation machen die Autoren nicht, was von Interesse wäre, da es zu einem Anstieg von Hp nach Gabe von Glukokortikoiden kommt (HARVEY und WEST, 1987; SOLTER et al., 1991). Diskutiert als Gründe für das Auftreten dieses „abnormalen“ Hp werden eine stark gesteigerte Synthese von Hp in der Leber, die eine Veränderung der Glycosylierung bedingt, sowie eine hohe Konzentration an Zytokinen, v.a. IL-6, das als der potenteste Stimulator der Synthese von APPs durch die Leber gilt (HEINRICH et al, 1990).

### **2.3.1.3. Serum Amyloid A (SAA)**

Ein weiteres Haupt-APP des Hundes ist das SAA. Es ist ein kleines Serum Protein mit einem Molekulargewicht von 15 kD. Zwischen humanem und caninem SAA besteht eine grosse Homologie, jedoch weist die primäre Struktur caninen SAAs ein zusätzliches Peptid von 8 Aminosäuren auf (HOLD und GRUYS, 1984; SELLAR et al., 1991).

SAA lockt Entzündungszellen zum Ort der Inflammation, reduziert den inflammatorischen Prozess, indem es die Freisetzung von Myeloperoxidase und die Lymphozytenproliferation hemmt und ist am Lipidmetabolismus und Transport beteiligt (UHLAR und WHITEHEAD, 1999; MURATA et al., 2004). Es wird angenommen, dass SAA eine Vorstufe von Amyloid Protein A darstellt, dem Hauptprotein von Alpha-Amyloid, so dass es potentiell beteiligt ist an der Pathogenese von Amyloidose und anderen chronischen Entzündungsprozessen wie rheumatoider Arthritis (UHLAR und WHITEHEAD, 1999). Beim Menschen verhält sich dieses Protein ähnlich wie das CRP. SAA war nützlich als Biomarker in einer Studie über die Effektivität von Impfstoffen nach experimenteller Infektion von Hunden mit caninem Parvovirus (YULE et al., 1997).

Physiologische SAA-Konzentrationen sind in Tabelle 12 zusammengefasst.

**Tabelle 12:** Physiologische SAA-Werte

SAA	Autoren
Nicht nachweisbar – 2,19 mg/ml	MARTINEZ-SUBIELA et al., 2004
Nicht nachweisbar – 69,6 U/ml	YAMAMOTO et al., 1994
1,15 ± 2,53 mg/l	YULE et al., 1997
1 – 4,3 mg/l (M 1,8)	TECLES et al., 2005

TECLES et al. (2005) untersuchten die Konzentration von CRP, Hp, Cp und SAA bei Hunden mit akuter Inflammation, hämatologischen Neoplasien, nichthämatologischen Neoplasien, und IHA (Tab. 9). Bei akuter Inflammation wurde die höchste mediane Konzentration an SAA gefunden (30,2 mg/l). Bei Neoplasien kam es ebenfalls zu einem deutlichen Anstieg von SAA, der jedoch nicht signifikant war (hämatologische Neoplasien 8,1 mg/l; nichthämatologische Neoplasien 6,1 mg/l). Acht Hunde mit IHA hatten einen medianen SAA-Wert von 9,6 mg/l.

MARTINEZ-SUBIELA et al. (2003b) untersuchten 12 Hunde mit Leishmaniose, die sie in 2 Behandlungsgruppen einteilten. Gruppe 1 wurde mit Meglumin Antimonat und Allopurinol, Gruppe 2 lediglich mit Allopurinol therapiert. Die Autoren fanden SAA-Konzentrationen von  $35,29 \pm 41,44$  mg/l bzw.  $51,1 \pm 70,9$  mg/l vor Behandlung. Unter Therapie kam es in beiden Gruppen zu einem deutlichen Anfall der SAA-Konzentration.

Bei Hunden mit einer *Bordetella bronchiseptica* Infektion kam es zu einem bis zu 20fachen Anstieg der SAA-Konzentration (YAMAMOTO et al., 1994), bei Hunden mit Parvovirose gar zu einem 30-800fachen Anstieg (YULE et al., 1997).

#### 2.3.1.4. Coeruloplasmin (Cp)

Cp ist ein  $\alpha$ 2-Glykoprotein. Studien in der Humanmedizin haben gezeigt, dass Cp ein blaues Protein mit einem Molekulargewicht von 151 kD darstellt, das ungefähr 0,34% Kupfer enthält, mit 8 Kupferatomen pro Molekül. Ausserdem enthält es Hexosamine, Hexose und neuraminische Säure (CERON et al., 2005). Die Aufgaben des Cp bestehen in der Beteiligung am Cu-Transport von der Leber in andere Organe, wo es zur Wundheilung, Kollagenbildung und Maturation gebraucht wird, der Cu-Exkretion, der Fe-Absorption und Mobilisierung und der Oxidation von  $Fe^{2+}$  zu  $Fe^{3+}$ , das sich anschliessend mit Apotransferrin verbinden kann, dem Schutz von Zellen und Geweben vor oxidativen Stoffen, die durch Phagozyten freigesetzt werden und der Reduktion von an Endothelien angehefteten Neutrophilen (CERON et al., 2005).

Physiologische Cp-Konzentrationen sind in Tabelle 13 zusammengefasst.

**Tabelle 13:** Physiologische Cp-Werte

<0,4 oxidase units	CONNER et al., 1988
<20 U/l	SOLTER et al., 1991
<4,93 mg/dl	MARTINEZ-SUBIELA et al., 2002
M 4,1 g/l (n = 15)	TECLES et al., 2005
M 4,67 ± 0,17 mg/dl (n = 6)	ULUTAS et al., 2005

Cp steigt beim Hund unter anderem an nach Operationen, wobei ein Maximalwert am 4.-6. Tag nach dem Eingriff festzustellen ist, der einem Anstieg von 140% im Vergleich zum Ausgangswert entspricht (CONNER et al., 1988). Beim Menschen kommt es nach chirurgischen Eingriffen nur zu einem 40%igen Anstieg innerhalb einer Woche. Auch bei Leishmaniose kommt es zu einem Anstieg von Cp und zu einem signifikanten Abfall der Cp-Konzentration nach erfolgreicher Behandlung der Hunde (MARTINEZ-SUBIELA et al., 2003b). Bei Hunden mit experimentell induzierten Abszessen wurde eine Konzentrationszunahme von Cp bis Tag 9 post injectionem (Zeitpunkt der Abszessspaltung) und eine Normalisierung der Werte bis Tag 15 beobachtet (FELDMANN et al., 1981). Die Cp-Oxidase-Aktivität war ebenso wie die Hp-Konzentration bis zu 6 Mal sensitiver für den Nachweis von Entzündung als die Fibrinogen-Konzentration oder Leukozytenzahl. Die Spezifität der Cp-Oxidase-Aktivität war vergleichbar mit der von Fibrinogen-Konzentration und Leukozytenzahl, wohingegen die Spezifität der Hp-Konzentration mit 88% etwas geringer ausfiel (SOLTER et al., 1991). TECLES et al. (2005) bestimmten Cp bei Hunden mit verschiedenen Erkrankungen (Tab. 9). ULUTAS et al. (2005) stellten bei 7 Hunden mit Babesiose signifikant erhöhte Cp-Werte von  $13,06 \pm 1,94$  mg/dl (7,5 bis 21,3) fest.

### 2.3.1.5. $\alpha$ 1- Acid- Glycoprotein (AGP)

AGP ist ein stark glycosyliertes Protein und ist die Hauptproteinkomponente von Seromuroid, der Plasmafraktion, die am stärksten resistent ist gegen Säurepräzipitation (ECKERSALL, 2000). Canines AGP ist ähnlich wie humanes AGP ein Protein von 43 kD mit einem sehr hohen Karbohydratanteil von 45% (FOURNIER et al., 2000). Es wirkt antiinflammatorisch und immunmodulatorisch mit antineutrophiler und antikomplement-Aktivität und erhöht die Sekretion von Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist durch Makrophagen (CERON et al., 2005). Physiologische AGP-Konzentrationen sind in Tabelle 14 zusammengefasst.

**Tabelle 14:** Physiologische AGP-Werte

322 ± 202 µg/ml	KURIBAYASHI et al., 2003b
302 ± 74 µg/ml	OHWADA et al., 1995
<380 µg/ml	RIKISHA et al., 1994
480 ± 149 µg/ml	YULE et al., 1997
509 ± 117 µg/ml	LOBETTI et al., 2000
261 ± 110,5 µg/ml (n = 9)	JERGENS et al., 2003

Eine Studie konnte zeigen, dass es rassespezifische Unterschiede hinsichtlich der AGP Konzentration zu geben scheint. Klinisch gesunde Yorkshire Terrier und Dackel wiesen niedrigere AGP-Konzentrationen auf als Pudel, Cocker Spaniel, Labrador Retriever oder Deutscher Schäferhund (THOUGAARD et al., 1999). Assays für AGP erwiesen sich als nützlich zur Unterscheidung von gesunden und klinisch sowie subklinisch erkrankten Hunden bei der Untersuchung von Tieren für Versuchszwecke (OHWADA und TAMURA, 1995). Auch ein Anstieg von AGP sowie CRP bei Hunden mit *E. canis* ist beschrieben (RIKISHA et al., 1994). Bei Hunden mit Babesiose kam es zu einem 3-5fachen Anstieg der AGP-Konzentration (LOBETTI et al., 2000). Hunde mit Parvovirose zeigten einen 2-5fachen Anstieg an AGP (YULE et al., 1997). Nach chirurgischen Eingriffen stieg die Konzentration von AGP (Seromuroid) innerhalb von 3-5 Tagen um 90% an (CONNER et al., 1988). HAYASHI et al. (2001) untersuchten in einer Studie die Konzentration von AGP mittels „single radial immunodiffusion“ und CRP mittels „capture ELISA“ im Serum von jungen (1 und 3 Monate alten) und adulten (18 Monate alten) Hunden, nach Injektion von Terpentinöl, OP, nach Inokulation von *Staphylococcus aureus* oder viraler Vakzine. Die AGP-Konzentration stieg 4 Tage nach Inokulation mit Terpentinöl signifikant von durchschnittlich ca. 500 auf ca. 2500 µg/ml an, es wurde kein signifikanter Unterschied der AGP-Konzentration zwischen den einzelnen Altersgruppen gefunden. Der Anstieg der AGP-Konzentration war einen Tag nach Ovariohysterektomie bzw. Inokulation mit *S. aureus* bei 1 Monate alten Hunden deutlich geringer als bei 3 Monate alten Hunden. Bei Hunden, die mit viraler Vakzine inokuliert wurden, stieg der AGP-Spiegel nicht an. Bei Hunden mit Frakturen oder perkutaner Gastrostomie korrelierten die AGP-Konzentrationen mit dem Zustand der Hunde. Bei Hunden mit Tumoren fand man eine Korrelation zwischen erhöhter AGP-Konzentration und „total sialic acid content“, das bei diesen Tieren bekannterweise erhöht ist (THOUGAARD et al., 1999). Eine Erhöhung von AGP wurde auch beschrieben bei Hunden mit Lymphom, verschiedenen Karzinomen (ausser Mammatumoren) und Sarkomen (OGILVIE et al., 1993). Die Messung von AGP wurde als nützlich angesehen zur

Überwachung von Hunden mit Lymphom (OGILVIE et al., 1993; HAHN et al., 1999). Bei 58 Hunden mit IBD wurde eine Erhöhung von AGP auf  $363,4 \pm 44,2 \mu\text{g/ml}$  festgestellt (JERGENS et al., 2003). Die Höhe der AGP-Konzentration schien abhängig zu sein von der Schwere der Erkrankung, jedoch wurde diese Korrelation erst bei einem CIBDAI Score  $>6$  signifikant.

#### **2.3.1.6. Fibrinogen**

Fibrinogen ist ein im Plasma von allen Vertebraten vorkommendes  $\beta$ -Globulin. Es besteht aus 3 nichtidentischen durch Disulfidbrücken verbundenen Polypeptidketten und einem Glycoprotein, das 3,5% Kohlenhydrate enthält (CERON et al., 2005). Es ist beim Hund ein nur moderates APP, das bei Stimulation um das 2-4fache ansteigt.

Nachweismethoden sind abhängig von der biologischen Aktivität des Fibrinogens basierend auf der Formationsrate von unlöslichem Fibrin beim Vorhandensein von erhöhtem Thrombin und seiner Präzipitation nach leichter Hitzebehandlung (CERON et al., 2005).

Obwohl die pathophysiologische Reaktion von Fibrinogen auf Infektion und Entzündung seit vielen Jahren bekannt ist, wird Fibrinogen nicht routinemässig als APP bestimmt (CERON et al., 2005). Ein höheres Interesse der Fibrinogen Messung besteht zur Diagnosestellung einer disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC) und Hyperfibrinolyse, wobei es zu einem Abfall der Fibrinogenkonzentration kommt (MISCHKE et al., 1998). In einer Studie mit 161 Hunden mit Entzündung war der prädiktive Wert eines positiven oder negativen Tests für Hp und Cp vergleichbar oder besser als der von Fibrinogen (SOLTER et al., 1991). Die Bestimmung von Fibrinogen kann im Zusammenhang mit hämatologischen Untersuchungen als unspezifischer Indikator für Entzündung bei Hunden dienen (COLES, 1986). Hierbei korreliert die Schwere der Entzündung jedoch nicht immer mit der Fibrinogen-Konzentration. BURGESS et al. (2000) fanden bei 12 von 34 Hunden mit IHA abnorme Fibrinogen-Konzentrationen: 21 Hunde wiesen eine erhöhte Fibrinogen-Konzentration  $>300 \text{ mg/dl}$ , 6 eine erniedrigte von  $<150 \text{ mg/dl}$  auf. SCOTT-MONCRIEFF et al. (2001) untersuchten 20 Hunde mit pIHA. Die Fibrinogen-Konzentration lag zwischen 235 und  $1.858 \text{ mg/dl}$  (M  $708 \text{ mg/dl}$ , Referenzbereich  $150-470 \text{ mg/dl}$ ) und war bei 17 von 20 Hunden erhöht, bei keinem Hund erniedrigt.

#### **2.3.1.7. Albumin**

Albumin ist das am meisten im Blut vorkommende Protein, es macht 30-50% des Plasmaproteins bei gesunden Hunden und Katzen aus.

Albumin gilt als negatives APP, d. h. seine Konzentration sinkt bei der Akute-Phase-Antwort ab. Dies ist dadurch bedingt, dass die Leber die Produktion von Proteinen zugunsten der Produktion von APPs umstellt (ECKERSALL und CONNOR, 1988).

In der täglichen Routinepraxis wird es mittels spektrophotometrischen Methoden gemessen, wie z.B. dem Bromkresolgrün-Test (CERON et al., 2005).

### **2.3.2. Beeinflussung von APPs durch Medikamente**

Beachtet werden muss, dass es beim Hund zu einem Anstieg von Hp nach Gabe von Glukokortikoiden kommt (HARVEY und WEST, 1987; SOLTER et al, 1991). So führten HARVEY und WEST (1987) eine Studie mit 10 gesunden Mischlingshunden durch, von denen sie 7 Prednison in einer Dosierung von 2 mg/kg an 3 aufeinander folgenden Tagen verabreichten. Die Blutentnahme erfolgte bei diesen und 3 Kontrollhunden am Tag 0 (vor der Prednisongabe) und an den Tagen 1, 2, 3, 5, 7 und 9. Die Serum-Hp-Konzentration stieg an Tag 1 signifikant von 0 mg/dl auf 150 mg/dl an und erreichte ein Maximum von 550 mg/dl an Tag 3. Obwohl sie später wieder abfiel, war die Hp-Konzentration am Tag 9 noch nicht zum Ausgangswert zurückgekehrt. Der Vorteil für den Organismus durch diesen Glukokortikoid-induzierten Anstieg von Hp ist noch nicht bekannt.

Dahingegen wird das CRP nicht durch die Gabe von Prednisolon beeinflusst (YAMAMOTO, 1994b). So stellten CASPI et al. (1987) in einer Studie fest, dass der CRP-Spiegel bei Hunden mit nicht aktiver nichterosiver Arthritis sowohl bei Hunden, die mit Kortikosteroiden behandelt wurden, als auch bei Hunden, die ohne Medikation waren, gleich niedrig war. MARTINEZ-SUBIELA et al. (2004) konnten diese Beobachtungen bestätigen. Der Anstieg von Hp nach Gabe von Glukokortikoiden in immunsuppressiver Dosis war ähnlich dem durch einen inflammatorischen Stimulus hervorgerufenen. CRP, Cp und SAA wurden nicht beeinflusst. Allerdings stellten LACKI et al. (1995) fest, dass u. a. der Serumspiegel von CRP trotz klinischer Besserung bei Menschen mit rheumatoider Arthritis nicht absank, wenn diese mit Ciclosporin A behandelt wurden. Anthelmintika führten ebenfalls zu einem Anstieg von Hp (TOSA et al., 1993), nach der Gabe einer therapeutischen Dosis Phenobarbital kam es zu einem Anstieg von AGP (HOJO et al., 2002).

### **2.3.3. Effekte der Akute-Phase-Antwort auf die Effektivität von Medikamenten**

Pharmakokinetische Studien beim Menschen haben gezeigt, dass hohe Plasma-Konzentrationen von Proteinen, die eine hohe Affinität für Medikamente haben (z. B. Albumin und AGP), während der Akute-Phase-Antwort zu signifikanten Unterschieden in

der Medikamenten-Exposition führen können. AGP bindet an viele basische und neutrale lipophile aber auch saure Medikamente wie Phenobarbital (CERON et al., 2005). Neuere Untersuchungen beim Hund haben gezeigt, dass es zu einem 99%igen Abfall in der Bioverfügbarkeit von ungebundenem Chinidin (einem Antiarrhythmikum) bei einem erhöhten Spiegel von AGP kommt (IKENOUE et al., 2000). Weitere Studien der Effekte der Akute-Phase-Antwort auf die Effektivität von veterinärmedizinischen Medikamenten sind nötig.

### **3. Erythropoetin**

Bereits 1906 wurde von CARNOT und DEFLANDRE ein humoraler Faktor postuliert, der die Produktion der roten Blutzellen reguliert und den sie „Hämopoetin“ nannten.

Erythropoetin (EPO) ist ein 30.400-Dalton Glykoprotein, das die Bildung der roten Blutzellen reguliert. Beim erwachsenen Menschen wird EPO von den peritubulären Zellen der Nieren produziert, beim Fetus erfolgt die Bildung in den Hepatozyten. Ein geringer Teil von extrarenalem EPO wird auch beim adulten Menschen noch in der Leber produziert (FISHER, 2003).

EPO bindet an Rezeptoren auf der Zellmembran erythroider Vorläuferzellen und induziert so die Proliferation dieser Zellen. Es agiert synergistisch mit mehreren Wachstumsfaktoren (SCF, GM-CSF, IL-3, IGF-1) und führt so zur Maturation und Proliferation von erythroiden Vorläuferzellen. Ausserdem verhindert EPO die Apoptose von Erythrozyten, um ihre Überlebenszeit zu verlängern. Weitere Effekte von EPO sind eine vom Hämatokrit unabhängige, vasokonstriktionsabhängige Hypertension, eine erhöhte Endothelin-Produktion, eine Hochregulierung von Gewebsrenin, eine Änderung der vaskulären Gewebe-Prostaglandin-Produktion, die Stimulierung der Angiogenese und eine Proliferation von vaskulären glatten Muskelzellen (FISHER, 2003).

Rekombinantes humanes EPO (rHuEPO) steht in der Humanmedizin seit 1989 therapeutisch zur Verfügung. Es wird unter anderem genutzt für Patienten mit Anämie assoziiert mit chronischem Nierenversagen. Über 2/3 aller Dialysepatienten erhalten rekombinantes EPO (NISSENSON, 1993). Weiterhin findet EPO Anwendung bei AIDS Patienten mit Anämie infolge einer Behandlung mit Zidovudine, nichtmyeloiden malignen Tumoren bei mit Chemotherapeutika behandelten Patienten, perioperativ zur Behandlung chirurgischer Patienten und bei autologen Blutspenden (FISHER, 2003).

### **3.1. Erythropoetin und Akute-Phase-Antwort**

In der Humanmedizin sprechen bis zu 10% aller Patienten mit Nierenerkrankungen, die rHuEPO erhalten, nur wenig auf dieses Medikament an und auch zwischen Patienten, die auf rHuEPO ansprechen, gibt es grosse Unterschiede hinsichtlich der Wirksamkeit des Medikamentes. Mehrere Faktoren wurden in früheren Studien als Auslöser für eine rHuEPO-Resistenz bereits identifiziert. Hierzu gehören u. a. ein Eisenmangel, Infektionen/Inflammationen und Dialyse. Jedoch gibt es auch grosse Unterschiede in der Medikamentenwirksamkeit, wenn alle diese Faktoren ausgeschlossen werden können. Eine Hypothese ist, dass es bei Patienten mit Urämie zu einer erhöhten Aktivierung des Immunsystems kommt, was zu einer erhöhten Freisetzung von pro-inflammatorischen Zytokinen (IL-1, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) im Knochenmark führt. Diese Zytokine hemmen die Erythrozyten-Stammzell-Proliferation. In einer Studie wurde u. a. die Zytokin-Freisetzung von T-Zellen und Monozyten bei gut und schlecht ansprechenden Patienten gemessen. Es zeigte sich, dass schlecht ansprechende Patienten einen erhöhten Plasmaspiegel von IL-10, IL-12, TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  aufwiesen. Sie schlossen hieraus, dass eine Anti-Zytokin-Therapie bei solchen Patienten von Nutzen sein könnte. Pentoxifyllin -ein möglicher TNF- $\alpha$ -Antagonist- wurde 3 Patienten verabreicht, die schlecht auf rHuEPO ansprachen. Es konnte ein starker Abfall von TNF- $\alpha$  und ein damit einhergehender Anstieg von Hb beobachtet werden (MACDOUGALL und COOPER, 2002). 2000 veröffentlichte die „European Survey on Anemia Management“ (ESAM) Daten, die sich mit dem CRP als Marker von Inflammation beschäftigten. Es konnte gezeigt werden, dass 201 Dialysepatienten mit CRP-Konzentrationen über 50 mg/l oder darüber an mindestens 3 der 6 Kontrolltermine im Monat trotz höherer Gaben von rHuEPO niedrigere Hb-Spiegel aufwiesen als 3014 Patienten mit CRP-Konzentrationen unter 50 mg/l (HÖRL et al., 2000).

SCHOBERSBERGER et al. (1998) nehmen eine Verbindung zwischen der Aktivierung des Immunsystems und der Entwicklung einer Anämie bei schwer kranken Patienten an. Die Aktivierung des Immunsystems induziert oxidativen Stress und führt zu einer Verschiebung von Eisen aus der Zirkulation in Vorratsräume, woraus eine verringerte Bioverfügbarkeit von freiem Eisen für die Erythropoese resultiert. Weiterhin hemmen proinflammatorische Zytokine wie TNF- $\alpha$  und IL-1 erythroide Vorläuferzellen und reduzieren die Bildung von EPO (JELKMANN, 1998). Niedrige EPO-Konzentrationen im Vergleich zum Ausmass der Anämie, erhöhte Produktion pro-inflammatorischer Zytokine und niedriges Serumeisen trotz genügender Eisenvorräte sind bekannte Faktoren bei der Entwicklung der Anämie von Patienten mit chronischen inflammatorischen Krankheiten (MEANS, 1999). Neuere Studien

zeigen jedoch auch eine erniedrigte EPO-Produktion bei kritisch erkrankten Patienten (KRAFTE-JACOBS et al., 1994; ROGIERS et al., 1997; HOBISCH-HAGEN et al., 2001). Akuter Blutverlust bei gesunden Individuen führt innerhalb von Minuten zu einem Anstieg im Serum-EPO-Spiegel, der mindestens 1-2 Tage anhält, um die Erythropoese zu stimulieren. Ein schweres Trauma führt hingegen zu einer Aktivierung von immunkompetenten Zellen wie Monozyten/Makrophagen und Neutrophilen, die proinflammatorische Zytokine entlassen (SCHLAG und REDL, 1996). Somit führt eine Aktivierung des Immunsystems nach schwerem Trauma zu einem Syndrom der generalisierten systemischen inflammatorischen Antwort des Körpers das die Produktion von Erythrozyten auf mehreren Stufen u. a. durch eine reduzierte EPO-Produktion beeinträchtigen kann.

### **3.2. Erythropoetin und hämolytische Anämie**

1990 untersuchten CYNCHI et al. den Effekt von humanem EPO auf hämolytische Anämie bei Mäusen. Hierzu untersuchten sie Mäuse mit durch Phenylhydrazin induzierter hämolytischer Anämie (PHZ-Mäuse) als akutes Model und 13 Monate alte New Zealand black Mäuse (NZB-Mäuse) als chronisches Model. Die Plasma-EPO-Konzentration bei den PHZ-Mäusen war hoch und zeigte eine starke inverse Korrelation mit dem Hb-Wert während der Entstehung der Anämie. Jedoch war die EPO-Konzentration relativ niedrig während der Rekonvaleszenzzeit. Bei den NZB-Mäusen zeigte sich eine einfache inverse Korrelation mit dem Hb-Wert. rHuEPO wurde täglich über eine Woche in einer Dosierung von 600 IU/kg injiziert. Solange ein hoher endogener EPO-Spiegel bei den PHZ-Mäusen aufrecht erhalten wurde, zeigte sich kein signifikanter Effekt der EPO-Gabe, jedoch konnte während der Rekonvaleszenzzeit ein deutlich schnellerer Anstieg von Erythrozytenzahl und Hb beobachtet werden. Auch bei den NZB-Mäusen stiegen Erythrozytenzahl und Hb während der Gabe von EPO an. Diese Resultate sprechen dafür, dass nicht alle hämolytischen Anämien mit einem hohen endogenen EPO-Spiegel assoziiert sind und dass rHuEPO nützlich sein könnte bei der Therapie der hämolytischen Anämie.

### **III. Material und Methoden**

#### **1.1. Patienten**

Das Patientengut setzte sich aus Hunden verschiedener Rassen, verschiedenen Alters und Geschlechts zusammen. Die Hunde wurden im Zeitraum von Oktober 2003 bis April 2006 an der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin vorgestellt. In die Untersuchungen wurden Patienten aufgenommen, bei denen aufgrund einer vollständig vorliegenden Krankengeschichte und dem durch weiterführende Untersuchungen ermöglichten Ausschluss aller möglichen Auslöser einer sekundären IHA eine primäre IHA diagnostiziert werden konnte. Die Patienten wurden in 2 Gruppen unterteilt: Gruppe 1 bestand aus den Hunden, die die ersten 14 Tage überlebten, Gruppe 2 aus den Hunden, die vor Tag 14 verstarben bzw. euthanasiert wurden.

#### **1.2. Methoden**

##### **1.2.1. Eigene Untersuchungen**

###### **1.2.1.1. Anamnese**

Berücksichtigt wurden: Harn- und Kotfarbe, Anzeichen für erhöhte Blutungsneigung, Erkrankungsdauer, vorausgegangene Erkrankungen, Medikamentengabe/Vorbehandlung, Impfstatus/Zeitpunkt der letzten Impfung, letzte Läufigkeit, Aufenthalte im Ausland oder Süddeutschland, Zeckenbefall und Symptome.

###### **1.2.1.2. Klinische Untersuchung**

Es wurde insbesondere auf folgende Punkte geachtet: Körpertemperatur, Palpation der Lymphknoten, Schleimhautfarbe, kapilläre Füllungszeit, Anzeichen für erhöhte Blutungsneigung in Haut und Schleimhäuten, Kot- und Harnfarbe, Bestimmung von Atemfrequenz und Atemtyp, Herzfrequenz, Herztöne und Pulsqualität, Palpation des Abdomens.

###### **1.2.1.3. Hämatologische Untersuchung**

Das Blut wurde aus der Vena cephalica, Vena saphena (Ramus cran.) oder aus der Vena jugularis in EDTA-Bluttröhrchen entnommen. Hämatologische Untersuchungen wurden mittels des automatischen Multiparameter-Hämatologie-Analysegerätes CELL DYN 3500 (Abbott Laboratories, Ludwigshafen) durchgeführt und folgende Parameter ermittelt: Leukozyten-, Erythrozyten- und Thrombozytenzahlen, die Erythrozytenindizes MCV,

MCHC, MCH, Hämatokrit und Hämoglobinkonzentration. Bei Agglutination und dadurch eventuell falsch niedrigen Messergebnissen des Hämatologie-Analysegerätes erfolgte die Bestimmung des Mikro-Hämatokrits (Mikro-Hkt, Packed Cell Volume, PCV). Die Blutprobe wurde in Mikro-Hämatokritröhrchen (Brand, Wertheim) aufgezogen und in der Zentrifuge „Haemofuge“ (Heraeus Sepatech, Berlin) bei 12.000 Umdrehungen/min 10 Minuten zentrifugiert. Wurde im Verlauf mehrmals täglich eine hämatologische Untersuchung durchgeführt, so wurde jeweils das erste Untersuchungsergebnis des Tages ausgewertet. Wurden Normoblasten im Differentialblutbild gefunden, wurden die Leukozytenzahlen korrigiert.

**Tabelle 15:** Klinikeigene Referenzbereiche für die hämatologische Untersuchung (ROLEFF, 2005)

Parameter	Einheit	Minimum	Maximum
<b>WBC</b>	G/l	5,6	14
<b>RBC</b>	T/l	5,9	8,3
<b>Hb</b>	mmol/l	9,1	12,4
<b>Hkt</b>	l/l	0,42	0,56
<b>MCV</b>	fl	62	72
<b>MCH</b>	pg	22	25
<b>MCHC</b>	g/dl	31	36
<b>PLT</b>	G/l	165	400

#### 1.2.1.4. Differentialblutbild, Erythrozytenmorphologie

Ein Blutausrich wurde nach Lufttrocknung mit den Färbelösungen nach May-Grünwald gefärbt und unter dem Mikroskop STANDARD 20 (Axiophot, Zeiss, Göttingen) bei 1000-facher Vergrößerung im Ölimmersionsfeld ausgewertet. Es wurden 100 weisse Blutzellen ausgezählt (Tab. 15). Die Angabe der Normoblasten erfolgte pro 100 Leukozyten.

Die Beurteilung der Erythrozytenmorphologie erfolgte ebenfalls anhand dieser Ausstriche. Beurteilt wurden der Grad der Anisozytose, Polychromasie und Sphärozytose und der Nachweis von Schistozyten semiquantitativ und in 1+, 2+, 3+ und 4+ angegeben. Die Auswertung fand bei 1000-facher Vergrößerung statt und erfolgte nach den Beurteilungskriterien von WEISS (1984).

Der Grad der Anisozytose wurde bei 7-15 morphologisch veränderten Zellen pro Gesichtsfeld mit 1+, bei 16-20 mit 2+, bei 21-29 mit 3+ und bei über 30 Zellen mit 4+ angegeben. Je nach Anzahl der polychromatischen Zellen erfolgte die Einteilung der Polychromasie folgendermassen: 2-7 polychromatische Zellen (1+), 8-14 Zellen (2+), 15-29 Zellen (3+) und über 30 polychromatische Zellen (4+). Bei 5-10 Sphärozyten lag der Sphärozytengehalt bei 1+, bei 11-50 Sphärozyten bei 2+, bei 51-150 Sphärozyten bei 3+ und bei >150 Sphärozyten

bei 4+. Zur Bestimmung des Schistozytengehaltes wurde in 5 Gesichtsfeldern im 1000x-Feld der Gehalt an Schistozyten bestimmt und aus den Einzelwerten der Mittelwert gebildet. Danach wurde der Schistozytengehalt ermittelt: 1-2 Schistozyten (1+), 3-8 Schistozyten (2+), 9-20 Schistozyten (3+) und >20 Schistozyten (4+).

Die Blutausstriche wurden ebenfalls untersucht auf das Vorhandensein von Metamyelozyten.

**Tabelle 16:** Referenzbereiche für das Differentialblutbild nach KRAFT (1999)

	<b>relativ (%)</b>	<b>absolut (/µl)</b>
<b>Stabkernige Granulozyten</b>	0-4	0-500
<b>Segmentkernige Granulozyten</b>	55-75	3.000-9.000
<b>Eosinophile</b>	0-6	40-600
<b>Monozyten</b>	0-4	40-500
<b>Lymphozyten</b>	13-30	1.000-3.600
<b>Basophile</b>	<1	0-40

#### **1.2.1.5. Objektträgeragglutination**

Die Objektträgeragglutination wurde vor und nach dem Waschen der Erythrozyten sowie makroskopisch und mikroskopisch beurteilt.

Ein Tropfen Blut wurde mit einem Tropfen isotoner Kochsalzlösung auf einem Objektträger versetzt, um eine eigentliche Agglutination von einer Rouleaux-Bildung unterscheiden zu können. Blieb eine Agglutination bestehen, wurde ihr Grad als 1+, 2+, 3+ und 4+ bezeichnet.

Wurde makroskopisch keine Agglutination erkannt, wurde diese mikroskopisch beurteilt.

Zusätzlich wurden die Erythrozyten einem 3-fachen Waschvorgang mit NaCl oder Phosphate Buffered Saline (PBS) (Dulbecco, Biochrom, Berlin) unterzogen. Die in PBS gründlich aber vorsichtig aufgemischten Erythrozyten wurden pro Waschvorgang 2-3 Minuten lang bei 1500 Umdrehungen zentrifugiert. Die Spülflüssigkeit und der „Buffy coat“ wurden von den Erythrozyten vorsichtig abgesaugt. Zwischen jedem Waschvorgang wurden die Erythrozyten mit PBS in den Röhrchen erneut gemischt und zentrifugiert. Nach dem Waschen der Erythrozyten wurde erneut auf Agglutination untersucht. Liess sich makroskopisch keine Agglutination feststellen, so wurde noch mikroskopisch untersucht. Bei positiver Reaktion lag eine sogenannte persistierende Agglutination vor.

#### **1.2.1.6. Retikulozyten**

Als Retikulozytenfärbung wurde Brillantkresyblau (1%ig) verwendet, welches sich bereits in speziellen Probengefäßen (Probengefäß 100µl Brillant, Sarstedt, Nürnberg) befand. Zunächst wurde die relative Retikulozytenzahl ermittelt. Sie gibt das relative Verhältnis der

Retikulozyten in % von 100 Erythrozyten an. Anschliessend erfolgte die Berechnung der korrigierten und absoluten Retikulozytenzahl nach folgenden Formeln:

$$\text{Korrigierte Retikulozytenzahl (\%)} = \frac{\text{Hämatokrit des Patienten (\%)}}{\text{Hämatokrit 45\%}} \times \text{Retikulozyten (\%)}$$

$$\text{Absolute Retikulozytenzahl (/}\mu\text{l)} = \frac{\text{Retikulozytenzahl (\%)} \times \text{Erythrozytenzahl (10}^6\text{/}\mu\text{l)}}{100}$$

Bezieht man sich zur Bestimmung der Regenerationsstufen auf die korrigierten Retikulozytenzahlen (KLAG et al., 1993), so erfolgt die Einteilung wie folgt:

<1% nichtregenerative Anämie, 1-3% schwache Regeneration, >3% mässige bis starke Regeneration.

Bezieht man sich auf die absolute Retikulozytenzahl, so liegt bei einer Retikulozytenzahl <60.000/ $\mu$ l eine nichtregenerative Anämie vor (KRAFT, 1999).

#### 1.2.1.7. Klinisch-chemische Blutuntersuchung

Die Bestimmung von Na, K, Glc und Hst erfolgte aus Heparinplasma im Notdienst bis Juni 2005 mit dem ELECTROLYTE-14+-ANALYZER (Nova Biomedical GmbH, Rödermark), seit Juni 2005 mit dem Stat Profile Critical CareXpress (CCX, Nova Biomedical GmbH, Rödermark). Routinemässig wurden diese Werte ebenso wie Kreatinin, AP, ALT, AST, GLDH, Bilirubin, Protein und Albumin mit dem Analysegerät Konelab 30i (Thermo Electron GmbH, Dreieich) aus Heparinplasma bestimmt.

**Tabelle 17:** Klinikeigene Referenzbereiche für die klinisch-chemischen Blutparameter

Parameter	Einheit	Minimum	Maximum
Natrium	mmol/l	140	150
Kalium	mmol/l	3,6	4,8
Glucose	mmol/l	4,5	6,2
Harnstoff	mmol/l	7,5	21,4
Kreatinin	$\mu$ mol/l	53	< 106 (Hunde < 20 kg)
			< 124 (Hunde > 20 kg)
Calcium	mmol/l	2,5	2,9
Phosphor	mmol/l	0,96	1,6
Magnesium	mmol/l	0,65	0,93
ALT	U/l		bis 76
AP	U/l		bis 97
AST	U/l		bis 41

<b>GLDH</b>	U/l	bis 8,6	
<b>Protein</b>	g/l	54	66
<b>Albumin</b>	g/l	28	36
<b>Cholesterin</b>	mmol/l	3,4	7,8
<b>Bilirubin</b>	µmol/l	bis 5,1	
<b>Amylase</b>	U/l	bis 1091	
<b>Lipase</b>	U/l	bis 276	
<b>CK</b>	U/l	bis 182	
<b>Triglyceride</b>	mmol/l	0,3	1
<b>Chlorid</b>	mmol/l	98	118
<b>LDH</b>	U/l	bis 174	

### 1.2.1.8. Harnuntersuchung

Zur Harnuntersuchung wurden die Harnteststreifen Combur<sup>9</sup>-Test (Roche Diagnostics, Mannheim) herangezogen. Die Auswertung erfolgte visuell und semiquantitativ. Durch Zentrifugieren der Harnprobe wurde das Harnsediment gewonnen. Dessen Beurteilung fand bei 40-facher Vergrößerung unter dem Lichtmikroskop statt.

Zu Beginn und unter Therapie wurde steril entnommener Zystozentese- (nicht bei Thrombozytopenie) oder Katheterharn bakteriologisch untersucht.

Zur quantitativen Bestimmung des Proteinverlustes über den Harn erfolgte die Bestimmung des Urin Protein-/Kreatiningehaltes (UPC-Ratio) mittels des Analysegerätes Konelab 30i (Thermo Electron GmbH, Dreieich).

### 1.2.1.9. Plasmatische Gerinnung

Zur Bestimmung der plasmatischen Gerinnung wurde Citratplasma eingesetzt. Die Ermittlung der PT und aPTT erfolgte mit dem Koagulometer nach SCHNITGER und GROSS (Amelung, Lemgo). Zur Bestimmung der PT (in sec) wurde das Reagenz „Hepato Quick“ (Roche Diagnostics, Mannheim) und zur Ermittlung der PTT (in sec) das Reagenz „Pathromtin SL“ (Dade Behring, Marburg) eingesetzt. Die Bestimmung von Fibrinogen erfolgte mittels des Reagenz „Multifibren U“ (Dade Behring, Marburg).

**Tabelle 18:** Klinikeigene Referenzbereiche für die plasmatische Gerinnung, PT = Prothrombinzeit, aPTT = aktivierte partielle Thromboplastinzeit (STOCKHAUS, 1998)

Parameter	Einheit	Minimum	Maximum
<b>aPTT</b>	Sekunden	14,6	20,4
<b>PT</b>	Sekunden	13,2	18,2
<b>Fibrinogen</b>	g/l	1,8	3,5

Eine **DIC** wurde diagnostiziert bei dem Vorliegen von  $\geq 3$  veränderten Parametern: Thrombozytopenie  $< 200$  G/l, PT  $> 18,2$  Sekunden, aPTT  $> 20,4$  Sekunden, Fibrinogen  $< 1,8$  g/l und dem Vorliegen von Schistozyten im Blutaussstrich.

#### **1.2.1.10. Röntgen- und Ultraschalluntersuchung**

Von Thorax und Abdomen wurden Übersichtsaufnahmen im latero-lateralen Strahlengang angefertigt (Röntgengerät: Optimus, Philips, Hamburg). Das Abdomen wurde zusätzlich mittels Ultraschall untersucht (Kontron V 3.00, München).

### **1.2.2. Weiterführende Untersuchungen**

#### **1.2.2.1. Direkter Antiglobulin-Test (Coombs-Test)**

Je nach Höhe des Hämatokrits wurden 1,0 bis 2,0 ml EDTA-Blut benötigt. Die Hälfte der Blutprobe wurde für den Kaltansatz bei 4 °C und für den Warmansatz bei 37 °C eine halbe Stunde inkubiert.

Die Erythrozyten wurden mit entsprechend temperiertem Phosphate Buffered Saline (PBS) (Dulbecco, Biochrom, Berlin) einem 3-fachen Waschvorgang unterzogen. Die in PBS gründlich, aber vorsichtig aufgemischten Erythrozyten wurden pro Waschvorgang 3 Minuten lang bei 2500 Umdrehungen zentrifugiert. Die Spülflüssigkeit und der „Buffy coat“ wurden von den Erythrozyten vorsichtig abgesaugt. Zwischen jedem Waschvorgang wurden die Erythrozyten mit PBS in den Waschröhrchen erneut aufgemischt und zentrifugiert. Der Waschvorgang selbst wurde mit 4 °C kaltem PBS für den Kaltansatz und 37 °C warmen PBS für den Warmansatz durchgeführt. Anschliessend wurde für jeden Testversuch eine Erythrozytenverdünnung 1:40 hergestellt. Dazu wurden 25 µl des gewaschenen Erythrozytenkonzentrats zu 975 µl R2F-Lösung gegeben. Die R2F-Lösung besteht aus dem Flüssigmedium RPMI 1640 mit 2,0 g/l NaHCO<sub>3</sub> und 5 mg/l Phenolrot (Biochrom, Berlin) und 10%igem Zusatz fetalen Kälberserums (Biochrom, Berlin).

Als Antiseren kamen monospezifische Antiseren zum Einsatz. Für IgG wurde rabbit-anti-dog IgG (H+L) (Dianova, Hamburg), für IgM goat-anti-dog IgM (ICN Biomedicals, Eschwege) und für C3 wurde goat-anti-dog C3 (ICN Biomedicals, Eschwege) verwendet. Die Antiseren wurden mit PBS im Verhältnis 1:10 verdünnt, in 100 µl-Aliquots eingefroren und je nach Bedarf aufgetaut. Mit PBS wurde dann eine Verdünnungsreihe von 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 und 1:640 für jedes Antiserum angelegt.

Die Ansätze für 4 °C und 37 °C wurden in 96-fach Rundboden-Mikrotiterplatten (Sarstedt, Nümbrecht) durchgeführt. Als Negativkontrolle wurden 20 µl PBS und 20 µl fetales

Kälberserum verwendet. Die Negativkontrollen wurden in Doppelansätzen durchgeführt. In jeden Ansatz einer jeden Verdünnungsstufe wurden 20 µl eines jeden Antiserums pipettiert und 20 µl der verdünnten Erythrozytenlösung zugegeben. Die Mikrotiterplatten wurden gründlich durchgerüttelt, um eine einheitliche Vermischung der Erythrozyten mit den Antiseren zu erreichen. Der Ansatz für 4 °C wurde im Kühlschrank, der Ansatz für 37 °C bei Raumtemperatur inkubiert. Nach einer Stunde konnte der Test abgelesen werden. Ein negatives Testergebnis lag vor, wenn sich in der Vertiefung der Mikrotiterplatten ein scharf begrenzter „Erythrozytenknopf“ gebildet hatte. Positiv fiel das Testergebnis aus, wenn eine Agglutination der Erythrozyten stattgefunden hatte. Die agglutinierten Erythrozyten lagen in Mattenbildung in den Vertiefungen der Mikrotiterplatten und zeigten bei starker Agglutination zusammengefaltete Randbereiche.

#### **1.2.2.2. Thrombozyten (Tc)-gebundene Antikörper**

Diese Untersuchung wurde von der Arbeitsgruppe Immunologie an der Tierärztlichen Hochschule in Hannover mittels Durchflusszytometrie mit Doppelfluoreszenz (Gerät: FACScan, Becton-Dickinson) durchgeführt. Die separierten, gewaschenen Tc wurden mittels eines monoklonalen Antikörper gegen Tc-Antigene (mAK 17-15, Code: 3W-098) und eines Phycoerythrin-konjugierten polyklonalen Ak (rotfluoreszierender Ak) gegen Maus-Immunglobuline markiert, wodurch Partikel in Tc-Grösse, die aber keine Tc darstellen (z.B. Erythrozyten-Fragmente), von Tc unterschieden und von der Analyse ausgeschlossen werden können. Mit Hilfe eines Fluorescein-konjugierten polyklonalen Ak (goat-anti-dog IgG [H+L], grünfluoreszierender Ak) gegen canines Immunglobulin wurden jene Thrombozyten ermittelt, die mit Antikörpern beladen waren. Mit jeder Patientenprobe wurde gleichzeitig Blut eines gesunden Kontrolltieres mit untersucht.

#### **1.2.2.3. Serumantikörper- und PCR-Untersuchungen gegen Babesiose, Ehrlichiose, Anaplasmose, Leishmaniose, Leptospirose und Hämoplasmen**

Die Untersuchung auf Babesiose (*B. canis*), Ehrlichiose (*E. canis*), Anaplasmose (*Anaplasma phagozytophilum*), Leishmaniose und Hämoplasmen (Mycoplasmen) erfolgte am Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie (Ludwig-Maximilians-Universität München). Die Untersuchung auf Babesiose erfolgte bei fast allen Hunden, bei denen eine IHA festgestellt wurde, eine Untersuchung auf Anaplasmose wurde ab dem 2. Drittel der Studie durchgeführt, bei einem Teil wurde auch auf Hämoplasmen getestet. Die Untersuchung auf Ehrlichiose und Leishmaniose erfolgte nur bei Hunden mit einer entsprechenden

Auslandsanamnese. Die Untersuchung auf Antikörper erfolgte im Serum mittels Immunfluoreszens, die Bestimmung vorhandener Erreger-DNA mittels Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) aus Vollblut. Die routinemässige Untersuchung auf Anaplasrose erfolgte jedoch erst in der zweiten Hälfte des Untersuchungszeitraums ab Juni 2005.

Die Untersuchung auf Leptospirose-Antikörper wurde durch das Labor LABOKLIN (Bad Kissingen) im Serum mittels MAT durchgeführt.

#### **1.2.2.4. Knochenmarkpunktion**

Die Entnahme des Knochenmarks erfolgte aus dem Tuberculum majus humeri. Die Untersuchung fand unter Allgemeinnarkose (Injektionsnarkose) statt. Die Punktionsstelle über dem Tuberculum majus wurde rasiert und desinfiziert und nach einer kleinen Hautinzision die Punktionskanüle unter Drehbewegungen in den Knochen getrieben. Nach Entfernung des Mandrins wurde eine Einwegspritze mit 0,2 ml 3,13%igem Natriumcitrat aufgesetzt und mehrmals ruckartig aspiriert. Das gewonnene Knochenmark wurde auf Objektträgern ausgestrichen, nach May-Grünwald gefärbt und beurteilt.

#### **1.2.5. Bestimmung der Akute-Phase-Proteine (APPs)**

##### **1.2.5.1. C-reaktives Protein (CRP)**

An Tag 0, 3, 8 und 14 wurde Serum zur Bestimmung von APPs entnommen und bis zur Analyse bei -80 °C gelagert. Tag 0 wurde definiert als Tag der Erstvorstellung in der Klinik bzw. als erster Tag der Therapie mit Prednisolon. Waren die Tiere beim Haustierarzt mit Glukokortikoiden vorbehandelt, so wurde dies vermerkt; Tag 0 war auch hier der Tag der Erstvorstellung in der Klinik. Die Bestimmung von CRP erfolgte mittels des CRP-Canine-ELISA (Tridelta Development, Greystones, Irland) nach Anweisung des Herstellers im Institut für Ernährungswissenschaften der Universität Potsdam. Bei dem verwendeten Testkit handelte es sich um ein Festphasen-Sandwich-Immunoassay, welches nach folgendem Testprinzip funktioniert: Das in den Proben wie auch in den Standards enthaltene CRP bindet an die beschichteten Mikrotiterplatten. Nach einem Waschschrift, wodurch das ungebundene Material entfernt wird, wird das HRP-markierte anti-canine-CRP-Antikörperkonjugat dazugegeben. Der immobilisierte Antikörper bindet spezifisch an jedes CRP in der Platte. Nach einem weiteren Waschschrift, wodurch sämtliches ungebundene Material entfernt wird, wird TMB-Substrat (Tetramethylbenzidin) dazugegeben. Die entstehende Farbentwicklung ist proportional zur CRP-Konzentration in der Probe und wird mittels Photometrie (Photometer:

Microplate Reader, Model 550, ab August 2006 Model 680XR, Bio Rad, München) bei einer Extinktion von 415 nm abgelesen.

#### 1.2.5.2. **Haptoglobin (Hp)**

Die Bestimmung von Haptoglobin erfolgte im Institut für Physiologie, Biochemie und Hygiene der Tiere in Bonn mit einem dort entwickelten kompetitiven Enzymimmuntest nach folgendem Prinzip (HISS, 2001): 50 µl eines mit Biotin-markierten Haptoglobins wurden in die mit einem Beschichtungsantikörper (Schaf gegen Kaninchen Fc-Fragment) beschichteten Mikrotiterplatten gegeben. Die Verdünnung betrug 1:800. Anschliessend wurden die Serumproben 10.000-fach verdünnt und in Doppelbestimmung pipettiert (50 µl/well). Auf jede Platte wurden Proben mit bekannter Haptoglobinkonzentration, ebenfalls 10.000-fach verdünnt, als Kontrollen eingesetzt. Die Zugabe von 50 µl Antiserum pro Kavität erfolgte im Anschluss daran (Verdünnung 1:20.000). Nach einstündiger Inkubation wurden die Platten dreimal mit Waschpuffer gewaschen und es erfolgte die Zugabe von Enzym (Streptavidin-Peroxidase) und Substrat. Nach 30 Minuten wurden die Platten abgestoppt und die Extinktion im Photometer gemessen.

#### 1.2.5.3. **Fibrinogen**

Zur Bestimmung von Fibrinogen wurde verdünntes Citratplasma eingesetzt. Die Ermittlung des Fibrinogenwertes erfolgte mit dem Koagulometer nach SCHNITGER und GROSS (Amelung, Lemgo) mittels des Reagenz „Multifibren U“ (Dade Behring, Marburg). Das Prinzip der modifizierten Methode nach Clauss besteht darin, Citratplasma mit einem grossen Überschuss an Thrombin zur Gerinnung zu bringen. Die Gerinnungszeit hängt hierbei weitgehend vom Fibrinogengehalt der Probe ab. Das Reagenz Multifibren U ist an einer Vielzahl von Gerinnungsmessgeräten verwendbar, die Analyseergebnisse wurden bei der Bestimmung des caninen Fibrinogens anhand einer selbst erstellten Bezugskurve ausgewertet. Für jede Charge Multifibren U wird eine neue Bezugskurve mit Hilfe des Fibrinogen Kalibrator Kits ermittelt. Erwartete Werte liegen zwischen 1,8-3,5 g/l, der Messbereich liegt zwischen 0,8 bis >12 g/l, bei empfindlichen Messgeräten auch tiefer.

#### 1.2.6. **Erythropoetin (EPO)**

Die Bestimmung von Erythropoetin erfolgte am Institut für Immunologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover mittels eines dort etablierten ELISA-Testkits (BORNMANN-HOLLSTEIN, 1993).

Bei dem Prinzip des Sandwich-ELISA (Medac, Hamburg) reagieren Fänger-Antikörper mit dem Antigen Erythropoetin, welches wiederum durch einen mit einem Enzym kombinierten Nachweis-Antikörper (monoklonaler Maus-anti-humanes rekombinantes EPO) reagiert. Das Enzym (Alkalische Phosphatase) spaltet dann das im Anschluss zugegebene Substrat (Nitrophenylphosphat) und führt zu einem Farbumschlag (Nitrophenol), der bei einer Wellenlänge von 405 nm photometrisch gemessen wird. Die Farbintensität gibt Auskunft über die EPO-Konzentration.

### **1.2.5. Therapie und Verlauf**

Bei schwerer Anämie wurden die Hunde durch Transfusion(en) mit Erythrozytenkonzentrat oder Vollblut stabilisiert. Lag eine DIC vor, so wurden Plasmatransfusionen gegeben. Die Menge der verabreichten Transfusionen wurden jeweils in ml/kg Erythrozytenprodukte (Erythrozytenkonzentrat und Vollblut) und Plasmaproducte (Plasma und Vollblut) angegeben. Wurde eine Vollbluttransfusion gegeben, so wurde jeweils die Hälfte der verabreichten Menge den Erythrozyten- und Plasmaproducten zugerechnet. Zusätzlich wurden den Hunden Vollelektrolytlösungen (Sterofundin®, Firma Braun) infundiert und Antibiotika (Doxycyclin 5 mg/kg 2x/d p.o.; Amoxicillin/Clavulansäure 12,5 mg/kg 2x/d p.o./i.v.; Enrofloxacin 5 mg/kg 1x/d p.o./s.c.) und H<sub>2</sub>-Blocker (Ranitidin 1 mg/kg 2x/d p.o. bzw. i.v.) verabreicht. Alle Patienten wurden mit ca. 1 mg/kg Prednisolon 2x/d behandelt. Zytostatika wurden bei schweren Krankheitsverläufen und bei Rezidiven eingesetzt (Ciclosporin 5 mg/kg KGW 1x/d p.o.). Bei einem Teil der Patienten wurden diese Medikamente sofort, bei einem weiteren Teil nach nicht zufriedenstellendem Anstieg des Hämatokrits verabreicht. Die Kontrolle des Hämatokrits erfolgte zu Beginn mehrmals täglich. Bei entsprechendem Anstieg verlängerten sich die Untersuchungsintervalle auf einmal täglich, dann zweimal pro Woche, wöchentlich, 14-tägig und alle vier Wochen. Mit dem Anstieg des Hämatokrits wurde schrittweise die Medikamentendosierung reduziert. Parallel mit der Überprüfung der hämatologischen Blutuntersuchung fand in regelmässigen Abständen eine Kontrolle der Retikulozytenzahl, eine klinisch-chemische Blutuntersuchung sowie zu Beginn eine Überprüfung der Gerinnungsparameter statt. Ebenso wurde regelmässig eine Harnuntersuchung und die Bestimmung der UPC-Ratio eingeleitet. Regelmässig wurde eine mikrobiologische Untersuchung sterilen Katheter- bzw. Zystozenteseharns eingeleitet.

### 1.2.8. Histopathologische Untersuchung

Wurde der Patient wegen aussichtsloser Prognose oder auf Wunsch der Besitzer euthanasiert oder verstarb das Tier, wurde nach Möglichkeit eine histopathologische Untersuchung durchgeführt.

### 1.2.7. Statistische Auswertung

Verglichen zwischen den beiden Gruppen wurden folgende Laborparameter bei Erstvorstellung: PCV (l/l), Leukozytenzahl (G/l), stabkernige neutrophile Granulozyten ( $\times 10^6/l$ ), Zahl der Normoblasten (/100 Leukozyten), Thrombozytenzahl (G/l), Retikulozytenzahl (/μl), Natrium (mmol/l), Kalium (mmol/l), Glukose (mmol/l), Harnstoff (mmol/l), Kreatinin (mmol/l), ALT (U/l), AP (U/l), AST (U/l), GLDH (U/l), Bilirubin (μmol/l), Cholesterin (mmol/l), Protein (g/l), Albumin (g/l), UPC-Ratio, aPTT (sec), PT (sec), Fibrinogen (g/l), CRP (μg/ml), Hp (mg/ml) und Erythropoetin (U/l).

Weiterhin wurden verglichen: Art der Hämolyse, Erythrozytenmorphologie (Anisozytose, Polychromasie, Sphärozyten, Schistozysten), Grad der Objektträgeragglutination, Ergebnisse der Harnuntersuchung, Länge des stationären Aufenthaltes, Menge und Art der Bluttransfusionen, Dauer der Infusionstherapie, Art der Antibiose und Art der immunsuppressiven Therapie.

Bei ausgewählten Parametern wurde die Differenz zwischen Tag 0 und 3 ermittelt und zwischen den beiden Gruppen verglichen: Hkt (l/l), Leukozytenzahl (G/l), stabkernige neutrophile Granulozyten (/μl), Thrombozytenzahl (G/l), Bilirubin (μmol/l), PTT (sec) und PT (sec).

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS 12.0 für Windows, SPSS, Inc.. Für die Beschreibung der Verteilung der untersuchten Laborparameter wurden Minimum, Maximum, Mittelwert und Median verwendet. Das arithmetische Mittel wurde mit MW (Mittelwert), der Median mit M abgekürzt. Die grafische Darstellung erfolgte mittels Boxplots sowie Streudiagrammen. Statistische Signifikanzen der untersuchten Parameter zwischen den Gruppen 1 und 2 wurden mittels Mann-Whitney-U-Test exakt ermittelt, wobei  $p < 0,05$  als statistisch signifikant galt. Die Prüfung einer Korrelation von Parametern erfolgte durch den Spearman-Korrelationskoeffizienten, wobei ebenfalls  $p < 0,05$  als statistisch signifikant galt.

## IV. Ergebnisse

Das Patientengut setzte sich aus 31 Hunden mit primärer IHA zusammen, die im Zeitraum zwischen Oktober 2003 und April 2006 an der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der FU Berlin vorgestellt wurden. Die Diagnose der pIHA beruhte auf dem Vorliegen einer Anämie, dem Ausschluss möglicher zugrunde liegender Erkrankungen, einem positiven Coombs-Test (n = 30) bzw. dem Vorliegen persistierender Objektträgeragglutination (n = 1), dem Nachweis von zahlreichen Sphärozyten im Blutausstrich (n = 20), makroskopischer Objektträgeragglutination (n = 29), die jedoch nur bei einem Patienten mikroskopisch nach dem Waschen persistierte und dem Ansprechen auf die immunsuppressive Therapie (n = 21). 21 Hunde überlebten die ersten 14 Tage (Gruppe 1), 8 Hunde verstarben vor Tag 14 bzw. wurden aufgrund eines sehr schlechten Allgemeinzustandes euthanasiert (Gruppe 2). Zwei Hunde wurden vor Tag 14 auf Besitzerwunsch euthanasiert und konnten somit keiner der beiden Gruppen zugeordnet werden.

### 1. Signalement

#### 1.1. Rasse

**Tabelle 19:** Rassenspektrum von Hunden mit primärer immunhämolytischer Anämie (pIHA) der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 8)

Gruppe	Rasse	Anzahl
1	Rauhhaardackel	3
	Cocker Spaniel	2
	Terrier-Mix	2
	Staffordshire Terrier	1
	Irish Setter	1
	DSH	1
	DSH-Mix	1
	Perro de Presa Mallorquin	1
	Schnauzer-Mischling	1
	Riesenschnauzer	1
	Schnauzer-Mix	1
	Spitz-Mischling	1
	Mops	1
	Staffordshire Terrier	1
	Shih Tzu	1
	Coton de Tulear	1
	West Highland White Terrier	1
	Malteser	1
	Malteser-Mix	1

Gruppe	Rasse	Anzahl
2	Dobermann	1
	Berner Sennenhund	1
	Bullterrier	1
	Shetland Sheep Dog	1
	DSH	1
	Irischer Terrier	1
	Deutsche Dogge	1
	Briard	1

Das Patientengut setzte sich aus 24 Hunden 18 verschiedener Rassen und 7 Mischlingshunden zusammen. Mehrfach vertreten waren Rauhaardackel (n = 3), Cocker Spaniel (n = 2), Shih Tzu (n = 2) und Deutscher Schäferhund (n = 2) (Tab. 19).

## 1.2. Alter

Zu Erkrankungsbeginn lag das Alter zwischen 0,5 und 13 Jahren (MW 7, M 7) (Abb.1 und 2).

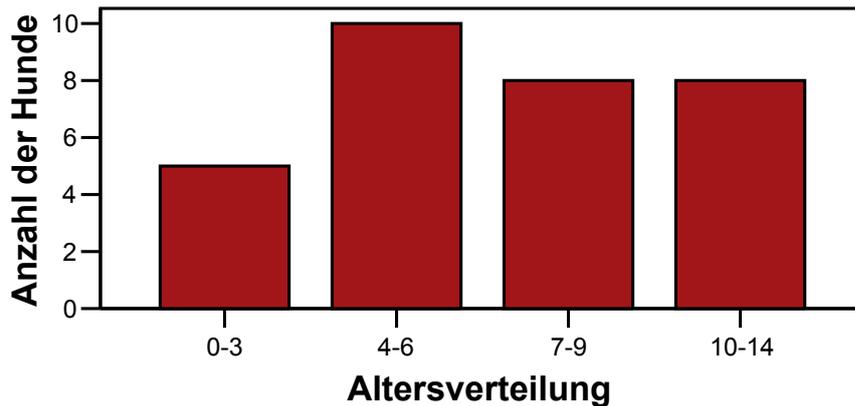


Abbildung 1: Altersverteilung von 31 Hunden mit primärer immunhämolytischer Anämie (pIHA)

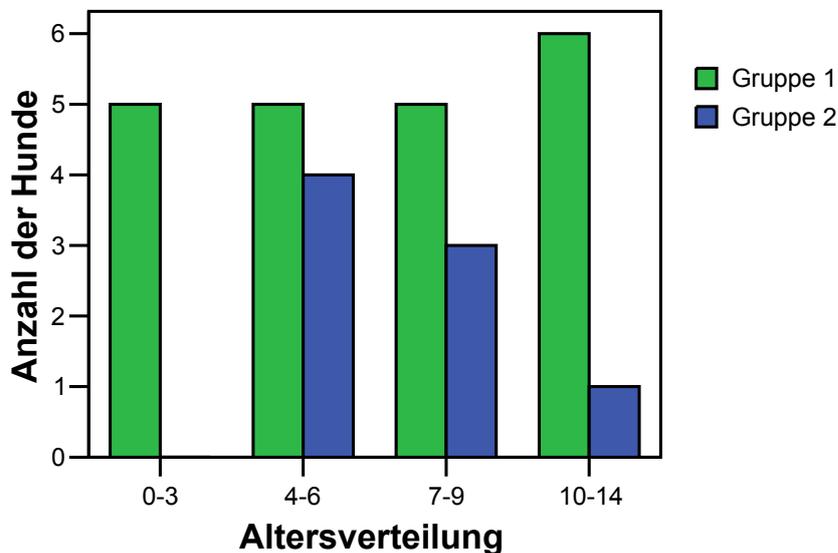
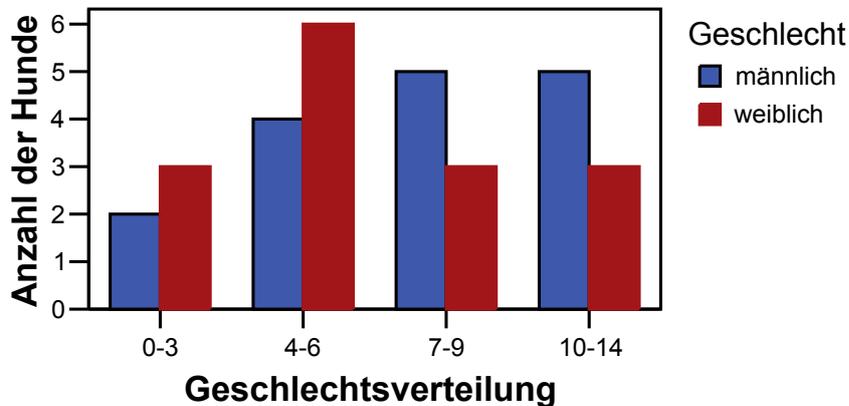


Abbildung 2: Altersverteilung der Hunde mit pIHA (n = 29) bei Hunden der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21) und Hunden der Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 8)

Somit lag das Alter in Gruppe 1 zwischen 0,5 und 13 Jahren (MW 6,8, M 7), in Gruppe 2 zwischen 5 und 10 Jahren (MW 7,2, M 6,6). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen lag nicht vor ( $p = 0,933$ ).

### 1.3. Geschlecht

Das Geschlechterverhältnis war nahezu ausgeglichen (10 weibliche, 5 weiblich-kastrierte, 14 männliche, 2 männlich-kastrierte) (Abb. 3).



**Abbildung 3:** Geschlechtsverteilung innerhalb der Altersgruppen von 31 Hunden mit pIHA

In der Altersgruppe der Hunde bis 6 Jahre überwog eindeutig der Anteil der weiblichen Patienten. In der Gruppe der Hunde ab 7 Jahre waren hingegen die männlichen Hunde stärker vertreten. In Gruppe 1 waren 8 männliche, 1 männlich kastriertes, 7 weibliche und 5 weiblich kastrierte Hunde, Gruppe 2 bestand aus 5 männlichen und 3 weiblichen Hunden.

## 2. Befunde bei Erstvorstellung

### 2.1. Anamnese

Die Erkrankungsdauer bis zum Tag der Vorstellung lag zwischen 1 und 60 Tagen (MW 5,5 Tage, M 3 Tage). 18 Hunde waren bereits beim Haustierarzt mit Antibiotika (Amoxicillin, Enrofloxacin, Marbofloxacin, Penicillin/Streptomycin) (n = 15), Vitamin K (3), fiebersenkenden Mitteln (2), Schmerzmitteln (2), Bromhexinhydrochlorid (1), Eisen-Dextran (1), einem Leberschutzpräparat (1), Vitamin B (2) und Infusion (2) vorbehandelt worden. 11 Hunde waren vorberichtlich mit Kortison vorbehandelt worden, davon 8 (38%) aus Gruppe 1 und 3 (37,5%) aus Gruppe 2. Drei Hunde aus Gruppe 1 waren bereits über mehrere Tage, alle anderen Hunde nur einmalig mit Glukokortikoiden vorbehandelt. Jeweils ein Hund wurde dauerhaft mit Ramipril bzw. Phenobarbital behandelt. Vorberichtlich waren den Besitzern Apathie (19), Anorexie (11), Inappetenz (9), Vomitus (8), verfärbter Urin (5), Schwäche (3), Polydipsie (3), Adipsie (5), Polyurie (2) sowie breiiger Kot (2) aufgefallen. Bei 5 Hunden wurde vorberichtlich beim Haustierarzt Fieber festgestellt. Ein Hund zeigte seit 10 Tagen eine Läufigkeit mit starker Blutung. Bei einem weiteren Tier waren Blutungen aus den

Zahnfächern nach einer Zahnextraktion sowie eine Blutung nach einer subkutanen Injektion aufgefallen. Drei Hunde waren vorherichtlich im südlichen Ausland gewesen.

## 2.2. Klinische Allgemeinuntersuchung

Die Schleimhäute waren bei 11 Tieren blass, bei 3 blassrosa und 17 Hunde hatten blass-ikterische Schleimhäute. Der Puls betrug zwischen 90 und 180 Schlägen pro Minute (MW 125, M 124). 9 Hunde hatten ein Herzgeräusch, 15 wiesen eine Tachypnoe auf. Die Rektaltemperatur lag zwischen 35,2 und 42,2 °C (MW 38,7 °C, M 38,6 °C), 4 Hunde hatten eine Hypothermie <38,0 °C und 10 Hunde hatten Fieber über 39,0 °C.

## 2.3. Hämatologische Untersuchung

### 2.3.1. Hämatokrit (Hkt), Hämoglobinkonzentration und Erythrozytenzahl

Bei fast allen Hunden (n = 29) lag eine gering- bis hochgradige Objektträgeragglutination vor. Bei all diesen Tieren wurde der Mikro-Hkt ermittelt, da das hämatologische Analysegerät bei Agglutination falsche Werte ermitteln kann.

Der Mikro-Hkt schwankte zwischen 0,05 und 0,32 l/l (MW 0,17, M 0,16). Die Hämoglobinkonzentration lag zwischen 2 und 7 mmol/l (MW 3,6, M 3,4). Die Erythrozytenzahlen lagen zwischen 0,3 und 4,9 x 10<sup>6</sup>/μl (MW 1,9, M 1,9). Eine schwere Anämie mit einem Hkt <0,20 l/l lag bei 23 Tieren vor (MW 0,13, M 0,15), wobei 5 einen Hkt <0,10 l/l und 18 einen Hkt zwischen 0,10-0,20 l/l aufwiesen, eine mittelgradige Anämie mit Hkt zwischen 0,20-0,30 l/l wiesen 7 Tiere auf (MW 0,24, M 0,22) und eine leichte Anämie >0,30 l/l (Hkt 0,32) wurde bei 1 Hund festgestellt (Abb. 4).

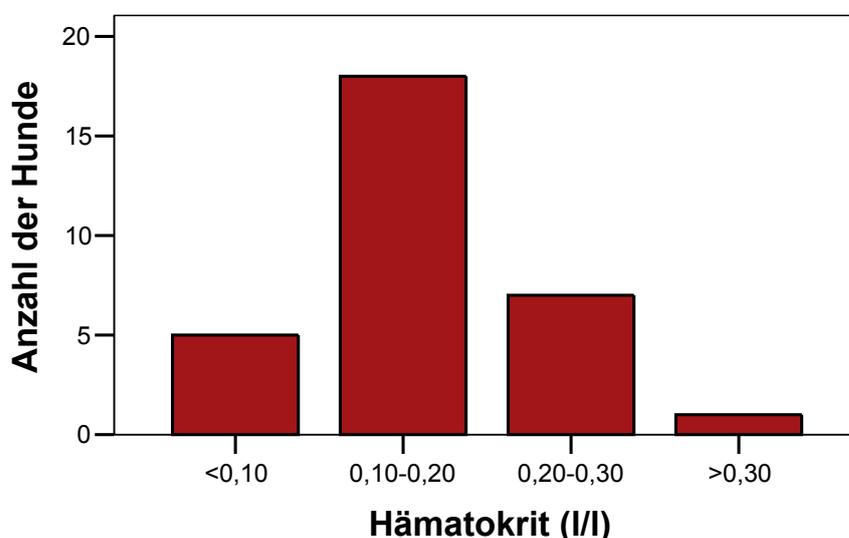
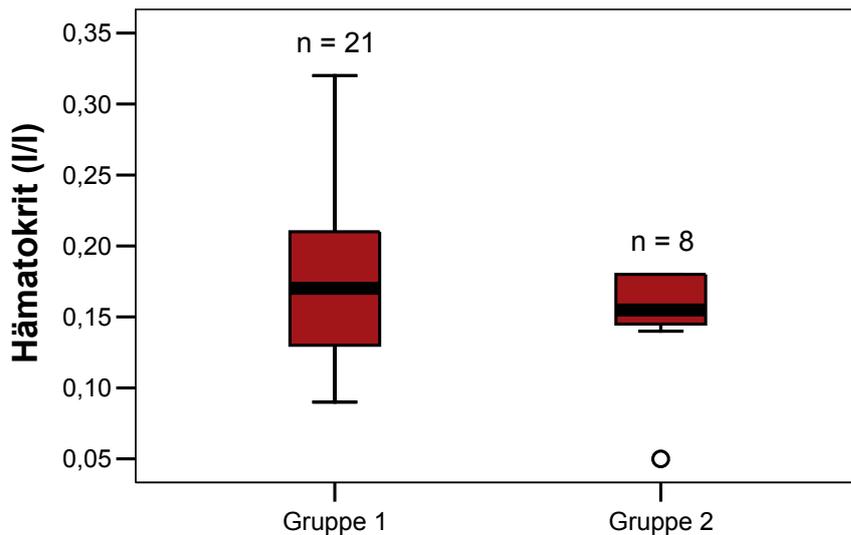
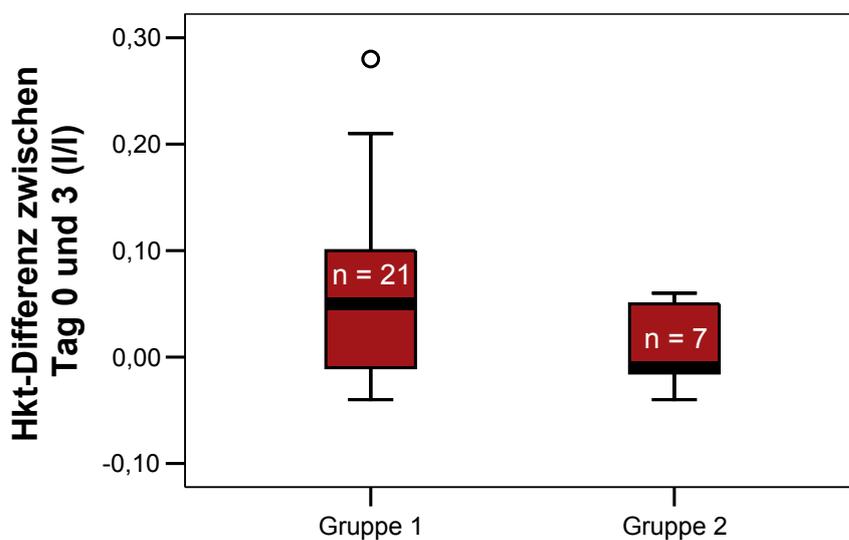


Abbildung 4: Schweregrad der Anämie bei 31 Hunden mit pIHA bei Erstvorstellung



**Abbildung 5:** Schweregrad der Anämie bei 29 Hunden mit pIHA bei Erstvorstellung in Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 8) (p = 0,448)

In Gruppe 1 lag der Hkt bei Erstvorstellung zwischen 0,09 und 0,32 l/l (MW 0,18, M 0,17), in Gruppe 2 zwischen 0,05 und 0,18 l/l (MW 0,15, M 0,16). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen lag nicht vor (p = 0,448) (Abb. 5).



**Abbildung 6:** Differenzen des Hämatokritwertes (l/l) zwischen Tag 0 und 3 bei 28 Hunden mit pIHA in Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 7) (p = 0,173)

Zwischen Tag 0 und 3 kam es zu einem Hkt-Abfall bzw. Anstieg von -0,04 bis +0,28 l/l (M +0,05, MW +0,07) in Gruppe 1 und - 0,04 bis + 0,06 l/l (M -0,01, MW + 0,01) in Gruppe 2 (Abb. 6). Der mediane Hkt-Anstieg bei Hunden der Gruppe 1 war höher als bei Hunden der Gruppe 2. Eine statistische Signifikanz lag jedoch nicht vor (p = 0,173).

Betrachtet man den Hb-Wert, so kam es in Gruppe 1 zwischen Tag 0 und 3 zu einem medianen Hb-Anstieg von +0,8 mmol/l (-0,7 bis +5,5), in Gruppe 2 jedoch zu einem medianen Hb-Abfall von -0,3 mmol/l (-2,5 bis +0,9). Dieser Unterschied zwischen den beiden Gruppen war statistisch signifikant ( $p = 0,012$ ). Initial gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen Gruppe 1 und 2.

Die Zahl der Erythrozyten lag initial zwischen 0,3 und 4,9 T/l (M 1,9, MW 1,9), in Gruppe 1 zwischen 0,3 und 4,9 T/l (M 1,9, MW 2,2) und in Gruppe 2 zwischen 0,4 und 2,3 (M 1,6, MW 1,5) ( $p = 0,349$ ). Zwischen Tag 0 und 3 kam es in Gruppe 1 zu einem medianen Anstieg der Erythrozytenzahlen von +0,4 T/l (-1,3 bis +3,9; MW +0,64), in Gruppe 2 hingegen zu einem Abfall von -0,1 T/l (-0,7 bis +0,5; MW - 0,13) ( $p = 0,08$ ). Wegen der z.T. sehr starken Agglutination der Erythrozyten und der hieraus resultierenden Interferenzen mit der Blutbild-Analyse sind diese Werte vorsichtig zu interpretieren.

### 2.3.2 Hämolyse

23 Hunde hatten eine extravaskuläre, 8 eine intravaskuläre Hämolyse. Von den 8 Hunden mit intravaskulärer Hämolyse starben 5, 3 überlebten die ersten 14 Tage. Von den 23 Hunden mit extravaskulärer Hämolyse starben 4, einer wurde auf Besitzerwunsch euthanasiert und 18 überlebten die ersten 14 Tage.

### 2.3.3. Erythrozytenmorphologie

Bei 25 Tieren konnte die Erythrozytenmorphologie anhand von Blutausstrichen beurteilt werden, bei 6 war es aufgrund der starken Objektträgeragglutination nicht möglich, adäquate Blutausstriche anzufertigen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 20 und 21 zusammengefasst.

**Tabelle 20:** Erythrozytenmorphologie bei 25 Hunden mit pIHA

	<b>negativ</b>	<b>1+</b>	<b>2+</b>	<b>3+</b>	<b>4+</b>
<b>Anisozytose</b>	0	9	5	4	7
<b>Polychromasie</b>	3	8	4	5	5
<b>Sphärozyten</b>	6	7	7	5	
<b>Schistozyten</b>	22	3	0	0	

**Tabelle 21:** Erythrozytenmorphologie der Hunde mit pIHA aus Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 18) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 14 Tagen (n = 6) im Vergleich (Gr. = Gruppe) (absolute Zahlen und Angabe in %)

	Gr. 1	Gr.2	Gr.1	Gr.2	Gr.1	Gr.2	Gr.1	Gr.2	Gr.1	Gr.2
	negativ		1+		2+		3+		4+	
<b>Anisozytose</b>	(0) 0%	(0) 0%	(8) 44%	(1) 17%	(2) 11%	(3) 50%	(4) 22%	(0) 0%	(4) 22%	(2) 33%
<b>Polychromasie</b>	(2) 11%	(1) 17%	(7) 39%	(1) 17%	(2) 11%	(2) 33%	(5) 28%	(0) 0%	(2) 11%	(2) 33%
<b>Sphärozyten</b>	(4) 22%	(2) 33%	(5) 28%	(2) 33%	(6) 33%	(1) 17%	(3) 17%	(1) 17%		
<b>Schistozyten</b>	(16) 89%	(5) 83%	(2) 11%	(1) 17%	(0) 0%	(0) 0%	(0) 0%	(0) 0%		

Alle Hunde hatten eine Anisozytose. Hunde der Gruppe 1 wiesen häufiger eine Polychromasie auf und hatten häufiger eine Sphärozytose als Hunde der Gruppe 2. 17% der Hunde aus Gruppe 2 hatten Schistozyten, jedoch nur 11% der Hunde aus Gruppe 1.

#### 2.3.4. Objektträgeragglutination

Eine unterschiedlich starke makroskopische Objektträgeragglutination wurde bei 29 Hunden festgestellt. Nach dem Waschen der Erythrozyten persistierte die Agglutination nur bei einem Patienten (Tab. 22).

**Tabelle 22:** Stärke der Objektträgeragglutination bei 31 Hunden mit pIHA

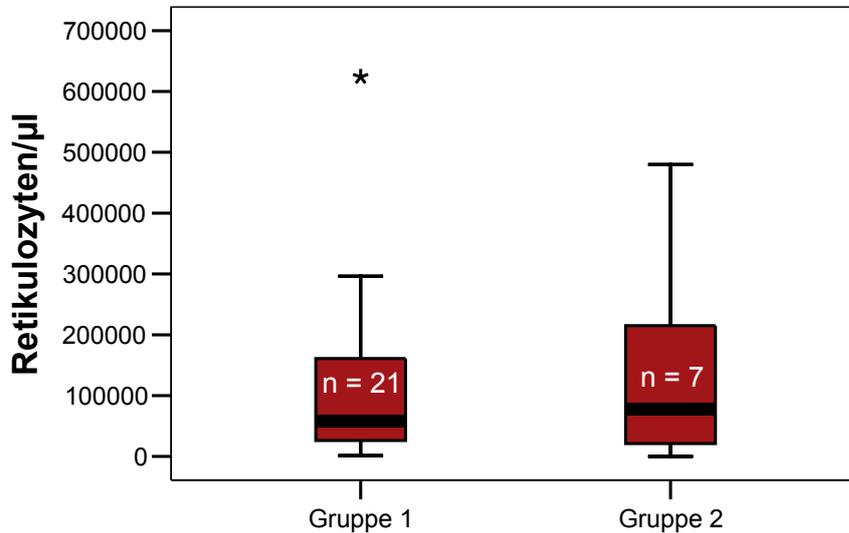
Agglutination (makroskopisch)	Grad
<b>Negativ</b>	2
<b>(1+)</b>	4
<b>1+</b>	7
<b>2+</b>	8
<b>3+</b>	10

**Tabelle 23:** Stärke der Objektträgeragglutination bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21) und Hunden der Gruppe 2 = Tod innerhalb von 14 Tagen (n = 8) (absolute Zahlen und Angabe in %)

	negativ	(1+)	1+	2+	3+
<b>Gruppe 1</b>	2 (10%)	3 (14%)	4 (19%)	5 (24%)	7 (33%)
<b>Gruppe 2</b>	0	1 (12,5%)	2 (25%)	2 (25%)	3 (37,5%)

### 2.3.5. Retikulozyten

Die Zahl der Retikulozyten lag in Gruppe 1 zwischen 1.340-2.072.000/ $\mu$ l (MW 206.484, M 57.750) und in Gruppe 2 zwischen 0-480.000/ $\mu$ l (MW 125.451, M 77.800). Somit war die Zahl der Retikulozyten in Gruppe 2 höher als in Gruppe 1, eine statistische Signifikanz lag jedoch nicht vor ( $p = 0,715$ ) (Abb.7).



**Abbildung 7:** Retikulozytenzahlen bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 7) ( $p = 1,0$ )

Insgesamt war die Anämie bei 14 Hunden (46,6%) bei Erstvorstellung nichtregenerativ, bei 5 (16,6%) schwach regenerativ und bei 11 (36,6%) stark regenerativ. In der 1. Gruppe wiesen 10 Patienten (48%) eine nichtregenerative, 4 (19%) eine schwach regenerative und 7 (33%) eine mässig bis stark regenerative Anämie auf. 3 Hunde (37,5%) der Gruppe 2 hatten eine nicht regenerative und 4 (50%) eine mässig bis stark regenerative Anämie.

Die Zahl der Retikulozyten stieg in beiden Gruppen bis Tag 8 an, eine statistische Signifikanz lag nicht vor (Tab.24).

**Tabelle 24:** Veränderungen der Retikulozytenzahlen/ $\mu$ l von 30 Hunden mit pIHA im Verlauf der Erkrankung (Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage [n = 21]; Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen [n = 7])

	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
Gesamt	0 - 2.072.000	0 - 832.000	7.940 - 749.280	39.615 - 1.037.850
Median	66.555	89.440	202.000	131.690
n	30	22	16	12
Gruppe 1	1.340 - 2.072.000	11.200 - 832.000	7.940 - 749.280	39.615 - 1.037.850
Median	57.750	89.440	204.000	162.240
n	21	18	14	11
Gruppe 2	0 - 480.000	0 - 292.800		
Median	77.800	113.800	216.000	96.800
n	7	4	1	1

### 2.3.6. Normoblasten

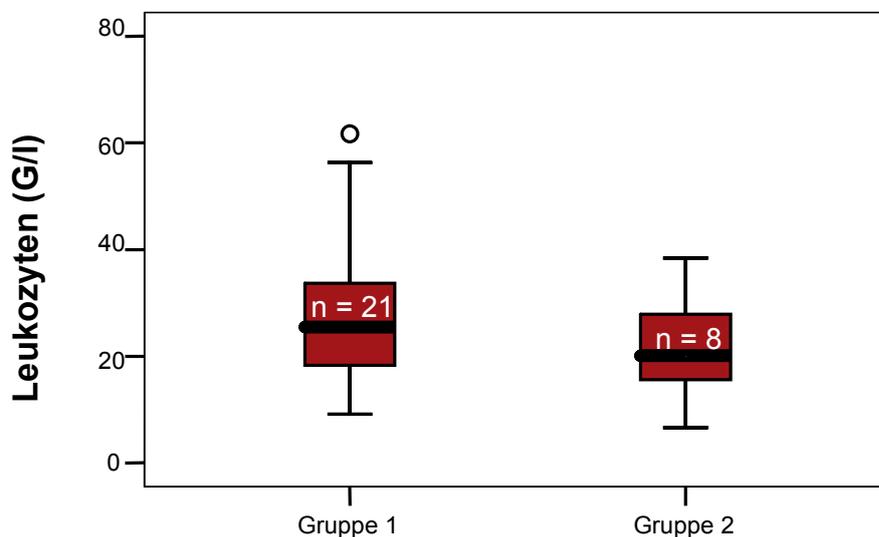
Die Anzahl der Normoblasten/100 Leukozyten in Gruppe 1 betrug bei je 2 Hunden 6, 20 und 50 und bei jeweils einem Hund 4, 7, 10, 12 und 23. 10 Hunde aus Gruppe 1 hatten keine Normoblasten im Blutaussstrich. In Gruppe 2 konnten bei 4 Hunden keine Normoblasten gefunden werden, je 1 Hund hatte 8, 14, 29 und 60 Normoblasten/100 Leukozyten.

### 2.3.7. Leukozyten

Die Leukozytenzahlen lagen bei Erstvorstellung zwischen 6,6–61,7 G/l (MW 27,2, M 24,4).

Kein Hund wies eine Leukopenie auf, 25 Hunde hatten eine Leukozytose.

Hunde der Gruppe 1 zeigten im Median höhere Leukozytenzahlen als Hunde der Gruppe 2, eine statistische Signifikanz lag jedoch nicht vor ( $p = 0,237$ ) (Abb. 8).



**Abbildung 8:** Leukozytenzahl (G/l) bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 8) ( $p = 0,237$ )

Die Gesamtleukozytenzahlen und Differentialblutbilder der einzelnen Hunde sind in Tabelle 47-49 zusammengefasst. Da nicht bei jedem Hund bei Erstvorstellung ein Differentialblutbild angefertigt wurde, unterscheiden sich die Gesamtleukozytenzahlen in einigen Fällen von den Leukozytenzahlen im Differentialblutbild.

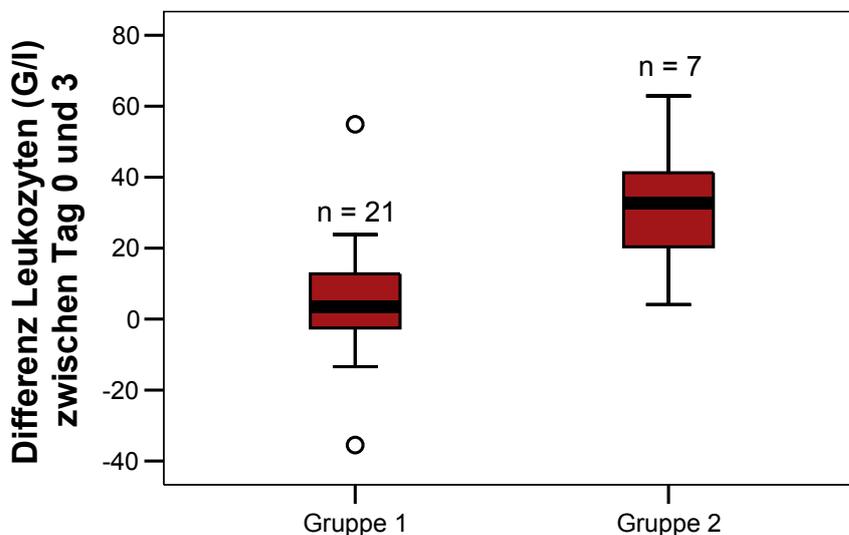
Eine Neutrophilie mit Linksverschiebung wurde bei 26 Hunden (84%) festgestellt, wobei 7 Hunde (88%) der Gruppe 2 eine Linksverschiebung aufwiesen und 17 Hunde aus Gruppe 1 (81%). Eine Monozytose hatten ebenfalls 26 Hunde (84%), 6 (80%) davon aus Gruppe 2 und 19 (90%) aus Gruppe 1. Eine Lymphopenie lag bei 11 Hunden (35%) vor, dabei 5 (24%) aus Gruppe 1 und 4 (50%) aus Gruppe 2, eine Lymphozytose konnte bei 4 Hunden der Gruppe 1 festgestellt werden.

Die Leukozytenzahl (G/l) im Verlauf ist in Tabelle 25 dargestellt.

**Tabelle 25:** Veränderungen der Leukozytenzahl (G/l) von 31 Hunden mit pHA im Verlauf der Erkrankung (Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage [n = 21]; Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen [n = 8])

	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
Gesamt	6,6 – 61,7	10,7 – 82,2	12,0 – 51,8	7,4 – 57,2
Median	24,4	32,6	27,1	29,5
n	31	28	22	14
Gruppe 1	9,1 – 61,7	13,6 – 80,4	12,0 – 51,8	7,4 – 57,2
Median	25,5	28,0	25,7	30,4
n	21	21	20	13
Gruppe 2	6,6 – 38,4	10,7 – 82,2	46,0	28,6
Median	20,1	56,4		
n	8	7	1	1

Bei Hunden der Gruppe 2 kam es an Tag 3 zu einem sehr starken Anstieg der Leukozytenzahl (+4,1 bis +62,9 G/l; M +32,7, MW +30,6), während die Leukozytenzahl bei Hunden der Gruppe 1 in etwa konstant blieb (-35,5 bis +54,9 G/l; M +3,5, MW +4,9). Dies entsprach einem signifikanten Anstieg der Gesamtleukozytenzahl bei Hunden der Gruppe 2 ( $p = 0,003$ ) (Abb. 9).

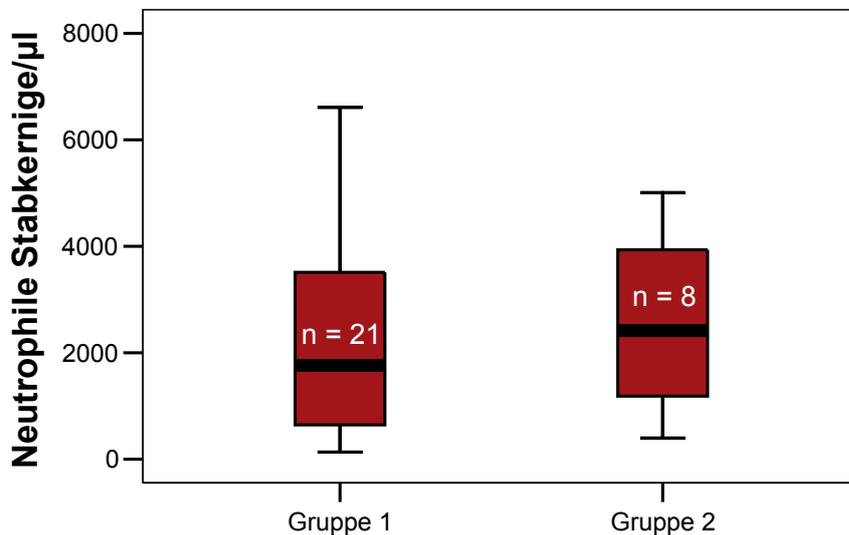


**Abbildung 9:** Differenzen der Gesamtleukozytenzahlen (G/l) zwischen Tag 0 und 3 bei 28 Hunden mit pHA in Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 7) ( $p = 0,003$ )

Bei 11 von 22 Hunden konnten initial zwischen 119 und 2.468 Metamyelozyten/ $\mu$ l (M 60, MW 443) nachgewiesen werden (Gruppe 1 [n = 16]: 215-2.468/ $\mu$ l (M 0, MW 535); Gruppe 2 [n = 5]: 119-488/ $\mu$ l (M 119, MW 148) ( $p = 0,905$ )).

Fasst man Stabkernige und Metamyelozyten zusammen, so lag die Zahl der stabkernigen neutrophilen Granulozyten und Metamyelozyten bei Erstvorstellung zwischen 133 und

8.940/ $\mu\text{l}$  (MW 2.642, M 1.760), in Gruppe 1 zwischen 133 und 6.611/ $\mu\text{l}$  (MW 2.423, M 1.760) und in Gruppe 2 zwischen 990 und 5008/ $\mu\text{l}$  (MW 2.558, M 2.412). Somit hatten Hunde der Gruppe 2 im Median mehr Stabkernige und Metamyelozyten als Hunde der Gruppe 1, eine statistische Signifikanz lag jedoch nicht vor ( $p = 0,649$ ) (Abb. 10).



**Abbildung10:** Zahl der stabkernigen neutrophilen Granulozyten und Metamyelozyten/ $\mu\text{l}$  bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA in Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage ( $n = 21$ ) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen ( $n = 8$ ) ( $p = 0,649$ )

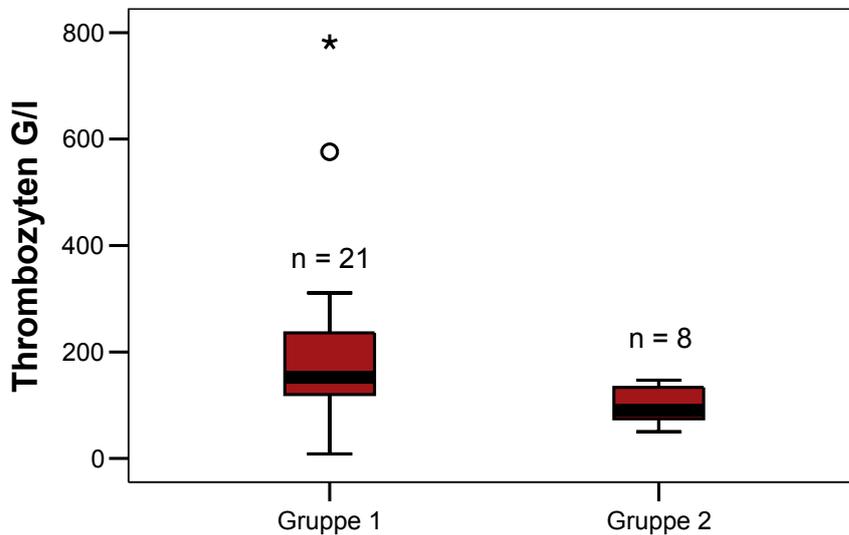
Die Zahl der stabkernigen neutrophilen Granulozyten/ $\mu\text{l}$  im Verlauf ist in Tabelle 26 dargestellt. An Tag 3 kam es in beiden Gruppe zu einem Anstieg der Stabkernigen (Gruppe 1 [ $n = 8$ ]: -624 bis +21.490/ $\mu\text{l}$ ; M +2.207, MW 4.606; Gruppe 2 [ $n = 5$ ]: -348 bis +15.054/ $\mu\text{l}$ ; M +837, MW 4.244), ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen lag jedoch nicht vor ( $p = 1,0$ ). In Gruppe 1 sanken die neutrophilen Granulozyten an Tag 8 wieder ab, bei einem Hund in Gruppe 2 kam es hingegen zu einem weiteren Anstieg.

**Tabelle 26:** Veränderungen der stabkernigen neutrophilen Granulozyten und Metamyelozyten/ $\mu\text{l}$  von 31 Hunden mit pIHA im Verlauf der Erkrankung (Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage [ $n = 21$ ]; Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen [ $n = 8$ ])

	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
Gesamt	133 - 8.940	392 - 28.050	1.098 - 11.040	0 - 5.488
Median	1.760	4.155	1.747	948
n	31	13	8	9
Gruppe 1	133 - 6.611	392 - 28.050	1.098 - 2.667	0 - 3.325
Median	1.760	3.853	1.736	836
n	21	8	7	8
Gruppe 2	990 - 5.008	642 - 16.353	11.040	5.488
Median	2.412	4.932	11.040	5.488
n	8	5	1	1

### 2.3.8. Thrombozyten

Die Thrombozytenzahlen lagen zwischen 8.400-782.000/ $\mu\text{l}$  (MW 188.765/ $\mu\text{l}$ , M 139.000/ $\mu\text{l}$ ). 19 Hunde hatten eine Thrombozytopenie mit Werten <165.000/ $\mu\text{l}$ , 9 Hunde wiesen normale Thrombozytenzahlen zwischen 165.000/ $\mu\text{l}$  und 400.000/ $\mu\text{l}$  auf und bei 3 Hunden konnte eine Thrombozytose von >400.000/ $\mu\text{l}$  festgestellt werden.



**Abbildung 11:** Thrombozytenzahl G/l bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 8) (p = 0,009)

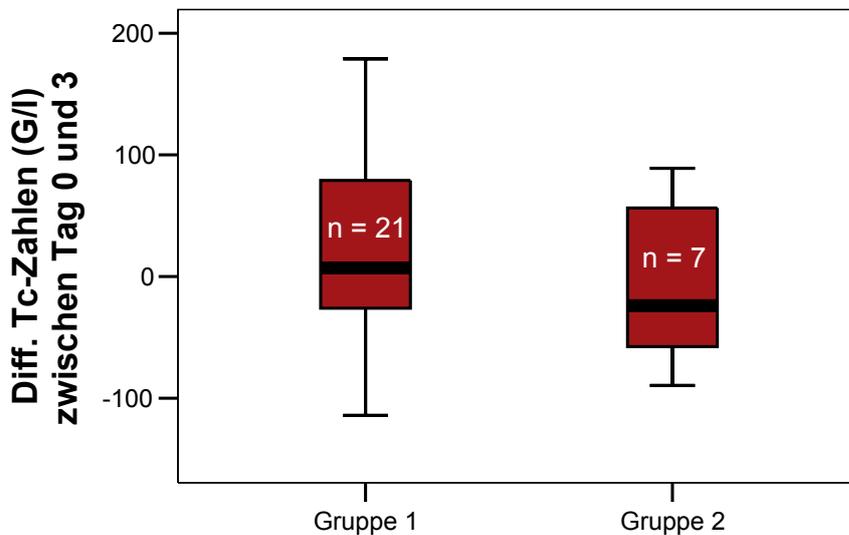
Hunde der Gruppe 1 hatten Thrombozytenzahlen zwischen 8.400 und 782.000/ $\mu\text{l}$  (MW 209.305/ $\mu\text{l}$ , M 152.000/ $\mu\text{l}$ ), Hunde der Gruppe 2 wiesen Thrombozytenzahlen zwischen 50.000 und 147.000/ $\mu\text{l}$  (MW 99.163/ $\mu\text{l}$ , M 90.150/ $\mu\text{l}$ ) auf, was einem statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen entsprach (p = 0,009) (Abb. 11).

**Tabelle 27:** Veränderungen der Thrombozytenzahlen (G/l) von 31 Hunden mit pIHA im Verlauf der Erkrankung (Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage [n = 21]; Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen [n = 8])

	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
Gesamt	8 - 782	21 - 747	12 - 1.192	33 - 788
Median	139	163	322	336
n	31	28	21	14
Gruppe 1	8 - 782	51 - 747	142 - 1.192	110 - 788
Median	152	176	278	349
n	21	21	19	13
Gruppe 2	50 - 147	21 - 179		
Median	90	99	12	33
n	8	7	1	1

Während die Thrombozytenzahlen in Gruppe 1 (n = 21) im Median unter der Behandlung im Verlauf anstiegen (-114 bis +179 G/l, M 7, MW 28), kam es in Gruppe 2 an Tag 3 zu einem

Abfall (-90 bis +89 G/l, M -24, MW -4), eine statistische Signifikanz zwischen den beiden Gruppen lag jedoch nicht vor ( $p = 0,376$ ) (Tab. 27, Abb. 12).



**Abbildung 12:** Differenzen der Thrombozytenzahlen (G/l) zwischen Tag 0 und 3 bei 28 Hunden mit pIHA in Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 7) ( $p = 0,376$ )

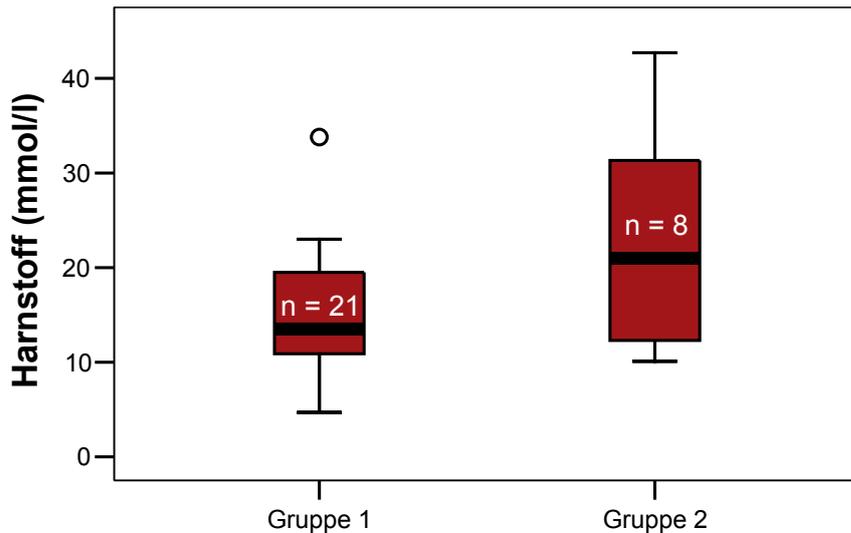
## 2.4. Klinisch-chemische Blutuntersuchung

Der **Natrium**wert bei Erstvorstellung lag zwischen 136 und 163 mmol/l (MW 145,6, M 145) (Tab. 53). Bei 2 Tieren (6%) lag eine Hypo- und bei 3 Tieren (10%) eine Hypernatriämie vor. Bei 2 Hunden (25%) der Gruppe 2 und bei einem Hund (5%) der Gruppe 1 lag eine Hypernatriämie vor, kein Tier (0%) der Gruppe 2 jedoch 2 Hunde (10%) der Gruppe 1 hatten eine Hyponatriämie.

Der **Kalium**gehalt lag zwischen 2,8 und 4,7 mmol/l (MW 3,6, M 3,5) (Tab. 53). Eine Hypokaliämie von <3,6 mmol/l lag bei 16 Hunden (52%) vor, dabei 3 (37,5%) aus Gruppe 2 und 12 (57%) aus Gruppe 1. Kein Hund hatte eine Hyperkaliämie >4,8 mmol/l.

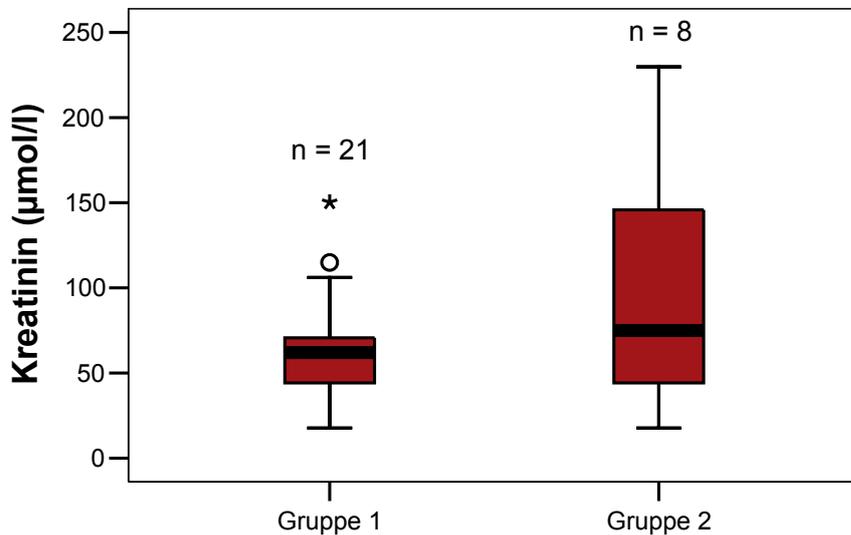
Der **Glukose**wert lag bei Erstvorstellung zwischen 3,2 und 10,5 mmol/l (MW 6, M 6) (Tab. 53). 5 Hunde (16%) hatten eine Hypoglykämie <4,5 mmol/l, bei 13 Hunden (42%) lag eine Hyperglykämie von >6,2 mmol/l vor. Bei 1 Hund (12,5%) der Gruppe 2 und bei 2 Hunden (10%) der Gruppe 1 lag eine Hypo-, bei 4 Hunden (50%) der Gruppe 2 und bei 9 Hunden (43%) der Gruppe 1 eine Hyperglykämie vor.

Die **Harnstoff**konzentration lag zwischen 4,6 und 48 mmol/l (MW 18,1, M 13,9) (Tab. 53). 8 Hunde (26%) hatten einen erhöhten Harnstoffwert von >21,4 mmol/l, davon 4 Hunde (50%) aus Gruppe 2 und 3 Hunde (14%) aus Gruppe 1. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen lag nicht vor ( $p = 0,116$ ) (Abb. 13).



**Abbildung 13:** Harnstoffkonzentration (mmol/l) bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 8) (p = 0,116)

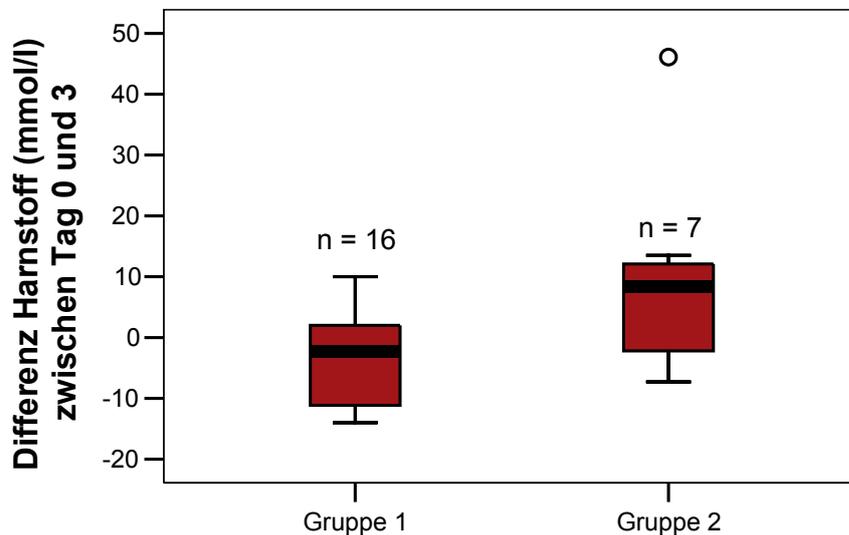
Der **Kreatininspiegel** lag zwischen 17,7 und 229,8  $\mu\text{mol/l}$  (MW 70,7, M 61,9) (Tab. 53). 4 Hunde (13%) hatten einen erhöhten Kreatininspiegel von >106,1  $\mu\text{mol/l}$ , davon 2 Hunde (25%) der Gruppe 2 und 2 Hunde (10%) der Gruppe 1. Eine statistische Signifikanz zwischen den beiden Gruppen lag nicht vor (p = 0,401) (Abb. 14).



**Abbildung 14:** Kreatininkonzentration ( $\mu\text{mol/l}$ ) bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 8) (p = 0,401)

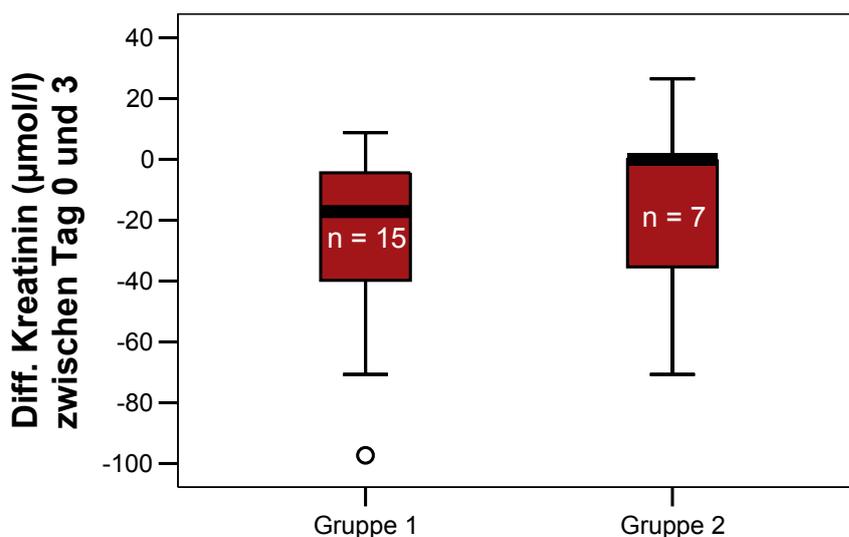
4 Hunde (19%) aus Gruppe 1 und 5 Hunde (62,5%) aus Gruppe 2 hatten eine Azotämie mit einem erhöhten Harnstoff und/oder Kreatininwert.

Zwischen Tag 0 und 3 kam es in Gruppe 1 (n = 16) zu einem Absinken der Harnstoffkonzentration von im Median -2,3 mmol/l (-14 bis +10, MW -3,2), während es in Gruppe 2 zu einem Anstieg der Harnstoffkonzentration von im Median +8,4 mmol/l kam (-7,3 bis +46,1, MW 9,6) (p = 0,047) (Abb. 15).



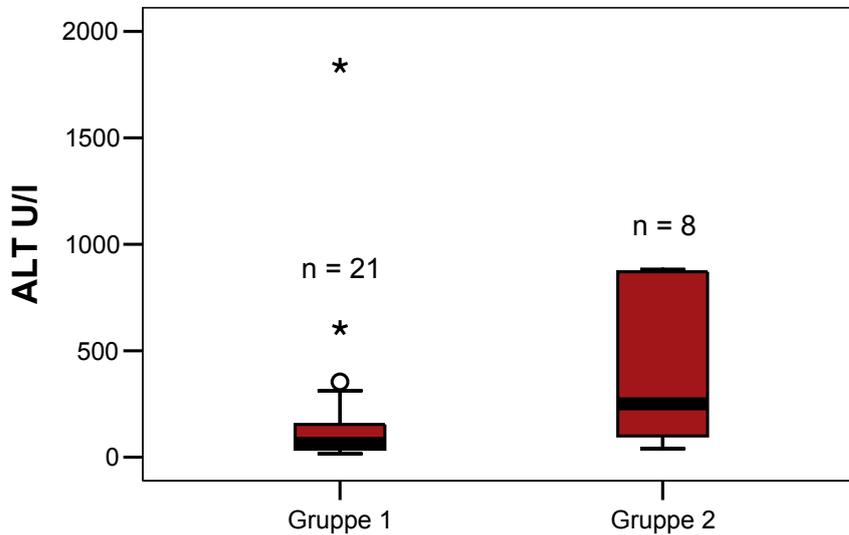
**Abbildung 15:** Differenzen der Harnstoffkonzentration (mmol/l) zwischen Tag 0 und 3 bei 23 Hunden mit piHA in Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 16) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 7) (p = 0,047)

Zwischen Tag 0 und 3 kam es in Gruppe 1 (n = 15) zu einem Absinken des Kreatininwertes von im Median -17,2  $\mu$ mol/l (-97,3 bis +8,8, MW -25,3), während der Kreatininwert in Gruppe 2 konstant blieb (-70,7 bis +26,5, M 0, MW -16,4) (p = 0,368) (Abb. 16).



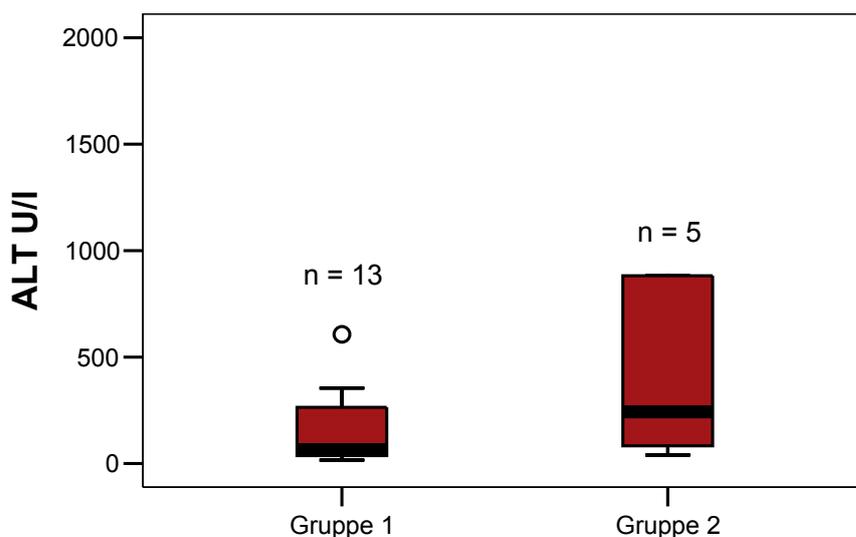
**Abbildung 16:** Differenzen der Kreatininkonzentration ( $\mu$ mol/l) zwischen Tag 0 und 3 bei 22 Hunden mit piHA in Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 15) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 7) (p = 0,368)

Die ALT lag zwischen 16 und 5887 U/l (MW 421, M 83), in Gruppe 1 zwischen 16 und 1839 U/l (MW 201, M 65) und in Gruppe 2 zwischen 40 und 5887 U/l (MW 1046, M 251) ( $p = 0,028$ ) (Abb. 17). 16 Hunde (52%) hatten eine erhöhte ALT von  $>76$  U/l, davon 7 (87,5%) aus Gruppe 2 und 7 (33%) aus Gruppe 1.



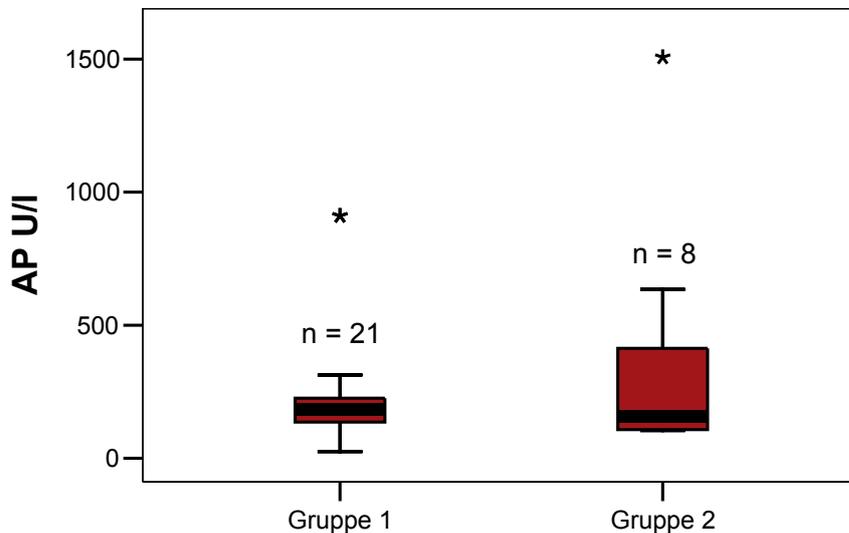
**Abbildung 17:** ALT (U/l) bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit  $>14$  Tage ( $n = 21$ ) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen ( $n = 8$ ) ( $p = 0,028$ )

Betrachtet man nur die nicht mit Glukokortikoiden vorbehandelten Hunde ( $n = 20$ ), so lag die ALT bei 16-5.887 U/l (MW 477, M 78), bei Hunden aus Gruppe 1 ( $n = 13$ ) zwischen 16 und 607 U/l (MW 149, M 65) und bei Hunden aus Gruppe 2 ( $n = 5$ ) zwischen 40 und 5.887 U/l (MW 1.427, M 242). Dieser Unterschied war nicht statistisch signifikant ( $p = 0,117$ ).



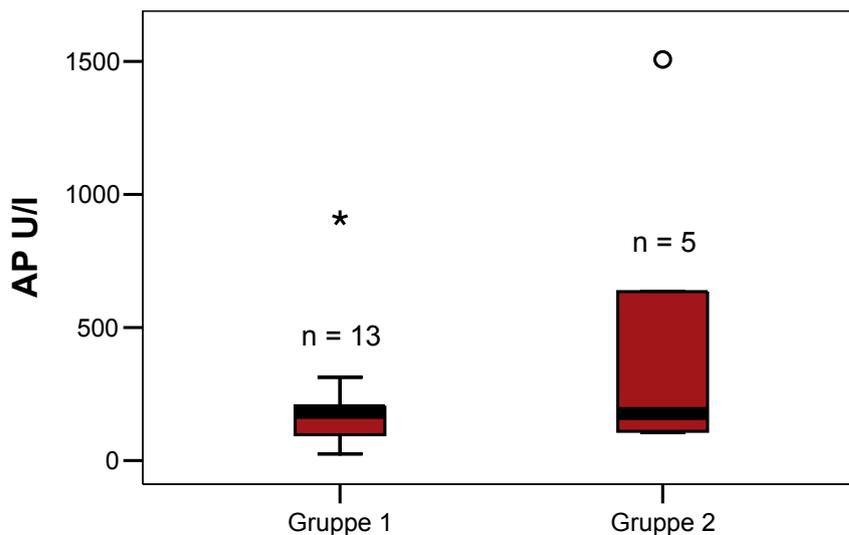
**Abbildung 18:** ALT U/l bei Erstvorstellung bei nicht mit Glukokortikoiden vorbehandelten Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit  $>14$  Tage ( $n = 13$ ) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen ( $n = 5$ ) ( $p = 0,117$ )

Die AP lag zwischen 25 und 1507 U/l (MW 275, M 184) (Tab. 53) ( $p = 0,858$ ) (Abb. 19). 26 Hunde (84%) hatten eine erhöhte AP von  $>97$  U/l, davon alle (100%) aus Gruppe 2 und 17 (81%) aus Gruppe 1.



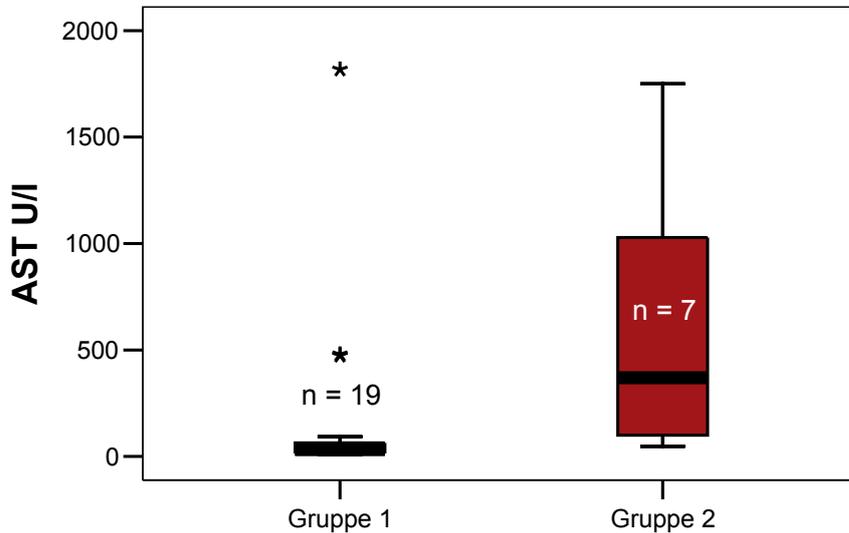
**Abbildung 19:** AP (U/l) bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit  $>14$  Tage ( $n = 21$ ) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen ( $n = 8$ ) ( $p = 0,858$ )

Bei den nicht mit Glukokortikoiden vorbehandelten Hunden ( $n = 20$ ) lag die AP zwischen 25 und 1.507 U/l (MW 294, M 179), bei Hunden aus Gruppe 1 ( $n = 13$ ) zwischen 25 und 911 U/l (MW 219, M 181) und bei Hunden aus Gruppe 2 ( $n = 5$ ) zwischen 105 und 1.507 U/l (MW 507, M 177) ( $p = 0,566$ ) (Abb. 20).



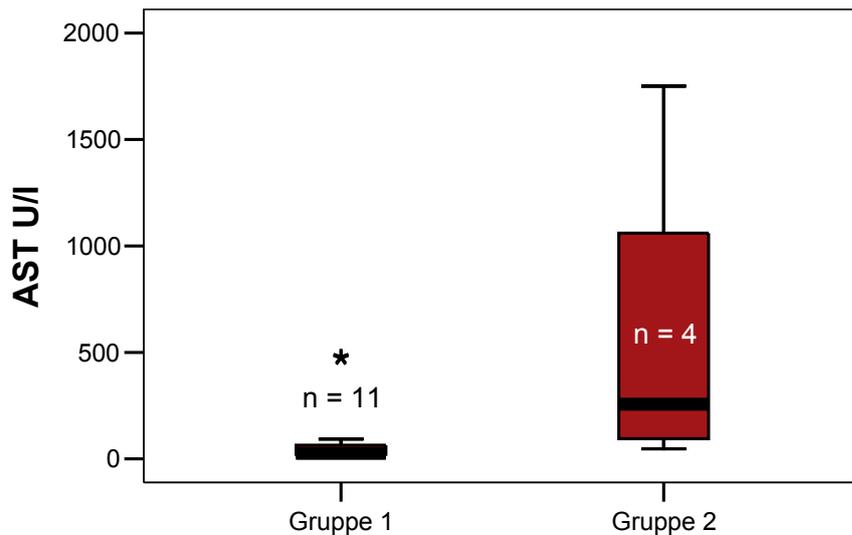
**Abbildung 20:** AP (U/l) bei Erstvorstellung bei nicht mit Glukokortikoiden vorbehandelten Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit  $>14$  Tage ( $n = 13$ ) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen ( $n = 5$ ) ( $p = 0,566$ )

Die **AST** wurde bei 28 Tieren bestimmt. Es wurden Werte zwischen 9 und 1818 U/l (MW 300, M 49), in Gruppe 1 (n = 19) zwischen 9 und 1818 U/l (MW 173, M 32) und in Gruppe 2 (n = 7) zwischen 47 und 1751 U/l (MW 632, M 370) ( $p = 0,005$ ) (Tab. 53; Abb. 21). 15 Hunde (54%) hatten einen erhöhten AST-Wert von  $>41$  U/l, davon alle (100%) aus Gruppe 2 (n = 7) und 6 (32%) aus Gruppe 1 (n = 19).



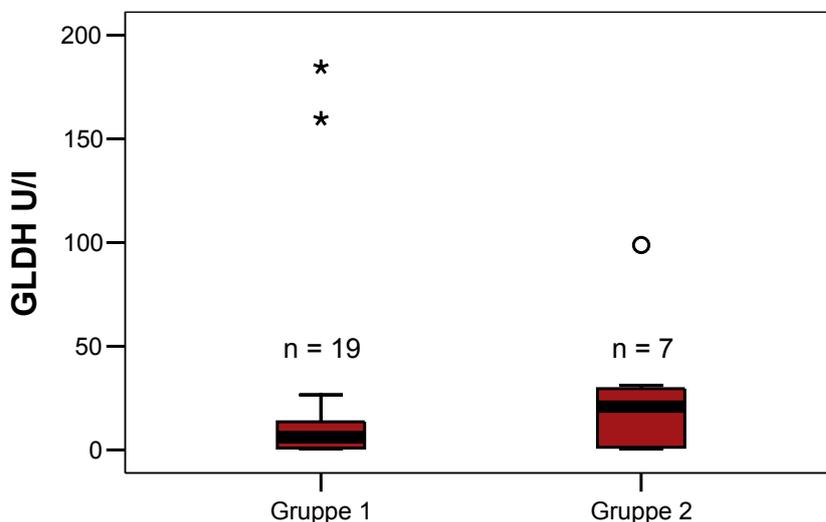
**Abbildung 21:** AST (U/l) bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit  $>14$  Tage (n = 19) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 7) ( $p = 0,005$ )

Betrachtet man nur die nicht mit Glukokortikoiden vorbehandelten Hunde (n = 17), so lag die AST bei 9-1.751 U/l (MW 248, M 47), bei Hunden aus Gruppe 1 (n = 11) zwischen 9 und 480 U/l (MW 112, M 26) und bei Hunden aus Gruppe 2 (n = 4) zwischen 47 und 1.751 U/l (MW 578, M 257) ( $p = 0,056$ ) (Abb. 22).



**Abbildung 22:** AST (U/l) bei Erstvorstellung bei nicht mit Glukokortikoiden vorbehandelten Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 11) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n=4) (p = 0,056)

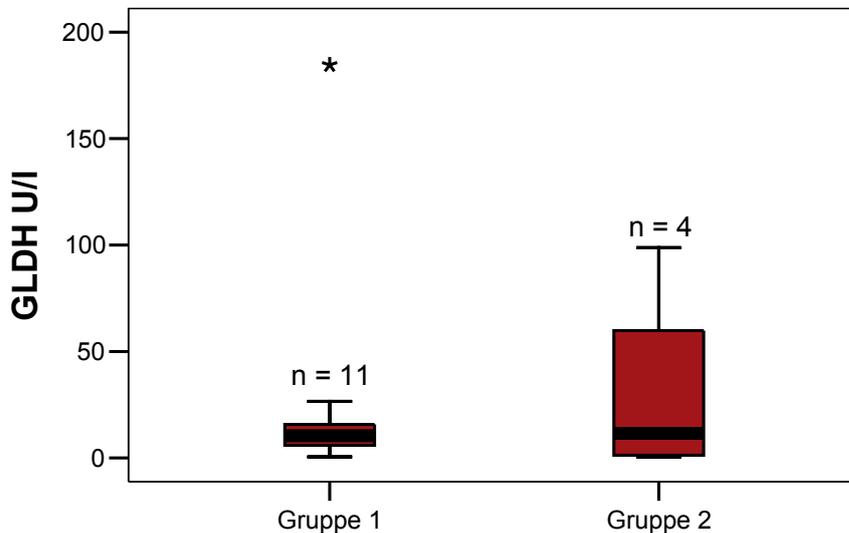
Die **GLDH** wurde bei 28 Hunden bestimmt und lag zwischen 0,5 und 184,6 U/l (MW 23,7, M 7,1) (Tab. 53). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen lag nicht vor (p = 0,529). 12 Hunde (43%) hatten eine GLDH-Erhöhung >8,6 U/l, davon 5 (62,5%) aus Gruppe 2 (n = 7) und 7 Hunde (37%) aus Gruppe 1.



**Abbildung 23:** GLDH (U/l) bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 19) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n=7) (p = 0,529)

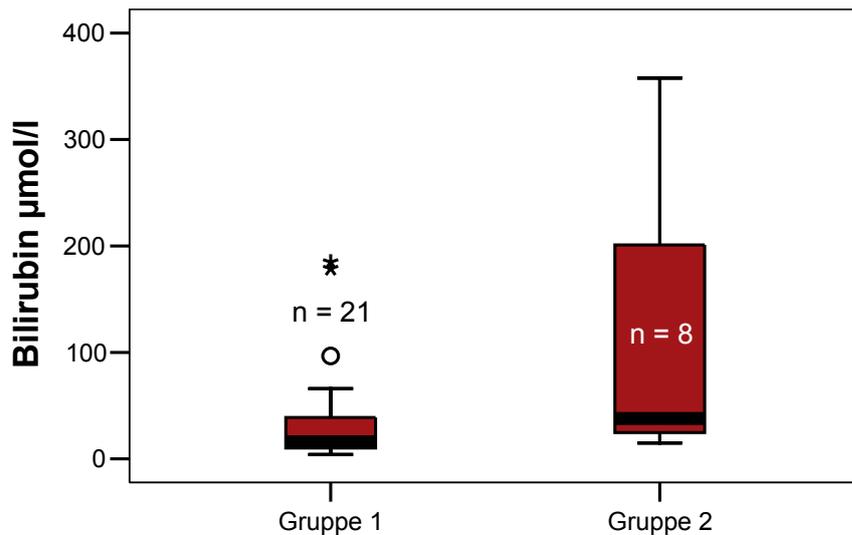
Bei den nicht mit Glukokortikoiden vorbehandelten Hunden (n = 17) lag die GLDH zwischen 0,5 und 184,6 U/l (MW 25,4, M 10,4), bei Hunden aus Gruppe 1 (n = 11) zwischen 0,5 und

184,6 U/l (MW 26,4, M 10,4) und bei Hunden aus Gruppe 2 (n = 4) zwischen 0,5 und 98,8 U/l (MW 30,6, M 11,5) ( $p = 0,851$ ) (Abb. 24).



**Abbildung 24:** GLDH (U/l) bei Erstvorstellung bei nicht mit Glukokortikoiden vorbehandelten Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 11) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n=4) ( $p = 0,851$ )

Das **Bilirubin** lag bei Erstvorstellung zwischen 4,1 und 1233,9  $\mu\text{mol/l}$  (MW 87,4, M 20,4). 30 Hunde hatten eine Hyperbilirubinämie von  $>5,1 \mu\text{mol/l}$ , davon alle (100%) aus Gruppe 2 (n = 8) und 20 Hunde (95%) aus Gruppe 1. Hunde der Gruppe 1 hatten eine Bilirubinwert zwischen 4,1 und 184,9  $\mu\text{mol/l}$  (MW 39,1, M 16,1), Hunde der Gruppe 2 wiesen Bilirubinwerte zwischen 14,9 und 1233,9  $\mu\text{mol/l}$  (MW 222, M 38) auf, was einem statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen entsprach ( $p = 0,04$ ) (Tab. 53; Abb. 25).

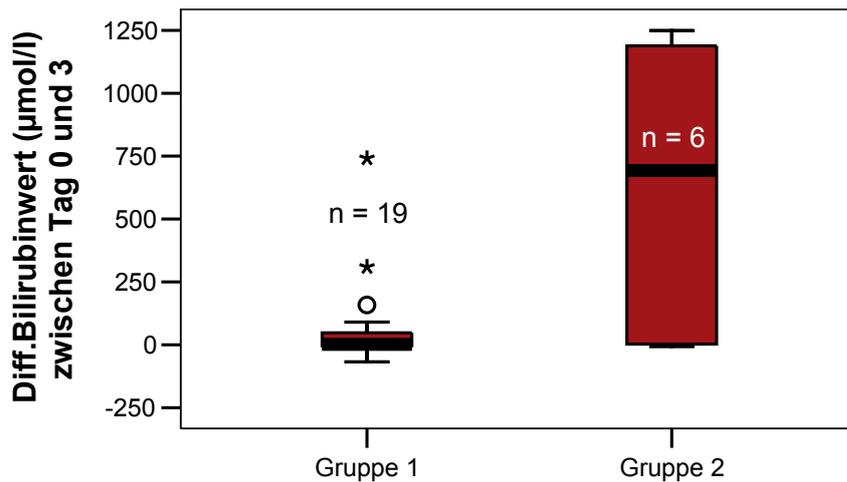


**Abbildung 25:** Bilirubinwerte ( $\mu\text{mol/l}$ ) bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit  $>14$  Tage ( $n = 21$ ) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen ( $n = 8$ ) ( $p = 0,04$ )

Es zeigte sich, dass der Anstieg der Bilirubinwerte von Tag 0 zu Tag 3 in Gruppe 2 ( $n = 6$ ) sehr viel höher war als in Gruppe 1, was einem statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen entsprach ( $p = 0,035$ ) (Gruppe 1:  $-67,9$  bis  $+741,5 \mu\text{mol/l}$ , M  $+1,4$ , MW  $+67,9$ ; Gruppe 2:  $-6$  bis  $+1.248,9 \mu\text{mol/l}$ , M  $+693,1$ , MW  $+636,7$ ) (Tab. 28; Abb. 26).

**Tabelle 28:** Veränderungen der Bilirubinwerte ( $\mu\text{mol/l}$ ) von 31 Hunden mit pIHA im Verlauf der Erkrankung (Gruppe 1 = Überlebenszeit  $>14$  Tage; Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen)

	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
Gesamt	4,1 - 1.233,9	3,8 - 1.269,3	5,3 - 707,6	2,4 - 498,6
Median	20,4	32,7	14,5	14,3
n	31	25	18	10
Gruppe 1	4,1 - 184,9	3,8 - 926,4	5,3 - 136,3	2,4 - 50,4
Median	16,1	18,6	13,0	14,0
n	21	19	16	9
Gruppe 2	14,9 - 1.233,9	32,7 - 1.269,3		
Median	38	718,6	707,6	498,6
n	8	6	1	1



**Abbildung 26:** Differenzen der Bilirubinwerte ( $\mu\text{mol/l}$ ) zwischen Tag 0 und 3 bei 25 Hunden mit pIHA in Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage ( $n = 19$ ) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen ( $n = 6$ ) ( $p = 0,035$ )

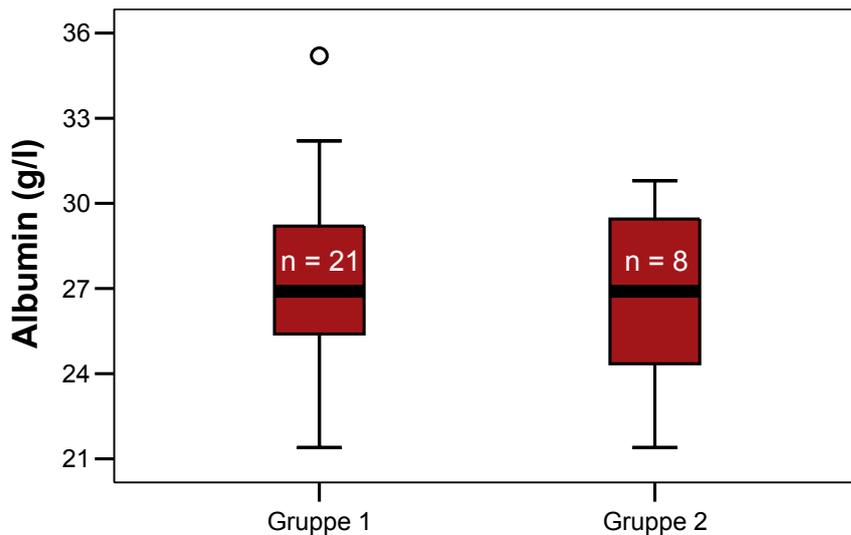
Der **Cholesterinwert** wurde bei 25 Hunden bestimmt und lag zwischen 2,6 und 13,2 mmol/l (M 7,4) (Tab. 53). 1 Hund (6%) aus Gruppe 1 hatte eine Hypocholesterinämie von <3,4 mmol/l. 11 Hunde (44%) hatten eine Hypercholesterinämie von >7,8 mmol/l, davon 3 (37,5%) aus Gruppe 2 und 8 (50%) aus Gruppe 1.

Der **Proteingehalt** lag zwischen 50 und 91 g/l (MW 70, M 70) (Tab. 53). 1 Hund (5%) aus Gruppe 1 hatten eine Hypoproteinämie <54 g/l, 18 Hunde (58%) hatten eine Hyperproteinämie >66 g/l, davon 5 (62,5%) aus Gruppe 2 und 11 (52%) aus Gruppe 1.

Hinsichtlich der **Albuminkonzentration** bestand weder bei Erstvorstellung noch im Verlauf ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Tab. 29; Abb. 27). Eine Hypalbuminämie <28 g/l lag bei 19 (61%) der Hunde vor, dabei 5 (62,5%) aus Gruppe 2 und 13 (62%) aus Gruppe 1.

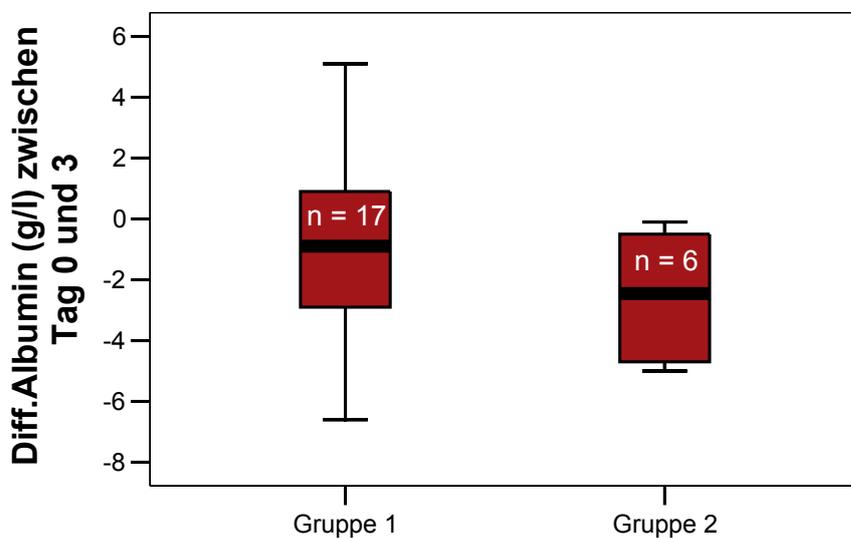
**Tabelle 29:** Veränderungen der Albumin-Konzentration (g/l) im Plasma von 31 Hunden mit pIHA im Verlauf der Erkrankung (Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage [ $n = 21$ ]; Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen [ $n = 8$ ])

	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
Gesamt	21,4 – 35,2	19,7 – 31,7	21,3 – 39,8	18,2 - 33,5
Median	26,9	24,4	27,1	30,3
n	31	23	22	7
Gruppe 1	21,4 – 35,2	21,9 – 31,7	21,3 – 39,8	26,3 - 33,5
Median	26,9	25,4	28	30,4
n	21	17	20	6
Gruppe 2	21,4 – 30,8	19,7 – 25,8		
Median	26,9	23,7	23,2	18,2
n	8	6	1	1



**Abbildung 27:** Albuminwerte g/l bei Erstvorstellung bei 29 Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen ( $p = 0,641$ )

Zwischen Tag 0 und 3 kam es bei 23 Hunden zu einem Anstieg bzw. Abfall des Albuminwertes von -6,6 bis +5,1 g/l (MW -1,4, M -1,6) (Gruppe 1 [n = 17]: -6,6 bis +5,1 (MW -0,9, M -0,9), Gruppe 2 [n = 6]: -5,0 bis -0,1 (MW -2,5, M -2,5)) ( $p = 0,319$ ) (Abb. 28).



**Abbildung 28:** Differenzen der Albuminwerte (g/l) zwischen Tag 0 und 3 bei 23 Hunden mit pIHA in Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 17) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 6) ( $p = 0,319$ )

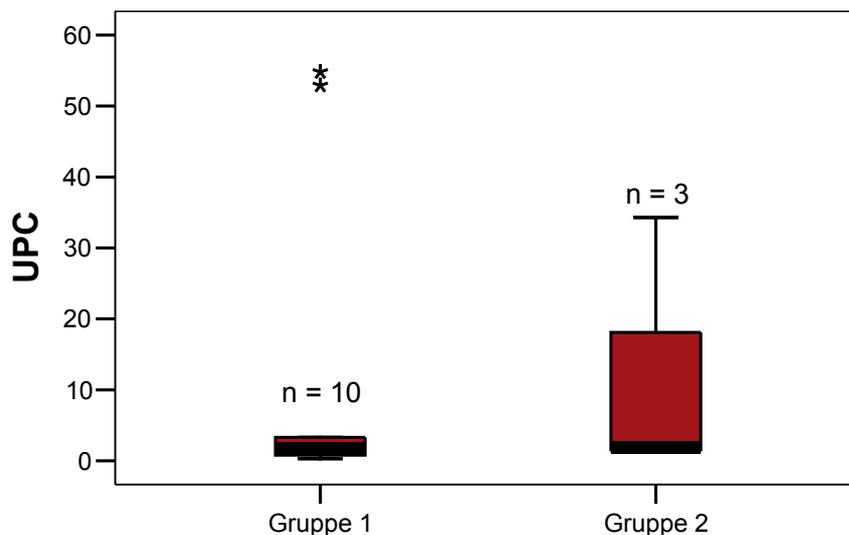
## 2.5. Harnuntersuchung

Eine Harnuntersuchung wurde bei 18 Hunden durchgeführt. Bei 3 Hunden war eine Harnanalyse aufgrund der starken Verfärbung des Urins nicht möglich und bei weiteren 10 Hunden wurde keine Harnuntersuchung eingeleitet (Tab. 30).

**Tabelle 30:** Ergebnisse der Harnuntersuchung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 (n = 15) und Gruppe 2 (n = 3)

	Gr. 1	Gr.2	Gr.1	Gr.2	Gr.1	Gr.2	Gr.1	Gr.2	Gr.1	Gr.2
	negativ		1+		2+		3+		4+	
<b>Protein</b>	2 (13%)	0	10 (66%)	2 (66%)	2 (13%)	1 (33%)	1 (7%)	0	0	0
<b>Bilirubin</b>	2 (13%)	0	4 (27%)	1 (33%)	2 (13%)	0	6 (40%)	2 (66%)	1 (7%)	0
<b>Hämoglobin</b>	10 (66%)	2 (66%)	0	0	0	0	1 (7%)	0	4 (27%)	1 (33%)
<b>Erythrozyten</b>	8 (53%)	2 (66%)	2 (13%)	1 (33%)	2 (13%)	0	1 (7%)	0	2 (13%)	0

Bei 14 Hunden wurde der Urin-Protein/Kreatinin-Gehalt (**UPC**) bestimmt. Er lag zwischen 0,3 und 54,8 (MW 13, Median 1,9), in Gruppe 1 (n = 10) zwischen 0,3 und 54,8 (MW 11,9, M 1,8) und in Gruppe 2 (n = 3) zwischen 1,2 und 34,3 (MW 12,5 M 1,9) ( $p = 0,692$ ) (Abb. 29). Eine erhöhte UPC  $>0,5$  wurde bei 12 Hunden festgestellt, davon alle (100%) aus Gr. 2 und 8 (80%) aus Gr. 1.



**Abbildung 29:** UPC Ratio bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit  $>14$  Tage (n = 10) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 3) ( $p = 0,692$ )

## 2.6. Plasmatische Gerinnung

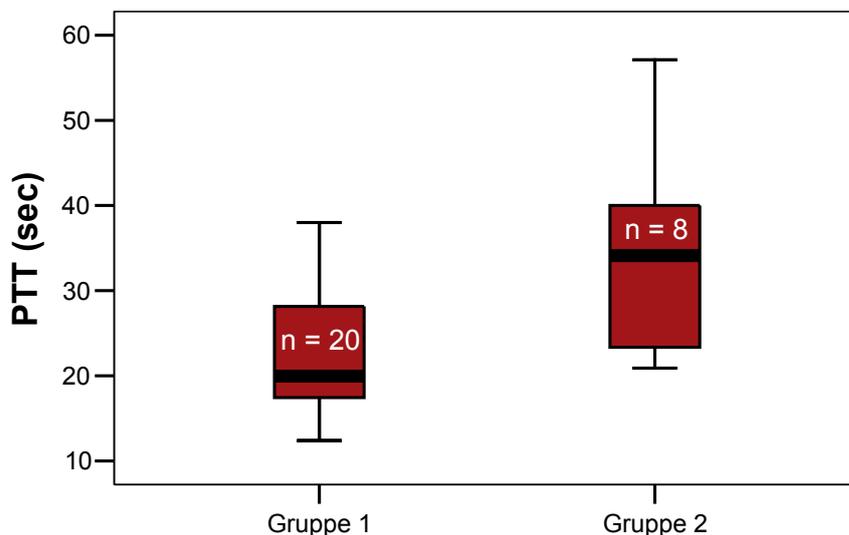
Die plasmatische Gerinnung wurde bei 30 Hunden bestimmt.

Bei 11 Hunden wurde bei Erstvorstellung eine DIC vermutet, dabei 4 (13%) aus Gruppe 1 und 7 (87,5%) aus Gruppe 2 (Tab. 54–56).

**Tabelle 31:** Gerinnungsparameter bei Erstvorstellung bei 30 Hunden mit pIHA im Vergleich (Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage [n = 20] und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen [n = 8])

		Gruppe 1	Gruppe 2
<b>PTT (sec)</b>	12,4 - 57,1 M 22,6 n = 30	12,4 - 38 M 20 n = 20	20,9 - 57,1 M 34,1 n = 8
<b>PT (sec)</b>	12,5 - 35,9 M 19,6 n = 30	12,5 - 27,3 M 18,5 n = 20	14,9 - 35,9 M 26 n = 8
<b>Fibrinogen (g/l)</b>	1 - 7,9 M 4,4 n = 14	2,1 - 7,9 M 4,6 n = 11	1 - 3,2 M 1,4 n = 3

Die PTT lag initial im Median bei 20 Sekunden in Gruppe 1 und bei 34,1 Sekunden in Gruppe 2 ( $p = 0,004$ ) (Tab. 31; Abb. 30). 22 Hunde hatten eine verlängerte PTT von >18,2 Sekunden, davon alle (100%) aus Gruppe 2 ( $n = 8$ ) und 12 Hunde (60%) aus Gruppe 1.

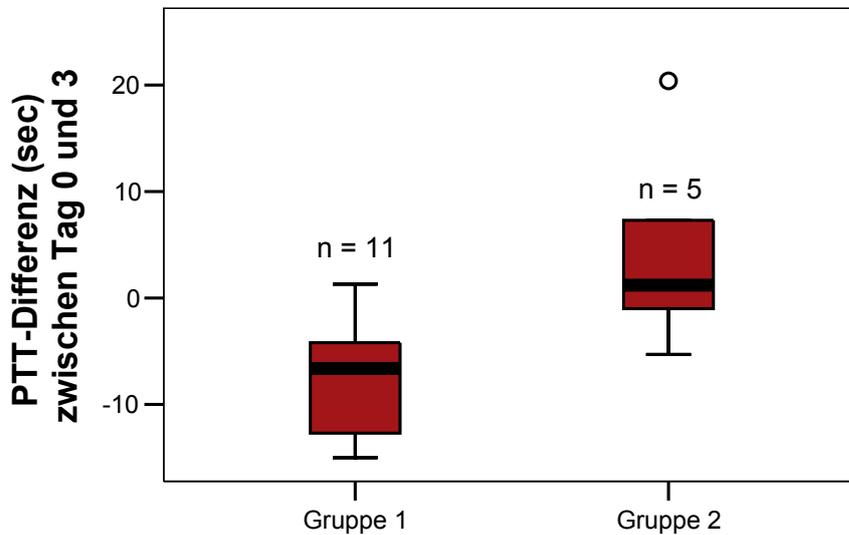


**Abbildung 30:** PTT in Sekunden bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage ( $n = 20$ ) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen ( $n = 8$ ) ( $p = 0,004$ )

**Tabelle 32:** Veränderungen der PTT (sec) von 30 Hunden mit pIHA im Verlauf der Erkrankung (Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage; Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen)

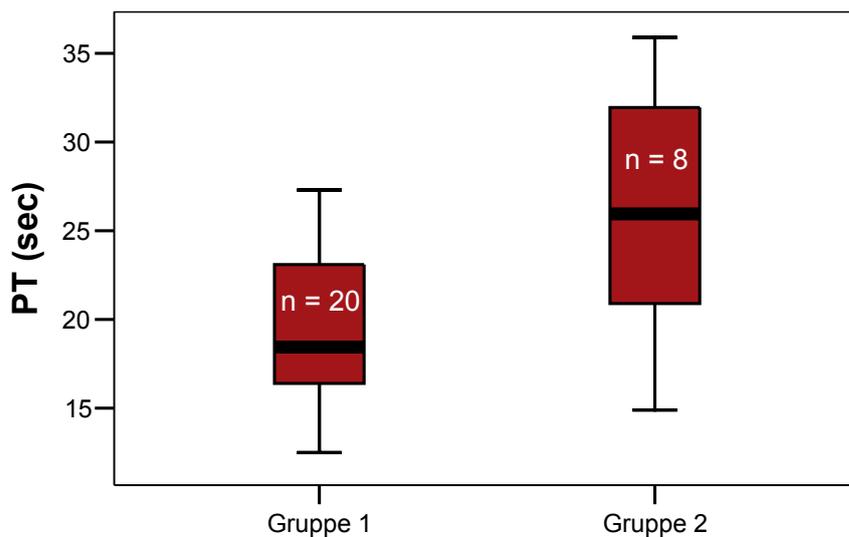
	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
Gesamt	12,4 - 57,1	13,3 - 44,6	13,6 - 31,4	12,3 - 20,4
Median	22,6	19,6	19,7	16,9
n	30	16	8	5
Gruppe 1	12,4 - 38,0	13,3 - 24,8	13,6 - 21,5	12,3 - 20,4
Median	20	18,2	18,3	15,3
n	20	11	7	4
Gruppe 2	20,9 - 57,1	28,2 - 44,6		
Median	34,1	34,5	31,4	20,4
n	8	5	1	1

In Gruppe 2 (n = 5) kam es im Verlauf der Therapie zu einer Verlängerung (M +1,2 sec), in Gruppe 1 (n = 11) zu einer Verkürzung (M -6,6 sec) der PTT (p = 0,013) (Tab. 32, Abb. 31).



**Abbildung 31:** Differenzen der PTT (sec) zwischen Tag 0 und 3 bei 16 Hunden mit pIHA in Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 11) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 5) (p = 0,013)

Die PT lag initial im Median bei 18,5 Sekunden in Gruppe 1 und bei 26 Sekunden in Gruppe 2 (p = 0,032) (Tab. 45, Abb. 32). 14 Hunde hatten eine verlängerte PT von >20,4 Sekunden, davon 6 (75%) aus Gruppe 2 und 7 (35%) aus Gruppe 1.

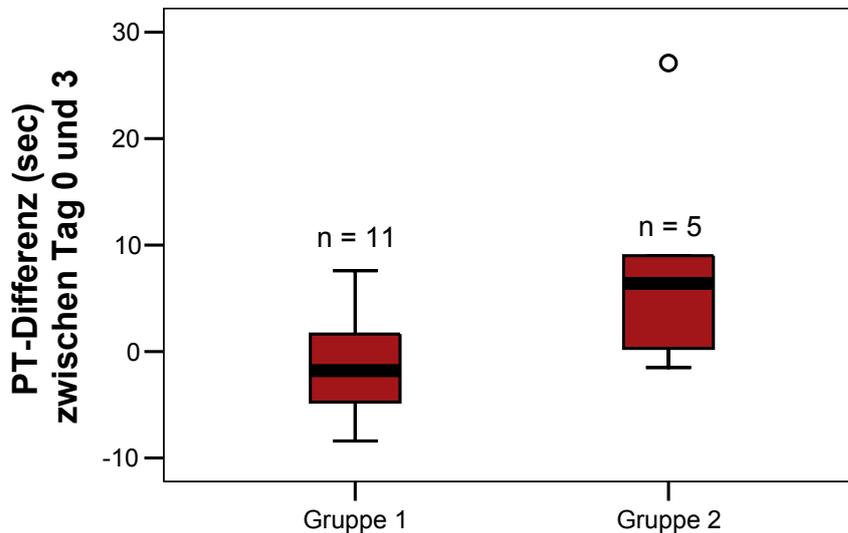


**Abbildung 32:** PT (sec) bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 20) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 8) (p = 0,032)

**Tabelle 33:** Veränderungen der PT (sec) von 30 Hunden mit pIHA im Verlauf der Erkrankung (Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage; Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen)

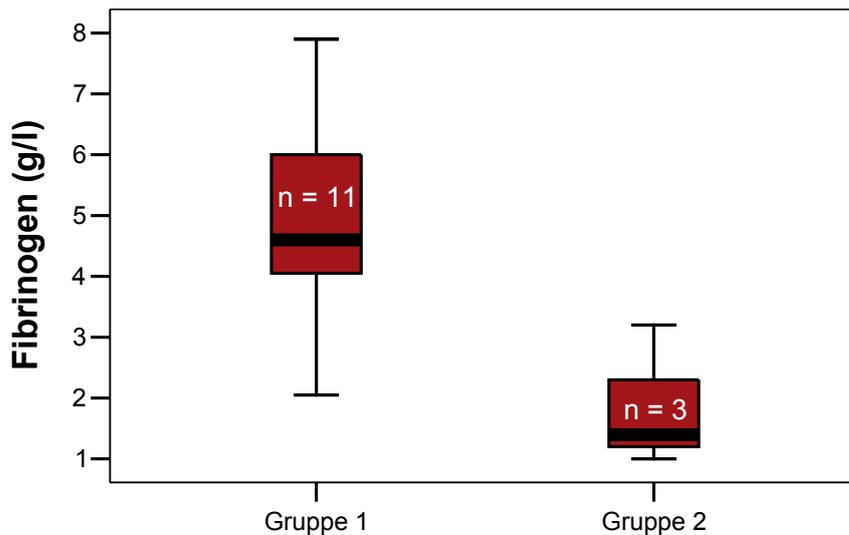
	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
Gesamt	12,5 - 35,9	10,7 - 46,2	15,2 - 36,8	20,9 - 27,7
Median	19,6	23,2	20	21,8
n	30	16	8	5
Gruppe 1	12,5 - 27,3	10,7 - 25,6	15,2 - 26,1	20,9 - 23,9
Median	18,5	18,1	19	21,6
n	20	11	7	4
Gruppe 2	14,9 - 35,9	23,9 - 46,2	36,8	27,7
Median	26	34,4	36,8	27,7
n	8	5	1	1

In Gruppe 2 (n = 5) kam es von Tag 0 zu Tag 3 zu einer Verlängerung (M +6,4 sec), in Gruppe 1 zu einer Verkürzung (M -1,8 sec) der PT (p = 0,038) (Abb. 33).



**Abbildung 33:** Differenzen der PT (sec) zwischen Tag 0 und 3 bei 30 Hunden mit pIHA in Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 11) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 5) (p = 0,038)

Eine Bestimmung von Fibrinogen wurde bei 14 Hunden durchgeführt. Eine Erhöhung des **Fibrinogenwertes** >3,5 g/l lag bei 9 Hunden vor, alle aus Gruppe 1, eine Erniedrigung des Fibrinogens <1,8 wurde bei 2 Hunden festgestellt, beide aus Gruppe 2 (Abb. 34).



**Abbildung 34:** Fibrinogenwerte g/l bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 11) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 3)

## 2.7. Weiterführende Untersuchungen

### 2.7.1. Coombs-Test

Ein direkter Coombs-Test wurde bei 30 Patienten durchgeführt. Bei 25 Hunden wurde ein positiver IgG-Titer, bei 4 Hunden ein positiver IgG-Titer mit gleichzeitiger Aktivierung von Komplement C3 und bei einem Hund ein positiver IgM-Titer mit gleichzeitiger Aktivierung von Komplement C3 nachgewiesen. Bei einem weiteren Hund aus Gruppe 2 war eine Durchführung des Coombs-Tests aufgrund persistierender Autoagglutination nicht möglich.

### 2.7.2. Thrombozyten-gebundene Antikörper

Die Bestimmung von Thrombozyten-gebundenen Antikörpern wurde bei insgesamt 12 Hunden mit Thrombozytopenie durchgeführt und verlief negativ.

### 2.7.3. Serumantikörper- und PCR-Untersuchungen

Bei einem Teil der Hunde erfolgte eine Untersuchung auf Babesiose (n = 27), Ehrlichiose (n = 22), Anaplasmose (n = 19), Leishmaniose (n = 13), Hämoplasmose (n = 4) und Leptospirose (n = 4) und verlief in allen Fällen negativ.

### 2.7.4. Knochenmarkpunktion

Bei einem Hund (Nr. 6) wurde aufgrund fehlender Regeneration eine Knochenmarkpunktion durchgeführt. Bei der Auswertung des Knochenmarkspirats wurden zahlreiche Megakaryozyten, eine normale Anzahl der Vorstufen der myeloiden Reihe und Vorstufen der

erythroiden Reihe bzw. Normoblasten in ausreichender Menge gefunden. Dieser Hund hatte eine nur mässige Regeneration und wurde 3 Monate nach Behandlungsbeginn mit einem Hämatokritwert von 0,22 l/l euthanasiert.

Ein weiterer Hund (Nr. 13) hatte ebenfalls eine nicht regenerative Anämie. Die Auswertung ergab: Granulozytopoese in unterschiedlichen Reifungsstadien, ausreichend Megakaryozyten, nur wenige Elemente der Erythropoese, keine Atypien. Beurteilung: keine Anhaltspunkte für Neoplasie, erhebliche Reduktion der erythropoetischen Aktivität ungeklärter Ursache, kein Hinweis auf Myelodysplasie. Dieser Hund wurde 11 Tage nach Behandlungsbeginn mit Prednisolon mit einem Hämatokritwert von 0,11 l/l auf Besitzerwunsch euthanasiert und konnte somit in keine der beiden Gruppen eingeteilt werden. Die Zahl der Retikulozyten lag bei 84.000/µl an Tag 9 und wurde an Tag 11 nicht erneut bestimmt.

## 2.8. Bestimmung von Akute-Phase-Proteinen (APPs)

### 2.8.1. C-reaktives Protein (CRP)

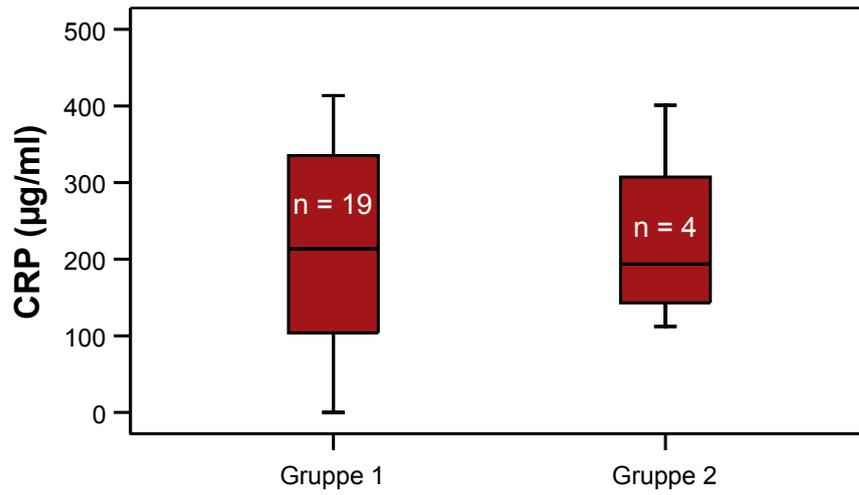
Eine Bestimmung von CRP konnte bei 24 Patienten durchgeführt werden, bei 7 Hunden lagen keine Serumproben vor.

Bei 25 gesunden Hunden wurden CRP-Werte zwischen 0-8,9 µg/ml (MW 2,5, M 2,2) ermittelt.

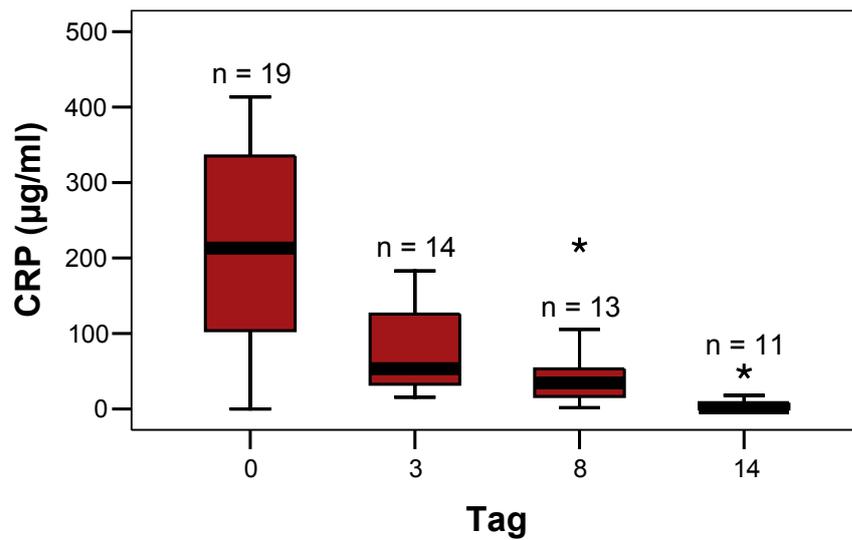
**Tabelle 34:** Veränderungen der CRP-Konzentration (µg/ml) im Serum von 22 Hunden mit pHA an Tag 0 sowie im Verlauf der Erkrankung (Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage [n = 19]; Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen [n = 2])

	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
Gesamt	0 - 413	16 - 183	2 - 217	0 - 50
Median	199	91	32	1
n	24	17	14	11
Gruppe 1	0 - 413	16 - 183	2 - 217	0 - 50
Median	213	54	34	1
n	19	14	13	11
Gruppe 2	112 - 401	102 - 127	-	-
Median	194	119	-	-
n	4	3	-	-

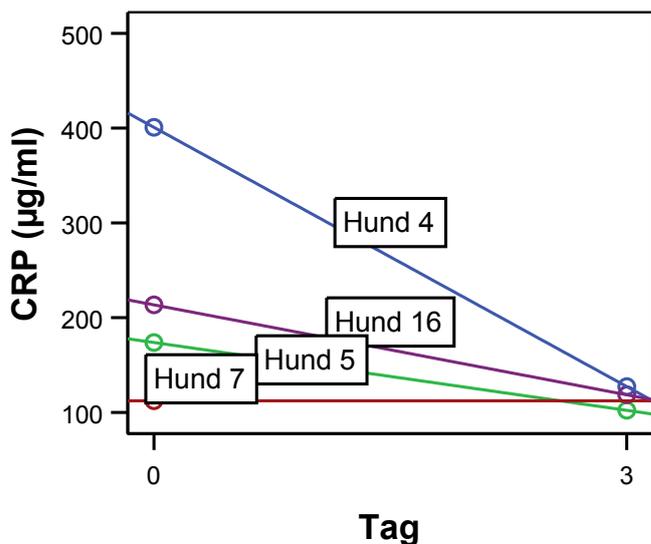
Das CRP war bei fast allen Hunden an Tag 0 stark erhöht und fiel im Verlauf ab (Tab. 57-59, Abb. 36). Zwischen Tag 0 und 3 kam es zu einem medianen CRP-Abfall von -137 µg/ml in Gruppe 1 und -95 µg/ml in Gruppe 2.



**Abbildung 35:** CRP-Werte ( $\mu\text{g/ml}$ ) bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit  $>14$  Tage und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen



**Abbildung 36:** CRP-Verläufe ( $\mu\text{g/ml}$ ) bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit  $>14$  Tage ( $n = 19$ )



**Abbildung 37:** CRP-Verläufe (µg/ml) bei Hunden mit pIHA der Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 4)

### Einzelverläufe (Tab. 57-59):

#### Gruppe 1

- Hund 9:**
- konstant erhöhte CRP-Konzentration während der ersten 14 Tage
  - Komplikation: Milznekrose
- Hund 14:**
- Rezidivierung einer IHA einige Wochen nach Absetzen der Medikamente (4 Monate nach erster Diagnosestellung)
  - bei Erstvorstellung nur leichte Anämie (Hkt 0,32 l/l)
  - CRP nur ggr. erhöht (26,5 µg/ml)
- Hund 15:**
- CRP nicht erhöht (0 µg/ml) trotz schlechten Allgemeinzustandes und DIC
  - Erklärung hierfür konnte nicht gefunden werden

#### Gruppe 2

- Hund 4:**
- CRP an Tag 3 noch sehr hoch (127 µg/ml)
  - Tod an Tag 7 mit Dyspnoe und V.a. Thromboembolie
- Hund 16:**
- an Tag 3 CRP-Wert von 119 µg/ml
  - Euthanasie an Tag 4 aufgrund eines schlechten Allgemeinzustandes

An Tag 0 konnte keine Korrelation zwischen der Höhe des CRP und der Leukozytenzahl, der Zahl der stabkernigen neutrophilen Granulozyten, dem Hämatokritwert, der Thrombozytenzahl, dem Bilirubinwert, der Höhe der Leberwerte oder den Gerinnungsparametern festgestellt werden.

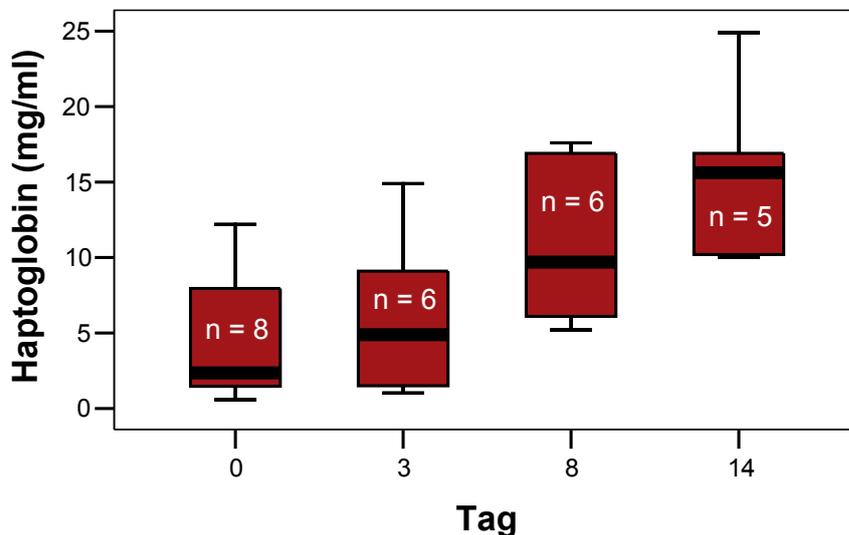
### 2.8.2. Haptoglobin (Hp)

Bei 11 Hunden wurde eine Bestimmung von Haptoglobin durchgeführt. Der Haptoglobinspiegel stieg im Verlauf der Therapie an (Tab. 35). Drei Hunde waren einmalig mit Glukokortikoiden vorbehandelt, davon 2 aus Gruppe 1 und einer aus Gruppe 2.

Bei 19 gesunden Hunden wurden Hp-Werte zwischen 0 und 2,3 mg/ml (MW 0,6, M 0,4) gemessen.

**Tabelle 35:** Veränderungen der Hp-Konzentration (mg/ml) im Serum von 11 Hunden mit pIHA im Verlauf der Erkrankung (Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage [n = 8]; Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen [n =2])

	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
Gesamt	0,6 - 12,2	1,0 - 14,9	5,2 - 17,6	10,0 - 24,9
Median	2,3	2,7	11,4	15,6
n	11	7	7	5
Gruppe 1	0,6 - 12,2	1,0 - 14,9	5,2 - 17,6	10,0 - 24,9
Median	2,4	4,9	9,7	15,6
n	8	6	6	5
Gruppe 2	1,3 - 7,3	1,7		
Median	4,3			
n	2	1		



**Abbildung 38:** Hp-Verläufe (mg/ml) bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 8)

#### Einzelverläufe (Tab. 60–62):

##### Gruppe 1

**Hund 12:** - sehr hohe Hp-Konzentration von 12,2 g/l initial, klinischer Zustand des Hundes keine Erklärung hierfür

**Hund 14:** - hohe Hp-Konzentration von 8,8 g/l initial bei nur ggr. Anämie (Rezidiv IHA, zum Zeitpunkt der Rezidivierung nicht unter Glukokortikoiden)

### Gruppe 2

**Hund 4:** - hohe Hp-Konzentration von 7,3 g/l initial  
 - Hund entwickelt intravaskuläre Hämolyse  
 - Abfall auf 1,7 g/l

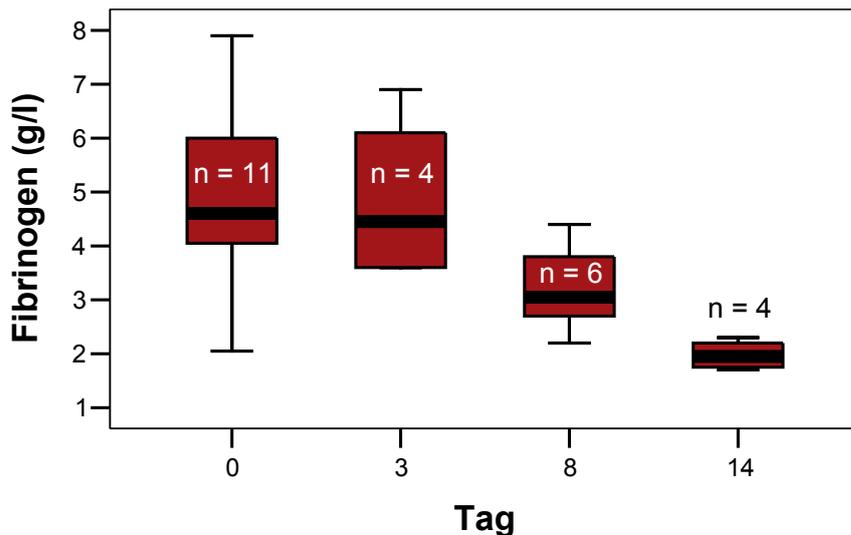
### 2.8.3 Fibrinogen

Eine Bestimmung von **Fibrinogen** erfolgte bei 15 Hunden. Die einzelnen Werte sind in den Tabellen 63-64 zusammen gefasst. Eine Erhöhung des Fibrinogenwertes >3,5 g/l lag initial bei 9 Hunden vor, alle aus Gruppe 1, eine Erniedrigung des Fibrinogens <1,8 wurde bei 2 Hunden festgestellt, beide aus Gruppe 2 (Abb. 34).

Unter der Therapie kam es in Gruppe 1 zu einem leichten Abfall der Fibrinogenwerte (M - 0,65), in Gruppe 2 jedoch zu einem Anstieg (M +0,15). Die Fibrinogenwerte in Gruppe 2 waren niedriger als die der Gruppe 1.

**Tabelle 36:** Veränderungen der Fibrinogen-Konzentration (g/l) im Zitratplasma von 14 Hunden mit pIHA im Verlauf der Erkrankung (Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage [n = 12]; Gruppe 2 = Tod innerhalb von 14 Tagen [n=3])

	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
Gesamt	1,0 - 7,9	0,6 - 6,9	2,2 - 4,4	1,7 - 3,2
Median	4,4	3,6	3,1	2,1
n	14	7	6	6
Gruppe 1	2,1 - 7,9	3,6 - 6,9	2,2 - 4,4	1,7 - 3,2
Median	4,6	4,5	3,1	2,1
n	11	4	6	6
Gruppe 2	1,0 - 3,2	0,6 - 4,2		
Median	1,4	3,3		
n	3	3		



**Abbildung 39:** Fibrinogen-Verläufe (g/l) bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 11)

## 2.9. Bestimmung von Erythropoetin (EPO)

Eine Bestimmung von EPO wurde bei 15 Hunden an Tag 0 durchgeführt. Es wurden Werte zwischen 36 und 4030 U/l gemessen (MW 1302, M 397), in Gruppe 1 Werte zwischen 36 und 3105 U/l (MW 1008, M 185) (n = 10) und in Gruppe 2 Werte zwischen 247 und 3072 U/l (MW 1356, M 1052) (n = 4) (p = 0,641).

**Tabelle 37:** Absolute Retikulozytenzahl sowie Erythropoetinwerte (U/l) bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 10)

Nr.	Hkt (l/l)	Retikulozytenzahl absolut/ $\mu$ l	EPO (U/l)
1	0,21	46260	58
2	0,14	29400	2443
3	0,22	1340	1122
6	0,21	83750	246
8	0,17	75360	123
9	0,10	20860	3105
10	0,09	5200	2844
12	0,21	161000	37
14	0,32	14580	64
15	0,28	26220	36

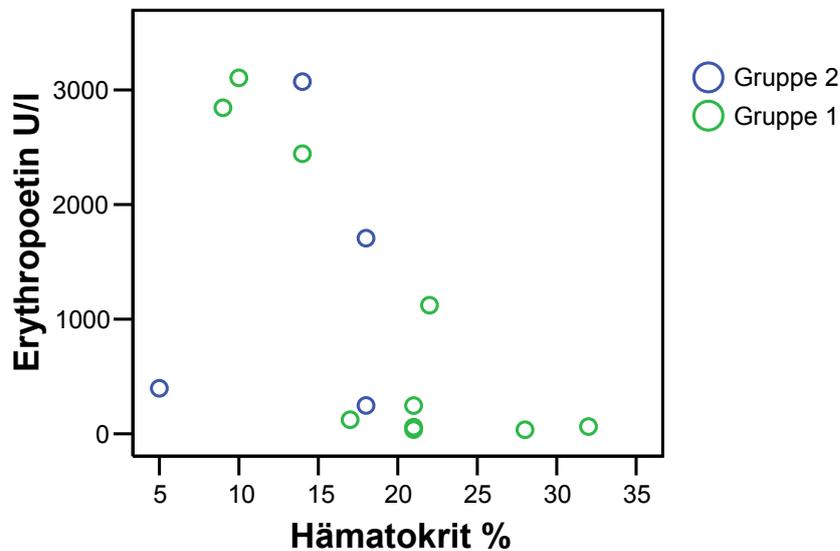
**Tabelle 38:** Absolute Retikulozytenzahl sowie Erythropoetinwerte (U/l) bei Hunden mit pIHA der Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 4)

Nr.	Hkt (l/l)	Retikulozytenzahl absolut/ $\mu$ l	EPO (U/l)
4	0,14	77800	3072
5	0,18	247520	1707
7	0,05	37400	397
16	0,18	4940	247

**Tabelle 39:** Absolute Retikulozytenzahl sowie Erythropoetinwerte (U/l) bei 1 Hund, der auf Besitzerwunsch euthanasiert wurde.

Nr.	Hkt (l/l)	Retikulozytenzahl absolut/ $\mu$ l	EPO (U/l)
13	0,09	0	4030

Es konnte kein Zusammenhang zwischen der Höhe des gemessenen EPO-Wertes und der Retikulozytenzahl oder CRP-Konzentration gefunden werden, die inverse Korrelation zwischen EPO-Wert und Hämatokritwert war jedoch statistisch signifikant ( $p = 0,011$ ).



**Abbildung 40:** Inverse Korrelation zwischen Hämatokritwert und EPO-Konzentration bei 15 Hunden mit pIHA (Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage [n = 10] und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen [n = 4]) ( $p = 0,011$ )

## 2.10. Röntgen- und Ultraschalluntersuchung

Bei allen Hunden wurde eine **Röntgenaufnahme des Abdomens** angefertigt. Bei 8 Hunden konnten keine auffälligen Befunde erhoben werden. 21 Hunde wiesen eine Splenomegalie auf, was einem Anteil von 68% entspricht. Bei 16 Hunden war die Milz nur geringgradig, bei

4 Hunden deutlich und bei einem Hund hochgradig vergrößert. Sechs der 21 Hunde mit Splenomegalie hatten zusätzlich eine Hepatomegalie, bei 2 Hunden lag eine Hepatomegalie ohne Milzvergrößerung vor.

Bei allen Hunden wurde zum Ausschluss einer Neoplasie eine **sonographische Untersuchung** des Abdomens durchgeführt. An Auffälligkeiten konnten ausser einer homogenen Hepato- und/oder Splenomegalie folgende Befunde erhoben werden:

**Hund 8:** - kleine hypoechogene Struktur in einer normal grossen Milz und ggr. freie Flüssigkeit

**Hund 16:** - hochgradig vergrößerte und ggr. fleckig veränderte hyperechoische Leber mit Sludge in und einem Flüssigkeitssaum um die Gallenblase

Bei allen Hunden wurden **Röntgenaufnahmen des Thorax** angefertigt. Bei keinem Hund gabe es Hinweise auf eine der IHA zugrunde liegende Grunderkrankung.

## 2.11. Therapie

30 Patienten wurden zwischen 1 und 15 Tagen (MW 6,7, M 7) **stationär** behandelt (Tab. 40).

**Tabelle 40:** Dauer des stationären Aufenthaltes bei 31 Hunden mit pIHA, Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21), Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 8) und Hunde, die auf Besitzerwunsch euthanasiert wurden

Stationärer Aufenthalt (Tage)	Gruppe 1	Gruppe 2	Euthanasiert
0 Tage	1		
1 Tag			1
2 Tage		1	
3 Tage	2		
4 Tage		3	
5 Tage	2	1	
6 Tage	1	1	1
7 Tage	2	1	
8 Tage	4		
9 Tage	5		
10 Tage	2		
11 Tage	2		
14 Tage		1	

26 Hunde erhielten eine unterschiedliche Anzahl an **Bluttransfusionen** über einen Zeitraum von 1 bis 14 Tagen (M 3, MW 4). Hunde der Gruppe 1 (n = 16) erhielten Transfusionen über einen Zeitraum von 1 bis 7 Tagen (M 2, MW 3), Hunde der Gruppe 2 (n = 8) über einen Zeitraum von 1 bis 14 Tagen (M 5, MW 6) (p = 0,032). Alle 26 Hunde erhielten Erythrozytenkonzentrat. 6 Hunde erhielten zusätzlich Vollbluttransfusionen, davon 2 aus

Gruppe 1, einer davon mit einer Thrombozytopenie und Blutungen in die Zahnfächer, ein anderer mit DIC. Acht Hunde bekamen zusätzlich wegen DIC-Verdacht frisch gefrorenes Plasma (FFP), davon 6 aus Gruppe 2 und 2 aus Gruppe 1. Hunde der Gruppe 1 erhielten insgesamt zwischen 0 und 33 ml/kg (M 12, MW 13), Hunde der Gruppe 2 zwischen 7 und 98 ml/kg (M 22, MW 29) Erythrozytenprodukte (Erythrozytenkonzentrat und Vollblut) ( $p = 0,075$ ). Hunde der Gruppe 1 erhielten zwischen 0 und 19 ml/kg (M 0, MW 2), Hunde der Gruppe 2 zwischen 9 und 17 ml/kg (M 9, MW 17) Plasmaprodukte (FFP und Vollblut) ( $p = 0,004$ ) (Tab. 41-43).

**Tabelle 41:** Gesamtmenge (ml/kg) der Blut- und Plasmatransfusionen bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21)

Hund	Erythrozytenprodukte	Plasmaprodukte	Zeitraum (Tage)
1	21 ml/kg	-	5
2	7 ml/kg	-	1
3	12 ml/kg	-	3
6	22 ml/kg	-	2
8	-	-	-
9	-	-	-
10	32,5 ml/kg	18,5 ml/kg	2
12	-	-	-
14	-	-	-
15	12,5 ml/kg	9,5 ml/kg	1
17	18 ml/kg	10 ml/kg	7
18	32 ml/kg	-	6
19	10 ml/kg	-	3
22	5 ml/kg	-	1
23	11 ml/kg	-	1
25	-	-	-
26	30 ml/kg	8 ml/kg	2
27	19 ml/kg	-	3
28	26 ml/kg	-	4
30	5 ml/kg	-	1
31	17 ml/kg	-	2

**Tabelle 42:** Gesamtmenge (ml/kg) der Blut- und Plasmatransfusionen bei Hunden mit pIHA der Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 8)

Hund	Erythrozytenprodukte	Plasmaprodukte	Zeitraum (Tage)
4	19 ml/kg	-	8
5	24 ml/kg	5 ml/kg	7
7	22,5 ml/kg	10,5 ml/kg	3
16	11 ml/kg	-	1
20	97,5 ml/kg	79,5 ml/kg	14
21	29 ml/kg	18 ml/kg	4
24	7 ml/kg	7 ml/kg	4
29	22 ml/kg	11 ml/kg	5

**Tabelle 43:** Gesamtmenge (ml/kg) der Blut- und Plasmatransfusionen bei Hunden mit pIHA, die auf Besitzerwunsch euthanasiert wurden (n = 2)

Hund	Erythrozytenprodukte	Plasmaprodukte	Zeitraum (Tage)
11	12 ml/kg	-	1
13	6 ml/kg	-	14

Alle Hunde wurden mit Vollelektrolytlösungen (z.T. mit Kaliumzusatz) infundiert. Die Dauer der **Infusionstherapie** betrug zwischen 0 und 15 Tagen (M 6, MW 6), in Gruppe 1 zwischen 0 und 10 Tagen (M 7, MW 7) und in Gruppe 2 zwischen 2 und 14 Tagen (M 5,5, MW 7).

Alle Hunde wurden antibiotisch behandelt (Tab. 44).

**Tabelle 44:** Verabreichte Antibiotika bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21), Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 8) und der Hunde, die auf Besitzerwunsch euthanasiert wurden (n = 2)

Antibiotikum	Gruppe 1	Gruppe 2	Euthanasiert
Doxycyclin	12	2	1
Amoxicillin/Clav.	8	0	
Enrofloxacin	1	0	
Amoxicillin/Clav. + Enrofloxacin	0	3	1
Doxycyclin + Amoxicillin/Clav. + Marbofloxacin	0	1	
Doxycyclin + Amoxicillin/Clav. + Enrofloxacin	0	2	

Alle Patienten erhielten zu Beginn und unter der Therapie mit Prednisolon den H<sub>2</sub>-Rezeptorantagonisten Ranitidin. Sieben Hunde erhielten zusätzlich Sucralfat. Bei 2 Hunden wurde Ranitidin nach 8 bzw. 12 Tagen durch Omeprazol ersetzt.

Bei allen Hunden wurde nach Diagnosestellung eine **immunsuppressive Therapie** mit Prednisolon oder Prednisolon und Ciclosporin eingeleitet.

**Tabelle 45:** Behandlungsgruppen von 31 Hunden mit pIHA innerhalb der einzelnen Gruppen (Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage [n = 21], Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen [n = 8], Hunde, die auf Besitzerwunsch euthanasiert wurden [n = 2])

Behandlungsgruppe	Gruppe 1	Gruppe 2	Euthanasiert
Prednisolon	9	4	1
Prednisolon + Ciclosporin	12	4	1

Bei 1 Hund wurde Ciclosporin 1 Woche nach Behandlungsbeginn dazu gegeben (Hund auf Besitzerwunsch euthanasiert). Alle anderen Hunde der Behandlungsgruppe Prednisolon+Ciclosporin erhielten Ciclosporin von Beginn an.

Zehn Hunde erhielten zusätzlich **Heparin**, davon 4 aus Gruppe 1 und 5 aus Gruppe 2. Bei 5 Hunden wurde Heparin von Beginn der Therapie an verabreicht, bei 5 Hunden wurde erst 1, 2, 3 und 5 Tage nach Therapiebeginn mit der Heparinabgabe begonnen, davon verstarben 4 Hunde. Die verabreichte Heparinmenge/kg lag insgesamt bei 3x täglich zwischen 47 und 100 IU Heparin/kg (M 60, MW 66), in Gruppe 1 im Median bei 61, in Gruppe 2 bei 50 IU/kg.

### **3. Histopathologische Untersuchung**

Bei 3 Hunden wurde eine histopathologische Untersuchung eingeleitet.

#### **Hund 7:**

- Verstorben an Tag 2 nach Behandlungsbeginn mit Krämpfen, Arrhythmien und DIC
- pathologische Befunde: hochgradiger Ikterus, Hämosiderinablagerungen in Lunge, Leber, Nieren und Milz, rotes Knochenmark fast vollständig durch Fettmark ersetzt, Immunkomplex-Glomerulonephritis mit nachfolgender urämischer Gastritis, urämisch katharralischer Jejunitis und Colitis, chronisch-urämische Pneumonie, Cor pulmonale, Hydroperikard; Todesursache: vermutlich hypovolämischer Schock.

#### **Hund 20:**

- Euthanasie an Tag 14 aufgrund seines schlechten Allgemeinzustandes mit V.a. Hirnblutung
- pathologische Befunde: im zerebralen Cortex Gehirnblutung mit resultierender Polioencephalomalazie, Blutungen in andere Organe sowie Darm, hochgradiger Ikterus, Gallenkanalikulistau nach Zirrhose, Ursache der Leberzirrhose: vermutlich chronischer, toxisch-degenerativer Prozess ohne erkennbare Ätiologie, keine Hinweise auf Thrombenbildung in der Lunge

#### **Hund 24:**

- verstorben an Tag 4 mit Verdacht auf Multiorganversagen
- pathologische Befunde: hgr. Ikterus, Nieren: hgr. Pigmentnephrose, mgr. Tubulusepithelnekrosen, mgr. medulläre, multifokale Fibrose, Milz: mgr. pulpöse Hyperplasie, mgr. Hämosiderose, mgr. Erythrophagozytose; Leber: mgr. Hämosiderose, ggr. periportale Fibrose, ggr. Gallengangsproliferation, Todesursache ist eine akute, hämolytische Anämie.

## V. DISKUSSION

Bei 31 Hunden wurde die Diagnose einer primären IHA aufgrund des Vorliegens einer Anämie, dem Ausschluss möglicher zugrunde liegender Erkrankungen, einem positiven Coombs-Test (n = 30) bzw. dem Vorliegen persistierender Objektträgeragglutination (n = 1), dem Nachweis von zahlreichen Sphärozyten im Blutaussstrich (n = 20), makroskopischer Objektträgeragglutination (n = 29), die jedoch nur bei einem Patienten mikroskopisch nach dem Waschen persistierte und dem Ansprechen auf die immunsuppressive Therapie (n = 21) gestellt. Bei einem Hund war die Durchführung eines Coombs-Test aufgrund persistierender Autoagglutination nicht möglich. Eine Autoagglutination, die auch nach dreimaligem Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung persistiert, ist jedoch nahezu pathognomisch für eine IHA (GIGER, 2005).

Um verschiedene Parameter wie PCV bei Erstvorstellung, Bilirubinkonzentration, Leberwerte und Gerinnungsparameter im Hinblick auf die Kurzzeit-Prognose bei Hunden mit pIHA untersuchen zu können, wurden die Hunde in 2 Gruppen aufgeteilt: Gruppe 1 bestand aus Hunden, die die ersten 14 Tage überlebten (n = 21), Gruppe 2 aus denen, die vor Tag 14 verstarben bzw. aufgrund eines sehr schlechten Allgemeinzustandes euthanasiert wurden (n = 8). Zwei Hunde wurden auf Besitzerwunsch euthanasiert und konnten keiner der beiden Gruppen zugeordnet werden. In anderen Studien, die sich mit der Prognose bei IHA beschäftigen, wurde der Untersuchungszeitraum für die Kurzzeit-Letalität definiert als die Dauer des stationären Aufenthaltes: Hunde die entlassen werden konnten, galten als Überlebende. Demgegenüber standen Hunde, die während des stationären Aufenthaltes verstarben oder euthanasiert wurden. Die Dauer des stationären Aufenthaltes lag in den einzelnen Studien zwischen 1 und 17 Tagen (M 6) (BURGESS et al., 2000), 1 und 19 Tagen (M 6) (WEINKLE et al., 2005) und durchschnittlich 6,5 Tagen (REIMER et al., 1999), während in einer Untersuchung keine Angaben zur Dauer des stationären Aufenthaltes gemacht wurden (KLAG et al., 1993). Die meisten Studien, die sich mit IHA beschäftigen, sind retrospektive Studien. In einigen Fällen war schwierig nachzuvollziehen, ob die Euthanasie eines Tieres wirklich aufgrund einer aussichtslosen Prognose oder aber doch auf Besitzerwunsch, aus Geldgründen, etc. durchgeführt wurde (CARR et al., 2002).

### 1. Signalement

Rassen wie Amerikanischer Cocker Spaniel, Englischer Cocker Spaniel, Irish Setter, Zwergpinscher, Pudeln, Collies, Englischer Springer Spaniel, Labrador Retriever,

Zwergschnauzer, Bobtail, Finnische Spitze, Bichon Frisé und Shih Tzu sollen prädisponiert sein, an einer IHA zu erkranken (DODDS, 1977; KLAG et al., 1993; KELLERMAN et al., 1995; REIMER et al., 1999; BURGESS et al., 2000; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001; CARR et al., 2002; ENGELBRECHT et al., 2002; DAVIDOW und ONCKEN, 2004; MILLER et al., 2004; GIGER, 2005; WEINKLE et al., 2005). Aufgrund der geringen Fallzahl in unserer Studie konnte keine Aussage hinsichtlich der Überrepräsentation einer einzelnen Rasse getroffen werden, allerdings waren Cocker Spaniel ebenso wie Deutscher Schäferhund mit 2 Hunden vertreten. Auffallend war der hohe Anteil an Rauhhaarteckeln ( $n = 3$ ), eine Prädisposition für Rauhhaarteckel ist bisher in der Literatur nicht angegeben. Mischlingshunde waren ebenfalls in einer hohen Zahl vertreten ( $n = 7$ ). Ähnliches fand auch PRÜFER (1995), wo unter 41 Hunden die Mischlingshunde mit 12 Patienten die Rassehunde übertrafen.

Mittelalte weibliche Tiere sind laut Literaturangaben häufiger betroffen als männliche (DODDS, 1977; JACOBS et al., 1984; JACKSON und KRUTH, 1985; KELLERMAN et al., 1995; SCOTT-MONCRIEFF, 2001; CARR et al., 2002; MILLER et al., 2004; WEINKLE et al., 2005), in anderen Studien war das Geschlechterverhältnis jedoch ausgeglichen (KLAG et al., 1993) oder leicht zugunsten der männlichen jungen und mittelalten Tiere verschoben (ENGELBRECHT et al., 2002). In unserer Studie war das Geschlechterverhältnis mit 15 weiblichen und 14 männlichen Hunden nahezu ausgeglichen. In der Altersgruppe der Hunde bis 6 Jahre überwog eindeutig der Anteil der weiblichen Patienten. In der Gruppe der Hunde ab 7 Jahre waren hingegen die männlichen Tiere stärker vertreten. Dahingegen überwogen in einer Studie von ENGELBRECHT et al. (2002) bei den Hunden unter 9 Jahren die männlichen, bei denen über 10 Jahren die weiblichen Tiere. In Gruppe 1 waren mehr weibliche ( $n = 12$ ), in Gruppe 2 mehr männliche ( $n = 5$ ) Hunde vertreten. Eine schlechtere Prognose für männliche Hunde lässt sich hieraus jedoch nicht ableiten. Das mittlere Alter betroffener Hunde wird in der Literatur mit 1 bis 13 Jahren beschrieben (KLAG et al., 1993). Die Altersverteilung in unserer Studie lag zwischen 0,5 und 13 Jahren (Median 7) und korreliert damit mit den Angaben in der Literatur.

## **2. Befunde bei Erstvorstellung**

### **2.1. Anamnese**

Die Dauer der Symptome bis zur Erstvorstellung wurde mit im Median 3 Tagen angegeben (1-60). Bei 19 Hunden (61%) bestanden die Symptome bereits seit 3 Tagen oder länger, davon 38% aus Gruppe 2 und 62% aus Gruppe 1. Die Dauer der Symptome bis zur

Erstvorstellung hatte keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben. In einer Studie von KLAG et al. (1993) mit 42 Hunden wurde die Dauer der Symptome mit im Median 4 Tagen (1-180) angegeben, wobei bei 38 Hunden (98%) die Symptome seit 3 Tagen oder länger bestanden. Elf Hunde (jeweils ca. 1/3 aus jeder Gruppe) waren bereits mit Glukokortikoiden vorbehandelt worden, davon 8 Hunde nur einmalig. Diese Tatsache wurde bei jedem Hund vermerkt und bei Beurteilung der Leberwerte berücksichtigt. BURGESS et al. (2000) erklärten eine Erhöhung der Leberwerte z.T. mit einer steroidinduzierten Hepatopathie, da 17% der Hunde mit Glukokortikoiden vorbehandelt worden waren, jedoch wurde keine Angabe zur Dauer der Glukokortikoidgabe gemacht und die Leberwerte wurden nicht gesondert untersucht. Auch in einer Studie von REIMER et al. (1999), in der eine Erhöhung der AP erstmals als negativer prognostischer Faktor galt, wurde keine genaue Angabe zur Vorbehandlung mit Glukokortikoiden gemacht. Erklärungsversuch für die signifikante AP-Erhöhung war eine höhere Wahrscheinlichkeit der Überweisung von Hunden mit schwerer IHA, die nicht gut auf die Kortisontherapie ansprachen, jedoch wurde dieser Zusammenhang in früheren Studien aus anderen Überweisungskliniken nicht gefunden. In einer weiteren Studie von CARR et al. (2002) wurden die Leberwerte der Hunde, die länger als 48 Stunden mit Kortikosteroiden vorbehandelt worden waren, aus der Bewertung ausgeschlossen. Andere Autoren erwähnten die Vorbehandlung mit Glukokortikoiden nicht (WEINKLE et al., 2005).

## **2.2. Klinische Befunde**

In vorliegender Studie wurden häufig Apathie, Anorexie, Inappetenz, blasse Schleimhäute, Vomitus, Fieber, gering- bis hochgradiger Ikterus, Tachykardie und Tachypnoe festgestellt, was mit vorherigen Untersuchungen übereinstimmt (KLAG et al., 1993; HONECKMAN, 1997; REIMER et al., 1999; BURGESS et al., 2000; ENGELBRECHT et al., 2002). Eine Hepatomegalie und/oder Splenomegalie wurde bei 20 von 31 Hunden festgestellt. In anderen Studien war dieser Anteil mit 10 von 10 (SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001) und 12 von 15 Hunden (ENGELBRECHT et al., 2002) höher, in einer anderen mit nur 25% der Patienten deutlich niedriger (KLAG et al., 1993).

## **2.3. Coombs-Test**

Um die Diagnose IHA stellen zu können, sollte der Coombs-Test positiv sein (GIGER, 2005). In verschiedenen Studien war ein IgG-positives Testergebnis der häufigste Befund (KLAG et al., 1993; ENGELBRECHT et al., 2002), in einer weiteren Studie war ein positives Ergebnis für IgG und C3 am häufigsten (SLAPPENDEL, 1979). In unserer Studie waren ebenfalls 25

von 30 Hunden IgG-positiv. Es liess sich keine Aussage hinsichtlich Schwere der Erkrankung und Typ der antierythrozytären Antikörper treffen, alle Hunde aus Gruppe 2 hatten ein lediglich IgG-positives Testergebnis.

#### **2.4. Hämatologische Untersuchungen**

In verschiedenen Studien lag der **Mikro-Hkt** bei Erstvorstellung zwischen 4 und 35% (REIMER et al., 1999; CARR et al., 2002; ENGELBRECHT et al., 2002; WEINKLE et al., 2005). In unserer Studie lag der Mikro-Hkt-Wert bei 31 Hunden zwischen 0,05 und 0,32 l/l (M 0,16). Eine schwere Anämie mit einem Mikro-Hkt <0,20 l/l lag bei 23 Tieren (74%) vor. KLAG et al. (1993) stellten eine schwere Anämie <20 % bei 88% der Patienten fest.

In Gruppe 1 und 2 war der Mikro-Hkt-Wert bei Erstvorstellung mit im Median 0,17 l/l bzw. 0,16 l/l nahezu identisch. Auch WEINKLE et al. (2005) fanden keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. In Studien von SWITZER und JAIN (1981) sowie KLAG et al. (1993) war ein niedriger Hkt-Wert von <10% bzw. von  $13 \pm 2,2\%$  jedoch mit einer signifikant höheren Letalität verbunden. In vorliegender Studie stieg der Mikro-Hkt in Gruppe 1 zwischen Tag 0 und 3 an, in Gruppe 2 kam es hingegen zu einem Hkt-Abfall. Der Unterschied des Hb-Spiegels zwischen Tag 0 und 3 war signifikant zwischen den Gruppen. Erklärungsversuche für den Mikro-Hkt- bzw. Hb-Abfall in Gruppe 2 sind eine hochgradige Hämolyse, eine unzureichende Gabe von Bluttransfusionen und/oder Blutungen im Rahmen einer DIC. Hinsichtlich der Erythrozytenzahlen gab es weder initial noch im Verlauf einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen, jedoch müssen die Erythrozytenzahlen wegen der in den meisten Fällen vorliegenden Agglutination mit Vorsicht interpretiert werden.

In der vorliegenden Arbeit hatten 23 Hunde eine extravaskuläre, 8 eine **intravaskuläre Hämolyse**. Von den 8 Hunden mit intravaskulärer Hämolyse starben 5. In einer Studie von DIEHL (1996) ging das Vorliegen einer intravaskulären Hämolyse mit einer schlechten Prognose einher: 16 von 20 Hunden mit intravaskulärer Hämolyse starben oder wurden euthanasiert. In weiteren Untersuchungen starben 4 von 5 (MILLS et al., 1985) bzw. 2 von 9 Hunden (BENNETT et al., 1981) mit intravaskulärer Hämolyse.

Zur Beurteilung der **Erythrozytenmorphologie** wurden bei 25 Hunden Blutausstriche beurteilt, bei den restlichen Hunden waren die Ausstriche wegen hochgradiger Agglutination z.T. schwer beurteilbar. 88% der Hunde wiesen eine Polychromasie auf, was auf eine Regeneration hindeutet. Schistozyten konnten bei nur 3 Hunden (12%) gefunden werden, wobei einer dieser Hunde eine DIC aufwies. Bei 84% der Hunde wurden Sphärozyten im

Blutausstrich nachgewiesen, bei 20% lag eine hochgradige Sphärozytose vor, bei 28% nur eine geringgradige. In verschiedenen Studien konnten bei 67-95 % der Hunde Sphärozyten gefunden werden (KLAG et al., 1993; REIMER et al., 1999; BURGESS et al., 2000; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001; CARR et al., 2002; WEINKLE et al., 2005). In einer Studie mit 151 Tieren hatten Hunde mit Sphärozytose klinisch-pathologische Anzeichen einer schwereren Erkrankung als Hunde, bei denen keine Sphärozyten im Blutausstrich nachgewiesen werden konnten. Die Letalität war nicht signifikant höher (WEINKLE et al., 2005). In unserer Studie konnten Sphärozyten bei 66% der Hunde aus Gruppe 2 und 78% der Hunde aus Gruppe 1 gefunden werden, die Schwere der Erkrankung korrelierte nicht mit der Anzahl der Sphärozyten.

Eine **Autoagglutination**, die auch nach dreimaligem Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung persistiert, ist nahezu pathognomisch für eine IHA (GIGER, 2005). In verschiedenen Studien wurde bei 40-100% der Hunde mit IHA eine Erythrozytenagglutination festgestellt (BURGESS et al., 2000; SCOTT-MONCRIEFF, 2001; CARR et al., 2002; DAVIDOW und ONCKEN, 2004; WEINKLE et al., 2005), die jedoch lediglich definiert wurde als persistierende Agglutination nach Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung. In einer Studie von REIMER et al. (1999) fand nicht bei allen Hunden eine Zugabe von physiologischer Kochsalzlösung statt, um eine Rouleauxbildung auszuschliessen. ENGELBRECHT et al. (2002) fanden bei 23 Hunden mit pIHA eine makroskopische Erythrozytenagglutination, wobei nur bei 1 Hund die Objektträgeragglutination nach 3xigem Waschen persistierte. In vorliegender Studie wurde eine unterschiedlich starke makroskopische Objektträgeragglutination bei 94% der Hunde festgestellt. Nach dem Waschen der Erythrozyten persistierte die Agglutination nur bei einem Patienten aus Gruppe 2. In 2 Studien persistierte die Agglutination bei 10% (n = 42) (KLAG et al., 1993) und 52% (n = 58) (DUVAL und GIGER, 1996) der Hunde nach dreimaligem Waschen mit PBS. In verschiedenen Studien war das Vorliegen einer persistierenden Autoagglutination (DUVAL und GIGER, 1996) bzw. Autoagglutination (WEINKLE et al., 2005) assoziiert mit einer signifikant höheren Letalität.

Patienten mit IHA haben in den meisten Fällen eine leichte bis schwere **Leukozytose** mit Linksverschiebung und toxisch veränderten neutrophilen Granulozyten, was sich durch ischämisch oder hypoxisch bedingte Gewebnekrosen erklären lässt (McMANUS und CRAIG, 2001). In einer Studie wiesen 69 von 70 Hunden eine Leukozytose auf (REIMER et al., 1999). Eine Leukozytose >60 G/l gilt ebenso als negativer prognostischer Faktor für das Überleben der Tiere wie eine Zahl an stabkernigen neutrophilen Granulozyten >3.000/ $\mu$ l

(BURGESS et al., 2000; WEINKLE et al., 2005). In vorliegender Studie lag die mediane Gesamtleukozytenzahl bei Erstvorstellung bei 24 G/l. Bei Hunden der Gruppe 2 kam es an Tag 3 zu einem signifikanten medianen Anstieg der Gesamtleukozytenzahl, während die Leukozytenzahl bei Hunden der Gruppe 1 in etwa konstant blieb. 88% der Hunde aus Gruppe 2 und 81% aus Gruppe 1 hatten initial eine Linksverschiebung. An Tag 3 kam es in beiden Gruppe zu einem starken Anstieg der stabkernigen neutrophilen Granulozyten, ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen lag jedoch nicht vor. Somit konnte ein Anstieg der Leukozytenzahl im Verlauf der Behandlung als negativer prognostischer Faktor identifiziert werden.

In einigen Fällen einer IHA liegt zusätzlich eine **Thrombozytopenie** vor. Ursachen einer Thrombozytopenie bei Hunden mit IHA können eine DIC, eine Sequestration der Thrombozyten in der Milz, eine immunbedingte Zerstörung (Evans' Syndrom) oder eine unzureichende Neubildung (immunbedingt oder aufgrund von Chemotherapeutika) sein. Die letzten beiden Ursachen bei Hunden mit Thrombozytopenie unserer Studie waren aufgrund einer genauen Anamneseerhebung und der Bestimmung von thrombozytengebundenen Antikörpern unwahrscheinlich. Studien beschreiben eine Thrombozytopenie bei 67-70% der Hunde (KLAG et al., 1993; BURGESS et al., 2000; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001). In verschiedenen Studien galt Thrombozytopenie als negativer prognostischer Faktor mit höherer Letalität (WEINKLE et al., 2005) und erhöhtem Risiko der Entwicklung von Thromboembolien (CARR et al., 2002). In vorliegender Studie hatten 61% eine Thrombozytopenie unter 165.000/ $\mu$ l und bei 10% konnte eine Thrombozytose von >400.000/ $\mu$ l festgestellt werden. 9 Hunde mit erniedrigten Thrombozytenzahlen hatten eine DIC, davon 7 aus Gruppe 2. Hunde der Gruppe 2 hatten bei Erstbestimmung signifikant niedrigere Thrombozytenzahlen als Hunde der Gruppe 1. Während die Thrombozytenzahlen in Gruppe 1 unter der Behandlung im Verlauf anstiegen, kam es in Gruppe 2 zu einem weiteren Abfall, der jedoch nicht signifikant war. Somit war eine initiale Thrombozytopenie in vorliegender Studie mit einer erhöhten Letalität assoziiert.

Die meisten Fälle einer IHA sind regenerativ. Ein Fehlen von **Retikulozyten** schliesst eine IHA jedoch nicht aus, da es zu einer Immunantwort auch gegen die Vorläuferzellen kommen kann, zu einer Hemmung der Erythropoese und bei einer akuten Anämie erst nach ca. 3 Tagen Retikulozyten im Blut nachgewiesen werden können (HONECKMAN, 1997; KOHN und GIGER, 2001). In unterschiedlichen Studien wurde die Anämie bei 38-71% der Hunde als stark regenerativ (KLAG et al., 1993; REIMER at al., 1999; BURGESS et al., 2000; ENGELBRECHT et al., 2002; SCOTT-MONCRIEFF, 2001; WEINKLE et al., 2005), bei 10-

35% als leicht regenerativ (KLAG et al., 1993; SCOTT-MONCRIEFF, 2001; ENGELBRECHT et al., 2002) und bei 26-58% (BURGESS et al., 2000; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001; ENGELBRECHT et al., 2002; WEINKLE et al., 2005) als nicht regenerativ beschrieben. In verschiedenen Studien galt eine niedrige Retikulozytenzahl als negativer prognostischer Faktor (SWITZER und JAIN, 1981; KLAG et al., 1993). In vorliegender Studie war die Anämie bei 46,6% nicht regenerativ, 16,6% schwach regenerativ und 36,6% mässig bis stark regenerativ. Die Zahl der Retikulozyten in Gruppe 2 war initial etwas höher als in Gruppe 1. Die mediane Zahl der Retikulozyten stieg im Verlauf der Therapie bei beiden Gruppen bis Tag 8 deutlich an. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen lag nicht vor. Nur 2 Hunde, die initial nicht regenerativ waren, zeigten auch nach Tag 4 keine Regeneration, davon wurde einer auf Besitzerwunsch euthanasiert und einer konnte entlassen werden.

## **2.5. Klinisch-chemische Blutuntersuchung**

Verschiedene klinisch-chemische Parameter können Hinweise geben auf evtl. hypoxisch bedingte Multiorganschäden und den Schweregrad der Erkrankung. In verschiedenen Studien wurden unterschiedliche blutchemische Parameter wie Hypokaliämie, ALT- und AP-Erhöhung, Hyperbilirubinämie, Hypoproteinämie und Hypoalbuminämie als negative prognostische Faktoren identifiziert.

In einer Studie von WEINKLE et al. (2005) wurde eine **Hypokaliämie** <3,5 mmol/l als negativer prognostischer Faktor identifiziert. Hypokaliämie kann zu Vasokonstriktion führen und so das Risiko für Thromboembolien und Multiorganschäden aufgrund von Ischämie/Hypoxie erhöhen (COHN et al., 2000). In vorliegender Studie konnte ein solcher Zusammenhang nicht gefunden werden, der Kaliumwert lag bei Hunden der Gruppe 2 sogar höher als bei Hunden aus Gruppe 1.

In unserer Studie hatten 4 Hunde (19%) aus Gruppe 1 und 5 Hunde (62,5%) aus Gruppe 2 eine **Azotämie** mit einem erhöhten Harnstoff und/oder Kreatininwert. Bei Hunden aus Gruppe 2 kam es im Verlauf der Erkrankung zu einem signifikanten Anstieg des Harnstoffs, der Kreatininwert blieb konstant. Bei Hunden aus Gruppe 1 sanken die Nierenwerte im Verlauf der Therapie ab. Das Absinken der Nierenwerte bei Hunden aus Gruppe 1 lässt sich durch eine evtl. vorhandene prärenale Azotämie bei Erstvorstellung erklären. Ein Erklärungsversuch für das Ansteigen der Nierenwerte bei einigen Hunden aus Gruppe 2 ist eine erhöhte Proteinverdauung aufgrund von Magen-Darm-Blutungen mit nachfolgendem isolierten Harnstoffanstieg. Ein weiterer Erklärungsversuch wäre eine mögliche ggr.

Dehydratisierung der Hunde. Bei Verminderung der GFR kommt es zunächst zu einem Anstieg von Harnstoff. Evtl. verstarben Hunde aus Gruppe 2, bevor es zu einem Anstieg von Kreatinin kommen konnte. Somit war ein Ansteigen von Harnstoff zwischen Tag 0 und 3 mit einer signifikant höheren Letalität assoziiert, initial gab es jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.

In einer Studie von WEINKLE et al. (2005) hatten Hunde, die bis zur Entlassung überlebten (n = 113), initial eine signifikant niedrigere **ALT**-Konzentration (M 42 U/l) als Hunde, die verstarben (M 104 U/l) (n = 37). Leider wurde keine Angabe gemacht, in wieweit die Hunde bereits mit Kortikosteroiden vorbehandelt waren. In einer anderen Studie war die **ALT**-Konzentration hingegen nicht mit einer erhöhten Mortalität assoziiert (REIMER et al., 1999). In unserer Studie lag insgesamt ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der **ALT**-Konzentration zwischen den beiden Gruppen vor, betrachtet man jedoch nur die nicht mit Glukokortikoiden vorbehandelten Hunde, so war dieser Unterschied nicht signifikant.

Hunde der Gruppe 2 hatten einen deutlich höheren medianen **AST**-Wert als Hunde der Gruppe 1, was einem statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen entsprach. Schloss man die mit Glukokortikoiden vorbehandelten Hunde aus, so erreichte dieser Unterschied ebenfalls statistische Signifikanz (p = 0,058). Ein erhöhter **AST**-Wert wurde bisher in der Literatur nicht als negativer prognostischer Marker beschrieben.

Eine **GLDH**-Erhöhung ist bisher in der Literatur nicht als negativer prognostischer Faktor beschrieben, wird jedoch im angloamerikanischen Sprachraum kaum bestimmt. In unserer Studie konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen gefunden werden. Jedoch war die mediane **GLDH**-Konzentration in Gruppe 2 deutlich höher als bei Hunden der Gruppe 1.

REIMER et al. (1999) identifizierten eine Erhöhung des **AP**-Wertes auf im Median 318 U/l als negativen prognostischen Faktor. In unserer Studie wiesen zwar alle Hunde der Gruppe 2 eine **AP**-Erhöhung auf, jedoch war die mediane **AP**-Konzentration bei Hunden der Gruppe 1 höher als bei Hunden der Gruppe 2. Schliesst man die mit Glukokortikoiden vorbehandelten Hunde aus, so war die **AP**-Konzentration im Median bei beiden Gruppen nahezu identisch.

In verschiedenen Studien wurde ein erhöhter **Bilirubinspiegel** bereits als negativer prognostischer Faktor identifiziert (KLAG et al., 1993; DUVAL und GIGER, 1996; REIMER et al., 1999; CARR et al., 2002; DAVIDOW und ONCKEN, 2004; WEINKLE et al., 2005). Hyperbilirubinämie bei Hunden mit IHA entsteht durch erhöhte Freisetzung von Bilirubin gepaart mit erniedrigter hepatischer Clearance aufgrund von Leberzellnekrosen durch Hypoxie, Ischämie, Thromboembolismus oder Endothelschäden aufgrund von massiver

Hämoglobinämie (McMANUS und CRAIG, 2001). Auch in unserer Studie war das Bilirubin bei Hunden der Gruppe 2 initial signifikant höher als bei Hunden der Gruppe 1. Im Verlauf der Erkrankung kam es bis zum Tag 3 in Gruppe 1 nur zu einem leichten Anstieg von Bilirubin, während sich der Bilirubinwert bei Hunden der Gruppe 2 stark erhöhte. Somit waren sowohl ein initial erhöhter Bilirubinspiegel als auch ein starker Anstieg des Bilirubinwertes im Verlauf der Erkrankung mit einer signifikant höheren Letalität assoziiert.

Eine **Hypoalbuminämie** bei Hunden mit IHA kann durch verschiedene Mechanismen entstehen. Albumin ist ein negatives Akute-Phase-Protein, dessen Produktion während der Akute-Phase-Antwort zugunsten positiver APPs herunterreguliert wird. Weiterhin kann es bei Leberschädigung zu einer verminderten Albuminsynthese in der Leber kommen. Auch eine Proteinurie aufgrund einer durch Hämoglobinurie, Ischämie und/oder Hypoxie entstandenen Nierenschädigung sowie ein Proteinverlust über den Darm, das Gefäßsystem oder durch Blutungen beispielsweise bei einer DIC führen zu einem erniedrigten Albuminspiegel im Blut. So konnten verschiedene Autoren einen erniedrigten Albuminspiegel im Blut als negativen prognostischen Faktor identifizieren (CARR et al., 2002; WEINKLE et al., 2005). In vorliegender Studie gab es initial keinen Unterschied der Albuminkonzentration zwischen den beiden Gruppen. Im Verlauf der Therapie sank der Albuminspiegel bei Hunden der Gruppe 2 stärker ab als bei Hunden der Gruppe 1, eine statistische Signifikanz wurde jedoch nicht erreicht. Auch die mediane **Proteinkonzentration** war initial identisch zwischen den beiden Gruppen. WEINKLE et al. (2005) identifizierten einen erniedrigten Proteinwert ebenfalls als negativen prognostischen Faktor. So hatten überlebende Hunde im Median ein Totalprotein von 6,3 g/dl, Hunde die verstarben oder euthanasiert wurden ein Totalprotein von 5,8 g/dl, was einem statistisch signifikanten Unterschied entsprach.

## 2.6. Harnuntersuchung

Bezüglich der Harnuntersuchung als prognostischem Marker bei Hunden mit IHA gibt es in der Literatur bisher keine Angaben. In vorliegender Studie wurde der Urin-Protein/Kreatinin-Gehalt (UPC) bei 14 Hunden bestimmt und war bei 12 Hunden erhöht. Nur 1 Hund war bereits mit Glukokortikoiden vorbehandelt und hatte eine UPC von 0,3. Eine statistische Signifikanz zwischen den Gruppen 1 und 2 lag nicht vor, jedoch war die Fallzahl sehr gering. Die Bestimmung der UPC könnte zur Früherkennung von Nierenschädigung beitragen, die aufgrund von Hypoxie/Anämie und Hämoglobinurie bei Hunden mit IHA entstehen kann. In vorliegender Studie hatten 6 von 18 Hunden eine Hämoglobinurie, bei 3 Hunden mit Hämoglobinurie war auch die UPC erhöht. In einer Studie stieg die UPC nach Zugabe von

Blut zu Harnproben und so makroskopisch blutigem Harn auf bis zu 1,9 (BAGLEY et al., 1991), in einer anderen Studie (VADEN et al., 2004) wurde ein Wert von 0,4 nicht überschritten. In einer Studie von VADEN et al. (2004) erfolgte eine Zugabe von Blut mit einem Albumingehalt von 4,1 g/dl und einem Hkt von 55% zu Urin mit einer Albuminkonzentration von 0 mg/dl. Bei einer Verdünnung von 1:400 wurden eine Albuminkonzentration von 4,8 mg/dl und eine UPC von 0,3 gemessen – der Teststreifen zeigte 1+ Blut an, die Urinfarbe war rot und pro high-power field (hpf) wurden >250 Erythrozyten festgestellt. Als Fazit gaben die Autoren an, dass Hämaturie auch bei makroskopisch blutigem Harn nicht zwangsläufig zu einem Anstieg der UPC führt (VADEN et al., 2004). Vor Bestimmung der UPC sollte immer eine vollständige Harnuntersuchung durchgeführt und die UPC als Marker für die Nierenfunktion nur beurteilt werden, wenn keine andere Ursache einer Proteinurie im Harn gefunden werden kann.

## **2.7. Plasmatische Gerinnung**

Eine veränderte Gerinnung wie eine verlängerte PT und aPTT, eine Erhöhung der Fibrin-Spaltprodukte, eine Erniedrigung der Fibrinogenkonzentration, Schistozyten im Blutausschlag, Thrombozytopenie, erniedrigte AT-Konzentration und eine erhöhte Konzentration an D-Dimeren kann Hinweise geben auf das Vorliegen einer disseminierten intravasalen Koagulopathie (DIC) und eines Thromboembolismus (SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001). In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass Hunde mit IHA häufig veränderte Gerinnungsparameter aufweisen bzw. einem höheren Risiko unterliegen, eine DIC zu entwickeln (KLAG et al., 1993; MISCHKE, 1998; BURGESS et al., 2000; SCOTT-MONCRIEFF et al., 2001). In einer Studie von BURGESS et al. (2000) war eine PT-Verlängerung >10 Sekunden mit einer signifikant höheren Letalität assoziiert. Ähnliches fanden auch WEINKLE et al. (2005): hier war die PT mit im Median 12 Sekunden bei Hunden, die verstarben oder euthanasiert wurden, signifikant verlängert, während Hunde, die überlebten, lediglich eine PT von 7 Sekunden aufwiesen. Auch die PTT war mit 19 Sekunden bei den nicht überlebenden Hunden signifikant verlängert im Gegensatz zu 15 Sekunden bei den Überlebenden.

In vorliegender Studie wurde die plasmatische Gerinnung bei 30 Hunden bestimmt. Einheitliche Kriterien zur Diagnose einer DIC beim Hund sind bisher nicht etabliert und es ist daher schwierig, eine definitive Diagnose stellen zu können. Die meisten Studien, die sich mit DIC beim Hund beschäftigen, diagnostizierten eine DIC, wenn 3 oder mehr Parameter verändert waren, benutzten jedoch jeweils unterschiedliche Tests (BATEMAN et al., 1999;

FELDMAN et al., 1999). SCOTT-MONCRIEFF et al. (2001) stellte die Diagnose DIC beim Vorliegen von  $\geq 4$  veränderten Parametern bei 9 von 20 Hunden, bei 4 Tieren wurde aufgrund des Vorliegens von lediglich 3 Anzeichen einer DIC eine DIC angenommen. In unserer Studie wurde eine DIC definiert als das Vorliegen von  $\geq 3$  veränderten Parametern. Bei 11 Hunden wurde bei Erstvorstellung eine **DIC** diagnostiziert: bei 4 Hunden (13%) aus Gruppe 1 und 7 Hunden (87,5%) aus Gruppe 2. Somit hatten signifikant mehr Hunde aus Gruppe 2 eine DIC im Vergleich zu Gruppe 1. Zum Zeitpunkt des Todes bzw. der Euthanasie hatte sich bei einem weiteren Hund aus Gruppe 2 eine DIC entwickelt. 22 Hunde hatten eine verlängerte **aPTT**, davon alle Hunde aus Gruppe 2 und 12 Hunde aus Gruppe 1. Die PTT war in Gruppe 2 signifikant verlängert im Vergleich zu Gruppe 1. In Gruppe 2 kam es im Verlauf der Therapie zu einer Verlängerung, in Gruppe 1 zu einer Verkürzung der PTT, was ebenfalls einem statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen entsprach. Auch die **PT** war in Gruppe 2 im Vergleich zu Gruppe 1 signifikant verlängert. In Gruppe 2 kam es im Verlauf der Therapie zu einer Verlängerung, in Gruppe 1 zu einer Verkürzung der PT, was statistisch signifikant war.

Die Bestimmung von **Fibrinogen** ist hilfreich zur Diagnosestellung einer disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC) und Hyperfibrinolyse, wobei es zu einem Abfall der Fibrinogenkonzentration kommt (MISCHKE et al., 1998). Eine Bestimmung von Fibrinogen wurde bei nur 14 Hunden durchgeführt. Eine Erhöhung des Fibrinogenwertes  $>3,5$  g/l lag bei 9 Hunden vor, alle aus Gruppe 1, eine Erniedrigung des Fibrinogens  $<1,8$  wurde bei 2 Hunden mit DIC festgestellt, beide aus Gruppe 2, jedoch war die Fallzahl zu gering für eine Aussage. Somit waren sowohl eine Verlängerung der PT als auch der aPTT initial und im Verlauf der Therapie mit einer signifikant höheren Letalität verbunden. Acht von 12 Hunden mit DIC verstarben bzw. wurden euthanasiert, das initiale Vorliegen einer DIC war ein negativer prognostischer Marker.

Lediglich bei 2 Hunden wurde aufgrund von starker Dyspnoe eine **Thromboembolie** vermutet, jedoch wurden diese Tiere nicht pathologisch untersucht und bei den 4 obduzierten Hunden konnte kein Hinweis auf eine Thromboembolie gefunden werden.

## **2.8. Bestimmung von Akute-Phase-Proteinen (APPs)**

### **2.8.1. C-reaktives Protein (CRP)**

Zur Bestimmung von CRP wurde ein kommerziell erhältliches spezies-spezifisches ELISA der Firma Tridelta benutzt, welches in verschiedenen Studien bereits erfolgreich zum Einsatz

kam (KJELGAARD-HANSEN et al., 2003a). Bei 25 gesunden Kontrollhunden wurden CRP-Werte zwischen 0-8,9 µg/ml (M 2,2) ermittelt, was Ergebnissen gesunder Hunde aus früheren Studien entspricht (YAMAMOTO et al., 1994a; KURIBAYASHI et al., 2003a; KJELGAARD-HANSEN et al., 2003a; FRANSSON et al., 2004; ULUTAS et al., 2005; TECLES et al., 2005a; RUSH et al., 2006).

CRP wurde bei vielen pathologischen Prozessen des Hundes bestimmt und korrelierte oftmals mit der Schwere der Erkrankung (YAMAMOTO et al., 1994 a; MATIJATKO et al., 2002; SPILLMANN et al., 2004; ULUTAS et al., 2005) oder war nützlich zur Unterscheidung zwischen verschiedenen pathologischen Prozessen (FRANSSON et al., 2004). So war CRP hilfreich zur Unterscheidung zwischen leichter und schwerer Pneumonie (YAMAMOTO et al., 1994a), zwischen Pyometra und Mucometra (FRANSSON et al., 2004), zwischen pankreatischer Nekrose und ödematöser Pankreatitis (SPILLMANN et al., 2004) und war bei Fällen mit komplizierter Babesiose deutlich höher als bei unkomplizierten Fällen (MATIJATKO et al., 2002; ULUTAS et al., 2005).

In verschiedenen Studien wurde die Bestimmung von CRP als Marker zur Kontrolle des Behandlungserfolges bestimmt. Eine erfolgreiche Behandlung führte zum Absinken der CRP-Konzentration (YAMAMOTO et al., 1993; JERGENS et al., 2003; HOLM et al., 2004), wohingegen ein dauerhaft erhöhter CRP-Spiegel bzw. ein weiteres Ansteigen bei Tieren beobachtet wurde, die nicht auf die Therapie ansprachen oder bei Rezidiven (MARTINEZ-SUBIELA et al., 2002; TECLES et al., 2005). So kam es zu einem Abfall der CRP-Konzentration unter Therapie bei Hunden mit Pankreatitis (HOLM et al., 2004), IBD (JERGENS et al., 2003), Leishmaniose (MARTINEZ-SUBIELA et al., 2003), Pyometra und Lymphom/Leukämie (TECLES et al., 2005b). In einer Studie verstarben 4 Hunde mit bei Erstvorstellung nur leicht erhöhten CRP-Werten während der Behandlung. Serum-CRP-Werte dieser Hunde waren deutlich erhöht kurz vor dem Tod. Leider wird keine Angabe gemacht, an welcher Erkrankung diese Tiere litten (YAMAMOTO et al., 1993).

Bezüglich der CRP-Konzentration bei der IHA des Hundes liegen in der Literatur nur sehr wenige Angaben vor. TECLES et al. (2005a) bestimmten unter anderem CRP bei 8 Hunden mit IHA und fanden Werte zwischen 22,2 und 91,8 mg/l (M 40,8) (Ref. 0,09-2,5; M 0,6 [n = 15]). Bei Hunden mit IHA kam es zu einem signifikanten Anstieg von Cp und CRP. Bei Kontrolluntersuchungen von 6 Hunden im Wochenabstand (davon 1 Hund mit IHA) zeigte sich, dass es bei gutem Ansprechen auf die Therapie zu einem Abfall der APPs kam, bei einem Nichtansprechen auf die Therapie blieben die APPs jedoch hoch bis zum Tod des Tieres. Ein Hund mit IHA hatte an Tag 0 einen CRP-Wert von 27,5 mg/L, an Tag 30 lag der

Wert bei 64,2 mg/L. Dieser Hund sprach nicht gut auf die Therapie an und starb einen Monat später. CASPI et al. (1987) bestimmten CRP bei 3 Hunden mit IHA und fanden Werte von 46, 118 und 146 µg/ml (Ref. <5-67 µg/ml [n = 22]). Bei diesen Messungen handelte es sich jedoch um eine einmalige Messung, Verlaufsuntersuchungen wurden nicht durchgeführt. In unserer Studie konnte CRP bei insgesamt 24 Hunden mit IHA initial und im Verlauf bestimmt werden. Bei 7 Hunden stand kein Serum zur Verfügung. Die gefundenen Werte bei initialer Vorstellung waren mit 0-413 µg/ml (M 199) (Ref. 0-8,9 µg/ml [n = 25]) zum grössten Teil deutlich höher als die bisher in der Literatur beschriebenen. Das CRP war bei fast allen Hunden mit immunhämolytischer Anämie an Tag 0 stark erhöht und fiel im Verlauf ab. Der mediane CRP-Abfall zwischen Tag 0 und 3 war in Gruppe 1 mit -137 µg/ml stärker als in Gruppe 2 mit -95 µg/ml. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen konnte weder im Verlauf noch initial festgestellt werden, jedoch war die Fallzahl mit nur 4 Hunden in Gruppe 2 zu gering.

Die Höhe der CRP-Konzentration korrelierte in einigen Fällen gut mit dem Zustand der Tiere. So hatte ein Hund mit einem leichten Rezidiv einer IHA einen nur geringgradig erhöhten CRP-Wert, während bei einem anderen Hund der CRP-Wert an Tag 3 immer noch stark erhöht war. Dieser Hund musste am folgenden Tag mit sehr schlechtem Allgemeinbefinden und Dyspnoe euthanasiert werden. Bei einem weiteren Hund gab der konstant erhöhte CRP-Wert Hinweis auf eine Milznekrose. Nach erfolgreicher Operation sank der CRP-Spiegel rasch auf normale Werte ab. In anderen Fällen korrelierte der CRP-Wert jedoch nicht mit dem Zustand der Hunde. So hatten 2 Hunde, die initial mit sehr tiefem Hkt und folglich in einem sehr schlechten Allgemeinzustand vorgestellt wurden, nur leicht erhöhte CRP-Werte. Bei einem weiteren Hund aus Gruppe 1, der an Tag 0 einen nur leicht erhöhten CRP-Wert hatte, kam es an Tag 8 zu einem massiven Anstieg von CRP, der sich nicht durch den klinischen Zustand des Hundes erklären liess. Der Hund konnte entlassen werden. Eine erneute Bestimmung der CRP-Konzentration an Tag 14 wurde nicht durchgeführt.

In einer Studie von BURTON et al. (1994) konnte eine signifikante, aber leichte Korrelation zwischen CRP und Neutrophilenzahl gefunden werden. Der CRP-Anstieg war grösser als der der Neutrophilen, so dass die CRP-Konzentration eher auf das Ausmass der Inflammation hinzudeuten schien als die Zahl der Neutrophilen. In unserer Studie konnte keine Korrelation von CRP mit anderen prognostischen Markern bei der IHA des Hundes gefunden werden, jedoch war die Fallzahl gering.

Die in unserer Studie gemessenen CRP-Werte waren deutlich höher als die bisher bei Hunden mit IHA gemessenen. Bei fast allen Hunden kam es im Verlauf der Therapie zu einem

Absinken der CRP-Konzentration. Blieb der CRP-Spiegel erhöht, so lag eine Komplikation vor (Hund 9) oder der Hund sprach schlecht auf die Therapie an und wurde euthanasiert (Hund 16). Interessant wäre die Bestimmung von CRP zum Zeitpunkt des Todes. Die Bestimmung von CRP zur Überwachung der Therapie könnte nützlich sein. In einigen Fällen korrelierte der CRP-Spiegel nicht mit dem Zustand der Hunde – individuelle Unterschiede der CRP-Konzentration bei den einzelnen Tieren könnten eine Erklärung hierfür sein. Weitere Studien mit höheren Fallzahlen sind hier nötig.

### **2.8.2. Haptoglobin (Hp)**

Die Bestimmung von Hp wurde mit einem am Institut für Physiologie, Biochemie und Hygiene der Tiere in Bonn entwickelten kompetitiven Enzymimmuntest durchgeführt. Bei 19 gesunden Hunden wurden Hp-Werte zwischen 0 und 2,3 mg/ml (M 0,4) bestimmt, was Ergebnissen gesunder Hunde aus anderen Studien entspricht (McGROTTY et al., 2003; MARTINEZ-SUBIELA et al., 2003; JERGENS et al., 2003; TECLES et al., 2005a; ULUTAS et al., 2006). Beim Hund gehört Hp zu den moderaten APPs: Es steigt 2-3 fach an bei Inflammation, Infektion oder Trauma (ECKERSALL und CONNER, 1988; ECKERSALL, 1995). Hp hat u.a. die Aufgabe, Komplexe mit Hämoglobin zu bilden, das während der Hämolyse frei wird. Dadurch trägt es zum Recycling des hämgebundenen Eisens bei, nachdem die Komplexe von der Leber aufgenommen wurden (TAKAMI, 1993). Aus diesem Grund kommt es bei IHA bei verschiedenen Spezies zu einer Erniedrigung von Hp. Bei 7 Hunden mit Babesiose kam es zu einem signifikanten Abfall der Hp-Konzentration auf  $0,31 \pm 0,02$  mg/ml (ULUTAS et al., 2005). Weiterhin führte die Gabe von Prednisolon zu einer Erhöhung (HARVEY und WEST, 1987; McGROTTY et al., 2003; ECKERSALL, 2003; JERGENS et al., 2003) von Hp. In verschiedenen Studien wurde Hp auch bei Hunden mit IHA bestimmt. McGROTTY et al. (2003) fanden bei 7 nicht behandelten Hunden mit IHA oder Polyarthritits eine mediane Hp-Konzentration von 3,32 g/l, bei 13 mit Kortikosteroiden therapierten Hunden eine mediane Hp-Konzentration von 8,5 g/l. In einer Studie von TECLES et al. (2005a) hatten 8 Hunde mit IHA einen medianen Hp-Wert von 4,4 g/l. Bei einem mit Prednison therapierten Hund stieg der Hp-Wert auf 6,45 g/l an Tag 30 an. Dieser Hund sprach nicht gut auf die Therapie an und verstarb.

In unserer Studie wurde bei 11 Hunden eine Bestimmung von Hp durchgeführt, von 2 Hunden aus Gruppe 2. Der Hp-Spiegel stieg von 2,3 g/l an Tag 0 auf 15,6 g/l an Tag 14 an. Bei fast allen Hunden war der Hp-Spiegel bei Erstvorstellung im Referenzbereich  $<3$  g/l, was den Angaben in der Literatur entspricht. Bei 3 Hunden war die Hp-Konzentration moderat, bei

einem Hund stark erhöht. Nur einer dieser Hunde war vorberichtlich bereits mit Kortison vorbehandelt. Die starke Hp-Erhöpfung liess sich bei einem Hund nicht durch den klinischen Zustand des Hundes erklären. Ein weiterer Hund mit einem moderat erhöhten Hp-Wert erlitt ein leichtes Rezidiv einer IHA und stand bereits seit einigen Monaten nicht mehr unter Prednisolon. Auch hier bleibt der Grund für die Hp-Erhöpfung ungeklärt. Bei einem Hund aus Gruppe 2 mit einem anfänglich moderat erhöhten Hp-Wert kam es zu einem massiven Abfall der Hp-Konzentration, was sich durch eine intravaskuläre Hämolyse erklären lässt.

Hp scheint aufgrund der starken Interferenzen von Hämolyse und Kortikosteroidtherapie bei Hunden mit IHA als prognostischer Marker und zur Überwachung des Therapieerfolges nicht von Nutzen zu sein.

### **2.8.3 Fibrinogen**

Fibrinogen ist beim Hund ein nur moderates APP, das bei Stimulation um das 2-4fache ansteigt. Obwohl die pathophysiologische Reaktion von Fibrinogen auf Infektion und Entzündung seit vielen Jahren bekannt ist, wird Fibrinogen nicht routinemässig als APP bestimmt (CERON et al., 2005). Ein höheres Interesse der Fibrinogen-Messung besteht zur Diagnosestellung einer disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC) und Hyperfibrinolyse, wobei es zu einem Abfall der Fibrinogenkonzentration kommt (MISCHKE et al., 1998). In der Literatur gibt es nur wenige Studien, die sich mit der Fibrinogen-Bestimmung bei Hunden mit IHA beschäftigen. BURGESS et al. (2000) fanden bei 12 von 34 Hunden mit IHA abnorme Fibrinogen-Konzentrationen: 21 Hunde wiesen eine erhöhte Fibrinogen-Konzentration >300 mg/dl, 6 eine erniedrigte von <150 mg/dl auf. SCOTT-MONCRIEFF et al. (2001) untersuchten 20 Hunde mit pIHA. Die Fibrinogen-Konzentration lag im Median bei 708 mg/dl und war bei 17 von 20 Hunden erhöht, bei keinem Hund erniedrigt.

In unserer Studie wurde eine Bestimmung von Fibrinogen bei 14 Hunden durchgeführt, wobei Hunde aus Gruppe 2 niedrigere Fibrinogenwerte aufwiesen als Hunde der Gruppe 1. Die erniedrigte Fibrinogen-Konzentration der 2. Gruppe liess sich durch die bei 2 Hunden vorliegende DIC erklären. Im Verlauf der Therapie kam es auch bei Hunden der Gruppe 1 zu einem Abfall der medianen Fibrinogen-Konzentration bis auf 2,1 g/l bei Verbesserung der klinischen Symptome. Eine Beurteilung von Fibrinogen sollte also immer im Zusammenhang mit klinischen Symptomen und weiteren labordiagnostischen Parametern beurteilt werden, da es sowohl bei DIC als auch bei rückläufiger Akute-Phase-Reaktion zu einer erniedrigten Fibrinogenkonzentration kommen kann.

## 2.9. Bestimmung von Erythropoetin (EPO)

In der Literatur existieren keine Studien, die sich mit der EPO-Konzentration bei Hunden mit IHA beschäftigen. Verschiedene Studien in der Humanmedizin fanden jedoch heraus, dass eine erhöhte Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen und Akute-Phase-Proteinen zu einer Hemmung der Erythrozyten-Stammzell-Proliferation, einer reduzierten Bildung von EPO und einer verminderten Ansprechbarkeit auf rHuEPO führen (JELKMANN, 1998; SCHOBERSBERGER et al., 1998; HÖRL et al., 2000; HOBISCH-HAGEN et al., 2001; MACDOUGALL und COOPER, 2002). Da auch die IHA des Hundes zu einer Akute-Phase-Antwort führt, könnte dies die Erklärung sein für einen ungenügend hohen EPO-Spiegel und eine nicht ausreichende Regeneration in einigen Fällen.

In unserer Studie wurde eine Bestimmung von EPO bei 15 Hunden an Tag 0 durchgeführt. Die gemessenen Werte waren z.T. sehr unterschiedlich und lagen zwischen 36 und 4030 U/l (M 397). In Gruppe 1 wurden deutlich niedrigere Werte gemessen als in Gruppe 2, es bestand jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Es konnte kein Zusammenhang zwischen der Höhe des gemessenen EPO-Wertes und der Retikulozytenzahl oder CRP-Konzentration gefunden werden, die inverse Korrelation zwischen EPO-Wert und Hkt-Wert war jedoch statistisch signifikant. Ein Hund mit einer intravaskulären Hämolyse hatte eine hochgradige Anämie mit einem verhältnismässig niedrigen EPO-Spiegel. Dieser Hund starb an Tag 2 mit einer hochgradigen DIC. Leider wurde bei diesem Hund aufgrund einer massiven intravaskulären Hämolyse keine Bestimmung von CRP durchgeführt.

## 2.10. Therapie

26 Hunde erhielten eine unterschiedliche Anzahl an **Bluttransfusionen**. Dabei handelte es sich in den meisten Fällen um Erythrozytenkonzentrat. Sechs Hunde erhielten zusätzlich Vollblut, davon 4 Hunde aus Gruppe 2. Hunde der Gruppe 2 bekamen mehr Vollblut als Hunde der Gruppe 1. Auch die transfundierte Plasmamenge war bei Hunden aus Gruppe 2 höher als bei Hunden aus Gruppe 1: 8 Hunde erhielten Plasmatransfusionen, davon 6 Hunde aus Gruppe 2. Hinsichtlich der transfundierten Menge an Erythrozytenkonzentrat bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Allerdings bekamen Hunde der Gruppe 1 im Median weniger Erythrozytenkonzentrat als Hunde der Gruppe 2. Die Tatsache, dass Hunde der Gruppe 2 mehr Bluttransfusionen erhielten als Hunde der Gruppe 1 lässt sich dadurch erklären, dass diese Hunde eine fulminantere Hämolyse aufwiesen und schlechter auf die Therapie ansprachen. Weiterhin litten 8 Hunde der Gruppe 2 zu Beginn oder im Verlauf

der Therapie an einer DIC, was die höhere Menge an verabreichtem Vollblut und Plasma erklärt.

Die Ansicht, dass Bluttransfusionen bei Hunden mit IHA zu einem ungünstigen Verlauf beitragen können, hat sich in verschiedenen Studien nicht bestätigt (KLAG et al., 1993; BURGESS et al., 2000; CARR et al., 2002). In einer Studie mit 151 Hunden, in der 70 % der Tiere eine Transfusion erhielten (davon 21 % Oxyglobin), konnte kein negativer Einfluss auf das Überleben festgestellt werden (WEINKLE et al., 2005).

Bei allen Hunden wurde nach Diagnosestellung eine **immunsuppressive Therapie** mit Prednisolon allein oder in Kombination mit Ciclosporin eingeleitet. Hinsichtlich der Prognose konnte kein Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen gefunden werden. Bereits JENKINS et al. (1986) therapierten erfolgreich 2 Hunde mit IHA mit Ciclosporin. In einer klinischen Studie lag der Hkt-Wert bei 2 Hunden nach 8 Wochen im Referenzbereich. Allerdings starb der 3. Patient an einer Sepsis (COOK et al., 1994). WEINKLE et al. (2005) behandelten 7 von 151 Hunden mit Ciclosporin A. In einer Studie von GRUNDY und BARTON (2001) wurden 24 von 88 Hunden mit Ciclosporin behandelt, es konnte kein signifikanter Unterschied der Kurzzeitletalität gefunden werden zwischen Hunden, die Ciclosporin erhielten und Hunden, die kein Ciclosporin erhielten.

In einer Studie von FRYER et al. (2005) war die Gabe von niedermolekularem **Heparin** mit einer signifikant höheren Letalität assoziiert. In unserer Studie erhielten 10 Hunde Heparin, davon 4 aus Gruppe 1 und 5 aus Gruppe 2. Die verabreichte Menge Heparin war bei Hunden der Gruppe 1 ggr. höher als bei Hunden der Gruppe 2, dieser Unterschied war aber nicht signifikant.

Zu berücksichtigen ist, dass verschiedene therapeutische Massnahmen Einfluss nehmen auf unterschiedliche Laborparameter, was deren Beurteilung im Verlauf natürlich erschwert. So führen die Gabe von Plasmatransfusionen oder Heparin zu Veränderungen der Gerinnungsparameter, die Gabe von Bluttransfusionen zu einem Anstieg des Hkt-Wertes. Jedoch wurden therapeutische Massnahmen nur durchgeführt, wenn sie nach Meinung des behandelnden Tierarztes nötig waren. Auch reagierten nicht alle Hunde gleich auf die therapeutischen Massnahmen. So muss es bei der gleichen verabreichten Menge an Erythrozytenkonzentrat bei 2 Hunden nicht zu einem identischen Hkt-Anstieg kommen, weshalb man trotz allem Aussagen über den weiteren Verlauf und die Prognose herleiten kann.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Die canine primäre immunhämolytische Anämie (pIHA) ist assoziiert mit einer hohen Letalitätsrate. Negative prognostische Parameter wie ein sehr niedriger Hämatokrit, eine nichtregenerative Anämie, schwere Thrombozytopenie, Hypoalbuminämie und Hyperbilirubinämie sind beschrieben. Über das wichtigste Akute-Phase-Protein beim Hund, das C-reaktive Protein (CRP), ist diesbezüglich nichts bekannt.

Ziel der Studie war die Evaluierung von CRP und weiteren Laborparametern sowohl initial als auch im Verlauf als mögliche Marker für Prognose und Behandlungserfolg bei Hunden mit IHA.

Bei 31 Hunden wurde die Diagnose pIHA aufgrund des Vorliegens einer Anämie, dem Ausschluss möglicher auslösender Faktoren, einem positiven Coombs-Test (n = 30) bzw. persistierender Autoagglutination (n = 1), dem Nachweis von Sphärozyten im Blutausstrich (n = 20), makroskopischer Objektträgeragglutination (n = 29) und dem Ansprechen auf die immunsuppressive Therapie (n = 21) gestellt. 21 Hunde überlebten die ersten 14 Tage (Gruppe 1), 8 Hunde verstarben vor Tag 14 bzw. wurden aufgrund eines sehr schlechten Allgemeinzustandes euthanasiert (Gruppe 2). Zwei Hunde wurden vor Tag 14 auf Besitzerwunsch euthanasiert und wurden daher keiner der beiden Gruppen zugeordnet.

Die Hunde gehörten 18 verschiedenen Rassen an, 7 waren Mischlingshunde. Das Erkrankungsalter lag zwischen 0,5 und 13 Jahren (M 7 Jahre).

23 Hunde hatten eine extravaskuläre, 8 eine intravaskuläre Hämolyse. Von den 8 Hunden mit intravaskulärer Hämolyse starben 5, 3 überlebten. Von den 23 Hunden mit extravaskulärer Hämolyse starben 4, einer wurde auf Besitzerwunsch euthanasiert und 18 überlebten.

Der Mikro-Hkt bei Erstvorstellung lag zwischen 0,05 und 0,32 l/l (M 0,16), wobei eine schwere Anämie mit Hkt <0,20 l/l bei 23 Hunden vorlag. Der Hkt bei Erstvorstellung war bei beiden Gruppen ähnlich (p = 0,448). In Gruppe 1 kam es zwischen Tag 0 und 3 zu einem medianen Hb-Anstieg (+0,8 mmol/l), in Gruppe 2 jedoch zu einem -Abfall (-0,3 mmol/l) (p = 0,012), hinsichtlich des Hkt-Wertes war dieser Unterschied nicht signifikant. Insgesamt war die Anämie bei 14 Hunden (46,6%) nicht regenerativ, bei 5 (16,6%) schwach regenerativ und bei 11 (36,6%) mässig bis stark regenerativ. Ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen lag weder initial noch im Verlauf vor.

Hunde der Gruppe 1 (n = 21) hatten im Median initial höhere Leukozytenzahlen als Hunde der Gruppe 2 (n = 8) (p = 0,237). Bei Hunden der Gruppe 2 kam es an Tag 3 zu einem Anstieg der Leukozytenzahl (M +32,7 G/l), während die Leukozytenzahl bei Hunden der Gruppe 1 in etwa konstant blieb (M +3,5 G/l) (p = 0,003). Hunde der Gruppe 1 hatten im

Median signifikant höhere Thrombozytenzahlen (M 152 G/l) als Hunde der Gruppe 2 (M 90 G/l) ( $p = 0,009$ ). Während die Thrombozytenzahlen in Gruppe 1 im Median unter der Behandlung im Verlauf anstiegen (M 7 G/l), kam es in Gruppe 2 bis zu Tag 3 zu einem Abfall (M -24 G/l) ( $p = 0,376$ ).

4 Hunde (19%) aus Gruppe 1 und 5 Hunde (62,5%) aus Gruppe 2 hatten initial eine Azotämie. Zwischen Tag 0 und 3 kam es in Gruppe 1 zu einem Absinken der Harnstoffkonzentration (M -2,3 mmol/l), während es in Gruppe 2 zu einem Anstieg (M +8,4 mmol/l) kam ( $p = 0,047$ ).

Elf Hunde waren mit Glukokortikoiden vorbehandelt worden, daher wurden die Leberenzyme dieser Hunde von der Beurteilung ausgeschlossen. Hinsichtlich der AST- ( $p = 0,056$ ), ALT- ( $p = 0,117$ ), AP- ( $p = 0,566$ ) und GLDH- ( $p = 0,851$ ) Konzentration gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Hunde der Gruppe 1 hatten initial eine mediane Bilirubinkonzentration von 16,1  $\mu\text{mol/l}$ , Hunde der Gruppe 2 von 38  $\mu\text{mol/l}$  ( $p = 0,04$ ). Der Anstieg der Bilirubinkonzentration zwischen Tag 0 und 3 war in Gruppe 2 mit +626,7  $\mu\text{mol/l}$  signifikant höher als in Gruppe 1 mit +1,4  $\mu\text{mol/l}$  ( $p = 0,035$ ).

Bei 11 Hunden lag bei Erstvorstellung eine DIC vor, dabei 4 (13%) aus Gruppe 1 und 7 (87,5%) aus Gruppe 2. Die aPTT war bei Hunden aus Gruppe 2 (M 34,1 s) signifikant länger als die aPTT bei Hunden der Gruppe 1 (M 20 s) ( $p = 0,004$ ). In Gruppe 2 kam es im Verlauf der Therapie zu einer Verlängerung (M +1,2 s), in Gruppe 1 zu einer Verkürzung (M -6,6 s) der aPTT ( $p = 0,013$ ). Auch die PT war mit 26 s in Gruppe 2 und 18,5 s in Gruppe 1 bei Hunden der 2. Gruppe signifikant verlängert ( $p = 0,032$ ). In Gruppe 2 kam es von Tag 0 zu Tag 3 zu einer Verlängerung (M +6,4 s), in Gruppe 1 zu einer Verkürzung (M -1,8 s) der PT ( $p = 0,038$ ). Eine Bestimmung von Fibrinogen wurde bei 14 Hunden durchgeführt. Eine Erhöhung des Fibrinogenwertes  $>3,5$  g/l lag bei 9 Hunden aus Gruppe 1 vor, eine Erniedrigung des Fibrinogens  $<1,8$  g/l wurde bei 2 Hunden festgestellt, beide aus Gruppe 2.

Das CRP war bei den meisten Hunden (80%) mit immunhämolytischer Anämie an Tag 0 hochgradig erhöht und fiel im Verlauf ab. In Gruppe 1 ( $n = 19$ ) lag die mediane CRP-Konzentration initial bei 213  $\mu\text{g/ml}$ , in Gruppe 2 ( $n = 4$ ) bei 194  $\mu\text{g/ml}$ . Zwischen Tag 0 und 3 kam es zu einem Abfall der medianen CRP-Konzentration um -137  $\mu\text{g/ml}$  in Gruppe 1 und -95  $\mu\text{g/ml}$  in Gruppe 2. Sie sank in Gruppe 1 auf 54  $\mu\text{g/ml}$  an Tag 3, 34  $\mu\text{g/ml}$  an Tag 8 und 1  $\mu\text{g/ml}$  an Tag 14. Bei 11 Hunden wurde eine Bestimmung von Hp durchgeführt. Der Hp-Spiegel lag mit 2,3 mg/ml im Median initial im Normbereich und stieg im Verlauf der Therapie bis auf 15,6 mg/ml an.

Die Bestimmung von EPO bei 15 Hunden ergab eine mediane EPO-Konzentration von 397 U/l (Gruppe 1 185 U/l, Gruppe 2 1052 U/l) ( $p = 0,641$ ). Die inverse Korrelation zwischen EPO-Wert und Hämatokritwert war statistisch signifikant ( $p = 0,011$ ).

26 Hunde erhielten eine unterschiedliche Anzahl an Bluttransfusionen (14 Hunde Erythrozytenkonzentrat, 6 Vollblut, 8 frisch gefrorenes Plasma). Hunde der Gruppe 2 bekamen mit im Median 9 ml/kg signifikant mehr Plasmaproducte (FFP und Vollblut) als Hunde der Gruppe 1 (M 0) ( $p = 0,004$ ). Hinsichtlich der transfundierten Menge an Erythrozytenprodukten (Erythrozytenkonzentrat, Vollblut) bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

Insgesamt waren eine initial vorliegende Thrombozytopenie, ein deutlich erhöhter Plasmabilirubinwert und eine stark verlängerte PT und aPTT mit einer signifikant höheren Letalität assoziiert. Im Verlauf der Erkrankung waren ein weiterer Anstieg der Leukozytenzahl, Harnstoff- und Bilirubinkonzentration, ein Abfall der Hb-Konzentration und eine Verlängerung von PT und aPTT mit einer signifikant höheren Letalität verbunden. CRP war initial stark erhöht und fiel im Verlauf der Therapie ab. CRP könnte ein nützlicher Marker für den Behandlungserfolg bei Hunden mit IHA sein.

## VII. SUMMARY

### **Evaluation of different prognostic markers including C-reactive protein in canine autoimmune hemolytic anemia**

Canine primary immune-mediated hemolytic anemia (IMHA) is associated with a high mortality rate. Different parameters of negative prognostic value such as a very low PCV, nonregenerative anemia, intravascular hemolysis, severe thrombocytopenia, hypoalbuminemia and hyperbilirubinemia are described in the literature. There is no information regarding C-reactive Protein (CRP) -the most important acute phase protein in dogs- as prognostic factor in dogs with IMHA.

Objective of this study was the evaluation of CRP and further laboratory parameters initially and in the course of disease as possible markers for prognosis and treatment control in canine IMHA.

In 31 dogs the diagnosis primary IMHA was based on the presence of anemia, exclusion of underlying diseases, a positive Coombs'-test (n = 30) or persistent autoagglutination (n = 1), the presence of spherocytes in a blood smear (n = 20), macroscopic agglutination (n = 29) and response to immunosuppressive therapy (n = 21). 21 dogs were still alive 14 days after start of treatment (group 1), 8 dogs died or were euthanized because of severe illness (group 2). Two dogs were euthanized before day 14 on owners' request and were not assigned to either group. The dogs belonged to 18 different breeds, 7 dogs were mixed-breed. The dogs were between 0.5 and 13 years (median 7) old.

23 dogs had extravascular, 8 intravascular hemolysis. Five dogs with intravascular hemolysis died, 3 survived. 4 dogs with extravascular hemolysis died, 1 dog was euthanized on owners' request and 18 survived.

PCV at initial presentation was 0.05-0.32 l/l (median 0.16), in 23 dogs the anemia was severe (PCV <0.20 l/l). The initial PCV-values were similar in both groups (p = 0.448). Between day 0 and 3 the median Hb increased (+0.8 mmol/l) in group 1 but decreased in group 2 (-0.3 mmol/l) (p = 0.012). The Hb decrease but not the decrease in PCV was significant. In 14 dogs (46.6%) the anemia was non regenerative, in 5 (16.6%) slightly regenerative and in 11 (36.6%) moderately regenerative. There was no significant difference between the groups.

Median leukocyte counts were higher in group 1 (n = 21) compared to group 2 (n = 8) (p = 0.237). In dogs of group 2 there was an increase in the WBC count on day 3 (median +32.7 G/l), whereas the leukocyte count was constant in group 1 (median +3.5 G/l) (p = 0.003).

Dogs of group 1 had significantly higher median platelet counts (median 152 G/l) than dogs in group 2 (median 90 G/l) ( $p = 0.009$ ). Whereas median platelet counts in group 1 increased during the course of disease (median +7 G/l), there was a decrease till day 3 in group 2 (median -24 G/l) ( $p = 0.376$ ).

4 dogs (19%) of group 1 and 5 dogs (62.5%) of group 1 initially presented with azotemia. Between day 0 and 3 there was a decrease of urea in group 1 (median -2.3 mmol/l), whereas the urea concentration increased in group 2 (median +8.4 mmol/l) ( $p = 0.047$ ).

Eleven dogs were pretreated with glucocorticoids, the liver enzymes of these dogs were excluded from evaluation. There was no significant difference concerning AST ( $p = 0.056$ ), ALT ( $p = 0.117$ ), AP ( $p = 0.566$ ), and GLDH ( $p = 0.851$ ) concentration between the 2 groups. Dogs of group 1 initially had a median bilirubin concentration of 16.1  $\mu\text{mol/l}$ , dogs of group 2 38  $\mu\text{mol/l}$  ( $p = 0.04$ ). The increase of the bilirubin concentration between day 0 and 3 was significantly higher (median +626.7  $\mu\text{mol/l}$ ) in group 2 than in group 1 (median +1.4  $\mu\text{mol/l}$ ) ( $p = 0.035$ ).

Eleven dogs presented with a DIC: 4 (13%) of group 1 and 7 (87,5%) of group 2. APTT was significantly longer in group 2 (median 34.1 sec) than in group 1 (median 20 sec) ( $p = 0.004$ ). In group 2 there was a prolongation (median +1.2 sec) of aPTT, in group 1 the aPTT decreased (median -6.6 sec) ( $p = 0.013$ ). PT was significantly longer in group 2 (median 26 sec) than in group 1 (median 18.5 sec) ( $p = 0.032$ ). In group 2 there was a prolongation of PT between day 0 and 3 (median +6.4 sec), in group 1 PT decreased (median -1.8 sec) ( $p = 0.038$ ). Fibrinogen was determined in 14 dogs. There was an increase of fibrinogen concentration  $>3.5$  g/l in 9 dogs, all of them of group 1, fibrinogen concentration was low ( $<1.8$  g/l) in 2 dogs, both of group 2 ( $p = 0.022$ ).

CRP was highly elevated in most dogs (80%) with IMHA and declined significantly during course of disease. In group 1 ( $n = 19$ ) the median CRP concentration initially was 213  $\mu\text{g/ml}$ , in group 2 ( $n = 4$ ) 194  $\mu\text{g/ml}$ . Between day 0 and 3 there was a median decrease of -137  $\mu\text{g/ml}$  in group 1 and -95  $\mu\text{g/ml}$  in group 2. In group 1 the CRP concentration declined to 54  $\mu\text{g/ml}$  on day 3, 34  $\mu\text{g/ml}$  on day 8 and 1  $\mu\text{g/ml}$  on day 14. In 11 dogs haptoglobin (Hp) was determined. Hp was with 2.3 mg/ml within the higher range of normal at the beginning and increased in the course of disease up to 15.6 mg/ml.

Determination of EPO in 15 dogs showed median EPO concentrations of 397 U/l (Group 1 185 U/l, Group 2 1052 U/l) ( $p = 0.641$ ). The inverse correlation between EPO and PCV was significant ( $p = 0.011$ ).

26 dogs received blood transfusions (14 packed red blood cells, 6 whole blood, 8 fresh frozen plasma). Dogs of group 2 received more plasma products (FFP and whole blood) (median 9 ml/kg) than dogs of group 1 (median 0 ml/kg) ( $p = 0,004$ ). There was no significant difference concerning the volume of erythrocyte products (packed red blood cells and whole blood) between the groups.

Negative prognostic markers for a 14-day-survival were thrombocytopenia, hyperbilirubinemia and prolongation of PT and aPTT on initial presentation. In the course of disease an increase in the leukocyte count, urea and bilirubin concentration, a decrease in Hb concentration and prolongation of PT and aPTT were significantly associated with increased mortality. CRP was severely elevated in most dogs with IMHA and declined significantly during course of disease. CRP might be a useful marker in monitoring therapy.

## VIII. LITERATURVERZEICHNIS

- AHN, Y.S., W.J. HARRINGTON, R. MYLVAGANAM, J. AYUB und L.M. PALL (1985)  
Danazol therapy for autoimmune hemolytic anemia.  
Ann. Intern. Med. 102, 298-301
- ANDERSSON, M., M. STENSTRÖM, M. VATNE, E. SEVELIUS und L. JÖNSSON (1998)  
Disease related variations of the glycosylation of haptoglobin in the Dog.  
J. Comp. Pathol. 119, 227-238
- ANDERSSON, M., und E. SEVELIUS (2001)  
Abnormal microheterogeneity of haptoglobin in serum from dogs with various diseases.  
Vet. Rec. 148, 14-17
- ANGERMAN, N.S., M.I. EVANS, W.D. MORAVEC, G.F.B. SCHUMACHER und S.N. HAJI (1980)  
C-reactive protein in the evaluation of antibiotic therapy for pelvic infection.  
J. Reprod. Med. 25, 63-66
- AVAIL LUNDQVIST, E., E. BLAD, L. XIAO, K. SJOVALL und P. ENEROTH (1991)  
Pretreatment serum levels of C-reactive protein, alpha 1-antitrypsin, haptoglobin, alpha 1-acid glycoprotein and tissue polypeptide antigen in cervical carcinoma.  
Eur. J. Gynaecol. Oncol. 12, 375-383
- BAGLEY, R.S., S.A. CENTER und R.M. LEWIS (1991)  
The effect of experimental cystitis and iatrogenic blood contamination on the urine protein/creatinine ratio in the dog.  
J. Vet. Intern. Med. 5, 66-70
- BATEMAN, S.W., K.A. MATHEWS und A.C.G. ABRAMS-OGG (1999)  
Diagnosis of disseminated intravascular coagulation in dogs admitted to an intensive care unit.  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 215, 798-803
- BENETT, D., S.L. FINNETT, A.S. NASH und D. KIRKHAM (1981)  
Primary autoimmune haemolytic anaemia in the dog.  
Vet. Rec. 109, 150-153
- BENNETT, W.M., und D.J. NORMAL (1986)  
Action and toxicity of cyclosporine.  
Annu. Rev. Med. 37, 215-24
- BEALE, K.M. (1988)  
Azathioprine for treatment of immune-mediated diseases of dogs and cats.  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 192, 1313-1318
- BICK, R.L. (1994)  
Hypercoagulability and thrombosis.  
Med. Clin. North. Am. 78, 577-606
- BLAKE, D. R., R. F. WATERWORTH und P.A. BACON (1981)  
Assessment of iron stores in inflammation by assay of serum ferritin concentrations.  
Br. Med. J. 283, 1147-1148
- BODEL, P. (1974)  
Studies on the mechanism of endogenous pyrogen production. III. Human blood monocytes.  
J. Exp. Med. 140, 954-965
- BORALESSA, H., F.C. DE BEER, A. MANCHIE, J.G. WHITWAM und M.B. PEPYS (1986)  
C-reactive protein in patients undergoing cardiac surgery.  
Anaesthesia 41, 11-15

- BORER, L.R., J.E. PEEL, W. SEEWALD, P. SCHAWALDER und D.E. SPRENG (2003)  
Effect of carprofen, etodolac, meloxicam, or butorphanol in dogs with induced acute synovitis.  
Am. J. Vet. Res. 64 (11), 1429-1437
- BORNMANN-HOLLSTEIN, A. (1993)  
Enzymimmunologischer Nachweis von Erythropoetin im Blut von Hund, Katze und Pferd.  
Vet.-Med. Dissertation, Hannover
- BURGESS, K., A. MOORE, W. RAND und S.M. COTTER (2000)  
Treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs with cyclophosphamide.  
J. Vet. Int. Med. 14, 456-462
- BURNS, M.G. (1995)  
Pulmonary thromboembolism.  
In: Bonagura JD (Hrsg.), "Current veterinary therapy XI", WB Saunders, Philadelphia, 137
- BURTON, S.A., D.J. HONOR, A.L. MACKENZIE, P.D. ECKERSALL, R.J.F. MARKHAM und B.S. HORNEY (1994)  
C-Reactive protein concentration in dogs with inflammatory leukograms.  
Am. J. Vet. Res. 55 (5), 613-618
- CARNOT, P., und C. DEFLANDRE (1906)  
Sur l'activite hemopoetique de serum au cours de la regeneration du sang.  
C. R. Acad. Sci. (Paris) 143, 384-386
- CARR, A.P., D.L. PANCIERA und L. KIDD (2002)  
Prognostic factors for mortality and thromboembolism in canine immune-mediated hemolytic anemia: a retrospective study of 72 dogs.  
J. Vet. Int. Med. 16 (5), 504-509
- CASPI, D., M.L. BALTZ und F. SNEL (1984)  
Isolation and characterization of C-reactive protein from the dog.  
Immunology 53, 307-313
- CASPI, D., J.J. SNEL, R.M. BATT, D. BENNET, G.R. RUTTEMANN, E.G. HARTMAN, M.L. BALTZ, E. GRUYS und M.B. PEPYS (1987)  
C-reactive protein in dogs.  
Am. J. Vet. Res. 48 (6), 919-922
- CENGIC, M., B. HELJIC, S. RASIC und M. DILIC (2002)  
Role of C-reactive protein in systemic lupus erythematosus.  
Med. Arh. 56 (3), 147-149
- CERON, J.J., P.D. ECKERSALL und S. MARTINEZ-SUBIELA (2005)  
Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives.  
Vet. Clin. Pathol. 34, 85-99
- CHARNEY, S.C., P.J. BERGMAN, A.E. HOHENHAUS und J.A. McKNIGHT (2003)  
Risk factors for sterile hemorrhagic cystitis in dogs with lymphoma receiving cyclophosphamide with or without concurrent administration of furosemide: 216 cases (1990-1996).  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 222 (10), 1388-1393
- CHILD, J.A., E.H. COOPER, S. ILLINGWORTH und T.S. WORTHY (1978)  
Biochemical markers in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma.  
Recent Results Cancer Res. 64, 180-189
- CILIBERTO G., R. ARCONE, E.F. WAGNER und U. RÜTHER (1987)  
Inducible and tissue-specific expression of human C-reactive protein in transgenic mice.  
EMBO J. 6, 4017-4022

- COENEN, J. L. L. M., M. P. VAN DIEIJEN-VISSER, J. VAN PELT, C. T. B. M. VAN DEURSEN, M. M. F. FICKERS, J. W. J. VAN WERSCH und P. J. BROMBACHER (1991)  
Measurements of serum ferritin used to predict concentrations of iron in bone marrow in anemia of chronic disease.  
*Clin. Chem.* 37, 560-563
- COHN, J.N., P.R. KOWEY und P.K. WHELTON (2000)  
New guidelines for potassium replacement in clinical practice.  
*Arch. Intern. Med.* 160, 2429-2436
- COLES, E.H. (1986)  
Veterinary clinical pathology.  
W.B. Saunders Co., Philadelphia, 22-23
- CONNER, J.G., P.D. ECKERSALL, J. FERGUSON und T.A. DOUGLAS (1988)  
Acute phase response in the dog following surgical trauma.  
*Res. Vet. Sci.* 45, 107-119
- COOK, A.K., E.H. BERTOY und C.R. GREGORY (1994)  
Effect of oral cyclosporine (CS) in dogs with refractory immune-mediated anemia (IMA) or thrombocytopenia (ITP).  
*J. Vet. Intern. Med.* 8, 170
- COTTER, S.M. (1992)  
Autoimmune hemolytic anemia in dogs.  
*Compend. Contin. Educ. Vet.* 14, 53-59
- CRAIG, S.R., H.A. LEAVER, P.L. YAP, G.C. PUGH und W.S. WALKER (2001)  
Acute phase responses following minimal access and conventional thoracic surgery.  
*Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 20 (3), 455-463
- CYNISHI, O., Y. SHIMONAKA, M. HIGUCHI, N. IMAI, H. SUZUKI, M. TOGASHI, M.T. OKAMOTO und K. HIRASHIMA (1990)  
Effects of recombinant human erythropoietin on haemolytic anemia in mice.  
*Br. J. Haematol.* 76 (3), 414-419
- DAVIDOW, E.B., und A. ONCKEN (2004a)  
Clinical and laboratory factors associated with prognosis in IMHA cases- a prospective study.  
*J. Vet. Emerg. Crit. Care* 14, S1-S17
- DAVIDOW, E.B., und A. ONCKEN (2004b)  
Risk factors for development of IMHA- a prospective case-control study.  
*J. Vet. Emerg. Crit. Care* 14, S1-S17
- DAY, M.J. (1999)  
Antigen specificity in canine autoimmune haemolytic anemia.  
*Vet. Immunol. Immunopathol.* 69, 215-224
- DENNIS, J.S. (1993)  
Clinical features of canine pulmonary thromboembolism.  
*Compend. Contin. Educ. Vet.* 15 (12), 1595-602
- DIEHL, K.J. (1996)  
Diagnosis and management of intravascular autoimmune hemolytic anemia in the dog.  
*Vet. Allergy Clin. Immunol.* 4, 138-140
- DOBRYSZYCKA, W., D. H. ELWYN und J. C. KURKAL (1969)  
Isolation and chemical composition of canine haptoglobin.  
*Biochim. Biophys. Acta* 175, 220-222

- DOBRYSZYCKA, W. (1997)  
Biological functions of haptoglobin-new piece stone on an old puzzle.  
Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 35, 647-654
- DODDS, W.J. (1977)  
Autoimmune hemolytic disease and other causes of immune-mediated anemia: An overview.  
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 13, 437-440
- DODDS, W.J. (1983)  
Immune-mediated diseases of the blood.  
Adv. Vet. Sci. Comp. Med. 27, 163-196
- DUVAL, D., und U. GIGER (1996)  
Vaccine-associated immune-mediated hemolytic anemia in the dog.  
J. Vet. Intern. Med. 10, 290-295
- EBERSOLE, J., und D. CAPELLI (2000)  
Acute phase reactants in infections and inflammatory diseases.  
Periodontol.2000 23, 19-49
- ECKERSALL, P.D. und J.G. CONNER (1988)  
Bovine and Canine Acute Phase Proteins  
Vet. Res. Commun. 12, 169-178
- ECKERSALL, P.D., J.G. CONNER und H. PARTON (1989)  
An enzyme-linked immunosorbent assay for canine C-reactive protein.  
Vet. Rec. 124, 490-491
- ECKERSALL, P.D., J.G. CONNER und J. HARVIE (1991)  
An immunoturbidimetric assay for canine C-reactive protein.  
Vet. Res. Comm. 15, 17-24
- ECKERSALL, P.D., M.J.A. HARVEY, J.M. FERGUSON, J.P. RENTON, D.A. NICKSON und J.S. BOYD (1993)  
Acute-phase proteins in canine pregnancy (canis-familiaris).  
J. Reprod. Fertil. Suppl. 47, 159-164
- ECKERSALL, P.D. (1995)  
Acute phase proteins as markers of inflammatory lesions.  
Comp. Haematol. Int. 5, 93-97
- ECKERSALL, P.D. (1999)  
The Acute Phase Response in Animals.  
In: "Textbook of the Japanese Society of Veterinary Clinical Pathology", 10-21
- ECKERSALL, P.D., S. DUTHIE, S. SAFI, D. MOFFATT, N.U. HORADAGODA, S. DOYLE, R. PARTON, D. BENNETT und J.L. FITZPATRICK (1999)  
An automated biochemical assay for haptoglobin: Prevention of interference from albumin.  
Comp. Haemat. Int. 9, 11
- ECKERSALL, P.D. (2000)  
Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals.  
Rev. Med. Vet. 151 (7), 577-584
- ECKERSALL, P.D., F.J. YOUNG und C. McCOMB (2001)  
Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis.  
Vet. Rec. 148, 35-41
- ECKERSALL, P.D. (2003)  
C-Reactive Protein and Haptoglobin, markers of infection, inflammation, hyperadrenocorticism and stress in dogs.  
Vet.Clin.Pathol. 32 (3), 154

- ELIN, R. J., S. M. WOLFF und C. A. FINCH (1977)  
Effect of induced fever on serum iron and ferritin concentrations in man.  
Blood 49, 147-153
- ENGELBRECHT, R., B. KOHN, W. LEIBOLD und U. GIGER (2002)  
Klinische Befunde, Diagnostik und Behandlungserfolge bei der primären und sekundären immunhämolytischen Anämie beim Hund.  
Kleintierpraxis 47 (5), 261-328
- FAGIOLO, E., und C. TORIANI-TERENZI (2002)  
Th1 and Th2 cytokine modulation by IL-10/IL-12 imbalance in autoimmune haemolytic anemia (AIHA).  
Autoimmunity 35 (1), 39-44
- FAGIOLO E. (2004)  
Immunological tolerance loss vs. erythrocyte self antigens and cytokine network dysregulation in autoimmune haemolytic anemia.  
Autoimmun Rev. 3 (2), 53-59
- FELDMAN, B.F., J.J. KANEKO und T.B. FARVER (1981)  
Anemia of Inflammatory disease in the Dog: Clinical Characterization.  
Am. J. Vet. Res. 42, 1109-1113
- FELDMAN, B.F., P. HANDAGAMA und A.A.M.E. LUBBERINK (1985)  
Splenoectomy as adjunctive therapy for immune-mediated thrombocytopenia and hemolytic anemia in the dog.  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 187, 617-619
- FELDMAN, B.F., B.R. MADEWELL und S. O'NEILL (1999)  
Disseminated intravascular coagulation: antithrombin, plasminogen, and coagulation abnormalities in 41 dogs.  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 179, 151-154
- FISHER, J.W. (2003)  
Erythropoietin: Physiology and Pharmacology Update.  
Exp. Biol. Med. 228, 1-14
- FOURNIER, T., N. NAJET MEDJOUBI und D. POURQUET (2000)  
Alpha-1-acid glycoprotein: review.  
Biochim. Biophys. Acta. 1482, 157-171
- FRANSSON, B.A., E. KARLSTAM, A. BERGSTROM, A.S. LAGERSTEDT, J.S. PARK, M.A. EVANS und C.A. RAGLE (2004)  
C-reactive Protein in the Differentiation of Pyometra From Cystic Endometrial Hyperplasia/Mucometra in Dogs.  
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 40, 391-399
- FRYER, J.S., M.A. McMICHAEL und M.R. SLATER (2005)  
Effect of Heparin Use on Survival to Discharge of Dogs with Immune-Mediated Hemolytic Anemia.  
Proceedings of the ACVIM Congress 2005
- FUJIMOTO, T., Y. SATO, N. SASAKI, R. TESHIMA, K. HANAOKA und S. KITANI (2003)  
The canine mast cell activation via CRP.  
Biochem. Biophys. Res. Commun. 301 (1), 212-217
- GABAY, C., und I. KUSHNER (1999)  
Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation.  
N. Engl. J. Med. 340, 448-454
- GAHMBERG, C.G., und L.C. ANDERSON (1978)  
Leukocyte surface origin of human alpha 1-acid glycoprotein (oromucoid).  
J. Exp. Med. 148, 507-521

- GENTILINI, F., D. MANCINI, F. DONDI, L. INGRA, M.E. TURBA, M. FORNI, und P. FAMIGLI-BERGAMINI (2005)  
Validation of an Immunoturbidimetric Assay for measuring canine C-reactive protein.  
15<sup>th</sup> ECVIM Congress, Glasgow, Poster Presentations
- GERBER, B., A. STEGER, M. HÄSSIG und T.M. GLAUS (2002)  
Anwendung von humanem Immunglobulin bei Hunden mit primärer immunbedingter hämolytischer Anämie.  
Schweiz. Arch. Tierheilkd. 144 (4), 180-185
- GIGER, U. (2005)  
Regenerative Anemias Caused by Blood Loss or Hemolysis.  
In: S.J.Ettinger and E.C.Feldman (Hrsg.), "Textbook of Veterinary Internal Medicine", 6<sup>th</sup> ed., WB Saunders, New York, 2, 1886-1907
- GOODNOUGH, L.T. (2001)  
Erythropoetin therapy versus red cell transfusion.  
Curr. Opin. Hematol. 8 (6), 405-10
- GREGORY C.R., A. STEWART, B. STURGES, T. DeMANVELLE und A. CANNON (1998)  
Leflunomide effectively treats naturally occurring immune-mediated and inflammatory diseases of dogs that are unresponsive to conventional therapy.  
Transplant Proc. 30(8), 4143-4148
- GRUNDY, S.A., und C. BARTON (2001)  
Influence of drug treatment on survival of dogs with immune-mediated haemolytic anemia: 88 cases (1989-1999).  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 218(4), 543-546
- HAHN, K.A., K.P. FREEMAN, M.A. BARNHILL und E.L. STEPHEN (1999)  
Serum alpha 1-acid glycoprotein concentrations before and after relapse in dogs with lymphoma treated with doxorubicin.  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 214 (7), 1023-1025
- HARVEY, J.W., und C.L. WEST (1987)  
Prednisone- induced Increases in Serum Alpha-2-Globulin and Haptoglobin Concentrations in Dogs.  
Vet. Pathol. 24, 90-92
- HAYASHI, S., T. JINBO, K. IGUCHI, M. SHIMIZU, T. SHIMADA, M. NOMURA, Y. ISHIDA und S. YAMAMOTO (2001)  
A comparison of the Concentrations of C-reactive Protein and  $\alpha$ 1-Acid Glycoprotein in the Serum of Young and Adult Dogs with Acute Inflammation.  
Vet. Res. Commun. 25, 117-126
- HEINRICH, P.C., J.V. CASTELL und T. ANDUS (1990)  
Interleukin-6 and the acute phase response.  
Biochem. J. 265, 621-636
- HISS, S. (2001)  
Entwicklung und Validierung von enzymimmunologischen Messverfahren zur Bestimmung von Haptoglobin bei verschiedenen Haustierspezies und erste Anwendungen in Pilotstudien.  
Diss. vet. med., Tierärztliche Hochschule Hannover, Shaker Verlag Aachen 2001, ISBN 3-8265-9010-4
- HOBISCH-HAGEN, P., F. WIEDEMANN, A. MAYR, D. FRIES, W. JELKMANN, D. FUCHS, W. HASIBEDER, N. MUTZ, A. KLINGLER und W. SCHOBERSBERGER (2001)  
Blunted erythropoetic response to anemia in multiply traumatized patients.  
Crit. Care. Med. 29 (4), 743-747
- HÖRL, W., C. JACOBS und I.C. MACDOUGALL (2000)  
European Survey on Anemia Management (ESAM).  
Nephrol. Dial. Transplant. 15 (4), 43-45

- HOJO, T., R. OHNO und M. SHIMODA (2002)  
Enzyme and plasma protein induction by multiple oral administrations of phenobarbital at a therapeutic dosage regimen in dogs.  
J. Vet. Pharmacol. Ther. 25, 121-127
- HOLD, P.R., und E. GRUYS (1984)  
Amyloid A proteins in different species.  
Appl. Pathol. 2, 316-327
- HOLM, J.L., E.A. ROZANSKI, L.M. FREEMAN und C.R.L. WEBSTER (2004)  
C-reactive protein concentrations in canine acute pancreatitis.  
J. Vet. Emerg. Crit. Care 14 (3), 183-186
- HONECKMAN, A.L., D.W. KNAPP und W.J. REAGAN (1996)  
Diagnosis of canine immune-mediated hematologic disease.  
Compend. Contin. Educ. Vet. 18, 113-125
- HONECKMAN, A. (1997)  
Immunvermittelte hämatologische Erkrankungen beim Hund.  
Waltham Focus 7, 2-8
- IKENOUE, N., J. SAITSU, M. SHIMODA und E. KOKUE (2000)  
Disease-induced alterations in plasma drug binding proteins and their influence on drug binding percentages in dogs.  
Vet. Q. 22, 43-49
- JABS, W.J., B.A. LÖGERING, P. GERKE, B. KREFT, E.M. WOLBER, M.H.F. KLINGER, L. FRICKE und J. STEINHOFF (2003)  
The kidney as a second site of human C-reactive protein formation *in vivo*.  
Eur. J. Immunol. 33, 152-161
- JACOBS, R.M., R.J. MURTAUGH und D.B. CROCKER (1984)  
Use of a microtiter Coombs' test for a study of age, gender, and breed distributions in immunohemolytic anemia of the dog.  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 185, 66-69
- JACKSON, M.L., und S.A. KRUTH (1985)  
Immune-mediated hemolytic anemia and thrombocytopenia in the dog: A retrospective study of 55 cases diagnosed from 1969 through 1983 at the Western College of Veterinary Medicine.  
Can. Vet. J. 26, 245-250
- JELKMANN, W. (1998)  
Proinflammatory cytokines lowering erythropoietin production.  
J. Interferon Cytokine Res. 18 (8), 555-559
- JENKINS, T.S., K.S. BLACK und C.W. HEWITT (1986)  
Treatment of autoimmune hemolytic anemia in the dog.  
Canine Pract. 13, 39-45
- JERGENS, A.E., C.A. SCHREINER, D.E. FRANK, Y. NIYO, F.E. AHRENS, P.D. ECKERSALL, T.J. BENSON und R. EVANS (2003)  
A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease.  
J. Vet. Intern. Med. 17 (3), 291-297
- JOHNSON, H.L., C.C. CHIOU und C.T. CHO (1999)  
Applications of acute phase reactants in infectious disease.  
J. Microbiol. Immunol. Infect., 32 (2), 73-82
- KAJIWAKA, T., A. FURUTA, T. ONISHI, T. TAJIMA und S. SUGII (1999)  
Changes in concentrations of serum amyloid A protein, alpha 1-acid glycoprotein, haptoglobin, and C-reactive protein in feline sera due to induced inflammation and surgery.  
Vet. Immunol. Immunopathol. 68 (1), 91-98

- KELLERMAN, D.L., D.C. LEWIS und D.S. BRUYETTE (1995)  
Canine immune-mediated hemolytic anemia: A retrospective analysis of 37 cases.  
J. Vet. Intern. Med. 9, 189
- KELLERMAN, D.L., und D.S. BRUYETTE (1997)  
Intravenous human immunoglobulin for the treatment of immune-mediated hemolytic anemia in 13 dogs.  
J. Vet. Intern. Med. 11, 327-332
- KEREIAKES, D.J. (2003)  
The fire that burns within: C-reactive protein.  
Circulation 107, 373-374
- KJELGAARD-HANSEN, M., A.T. KRISTENSEN und A.L. JENSEN (2003a)  
Evaluation of a Commercially Available Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the Determination of C-Reactive Protein in Canine Serum.  
J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med. 50 (3), 164
- KJELGAARD-HANSEN, M., A.L. JENSEN und A.T. KRISTENSEN (2003b)  
Evaluation of a commercially available human C-reactive protein (CRP) turbidometric immunoassay for determination of canine serum CRP concentration.  
Vet. Clin. Pathol. 32 (2), 81-87
- KJELGAARD-HANSEN, M., A.L. JENSEN und A.T. KRISTENSEN (2004)  
Internal quality control of a turbidimetric immunoassay for canine serum C-reactive protein based on pooled patient samples.  
Vet. Clin. Pathol. 33 (3), 139-144
- KLAGE, A.R., U. GIGER und F.S. SHOFER (1993)  
Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia in dogs : 42 cases (1986-1990).  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 202, 783-788
- KLEIN, M.K., S.W. DOW und R.A.W. ROSYCHUK (1989)  
Pulmonary thromboembolism associated with immune-mediated hemolytic anemia in dogs: Ten cases (1982-1987).  
J. Vet. Med. Assoc. 195, 246-250
- KOHN, B., und U. GIGER (2001)  
Anämien, Polyzythämien, Gerinnungsstörungen.  
In: Suter, P.F. u. H.G. Niemand (Hrsg.): Praktikum der Hundeklinik. 9.Auflage, Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, 637-640
- KRAFT, W. (1999)  
Referenzbereiche.  
In: Kraft, W. und U.M. Dürr (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 5. Auflage, Schattauer Verlagsgesellschaft, Stuttgart, New York, 344-363
- KRAFTE-JACOBS, B., M.L. LEVETOWN, G.L. BRAY, U.E. RUTTIMANN und M. POLLACK (1994)  
Erythropoietin response to critical illness.  
Crit. Care Med. 22 (5), 821-6
- KRZYZANOWSKI, J., W. WAWRON und L. KRAKOWSKI (2000)  
A study of unspecific immune mechanisms in bitches with pyometra.  
Med. Weter. 56, 382-385
- KURIBAYASHI, T., T. SHIMADA, M. MATSUMOTO, K. KAWATO, T. HONJYO, M. FUKUYAMA, Y. YAMAMOTO und S. YAMAMOTO (2003 a)  
Determination of Serum C-Reactive Protein (CRP) in Healthy Beagle Dogs of Various Ages and Pregnant Beagle Dogs  
Exp. Anim. 52 (5), 387-390

- KURIBAYASHI, T., M. SHIMUZU und T. SHIMADA (2003 b)  
Alpha 1-acid glycoprotein (AAG) levels in healthy and pregnant beagle dogs.  
*Exp. Anim.* 52, 377-381
- KUROSUKY, A., R. DON BARNETT, L. TONG-HO, B. TOUCHSTONE, R.E. HAY, M.S. ARNOTT, B.H. BOWMAN und W.M. FITCH (1980)  
Covalent structure of human haptoglobin: A serine protease homolog.  
*Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 77, 3388-3392
- KUSHNER, I., und A. MACKIEWICZ (1993)  
The acute phase response: an overview.  
In: Mackiewicz A., Kushner I., Baumann H. (Hrsg.), "Acute Phase Proteins: Molecular Biology, Biochemistry and Clinical Applications", CRC Press, Florida, 3-19
- LACKI, J.K., W. SAMBORSKI, S. MACKIEWICZ und U. MACKIEWICZ (1995)  
Do changes in clinical improvement in rheumatoid arthritis patients treated with immunosuppressive drugs reflect the changes in acute phase proteins?  
*Ups. J. Med. Sci.* 100 (3), 233-42
- LAURELL, C. B. (1985)  
Acute phase proteins-a group of protective proteins.  
*Rec. Adv. Clin. Biochem.* 103-124
- LIBERT, C., P. BROUCKAERT und W. FIERS (1994)  
Protection by alpha 1-acid glycoprotein against tumor necrosis factor-induced lethality.  
*J. Exp. Med.* 180, 1571-1575
- LIN, Y., M.W. RAJALA und J.P. BERGER (2001)  
Hyperglycemia-induced production of acute phase reactants in adipose tissue.  
*J. Biol. Chem.* 276, 42077-42083
- LINK, M., und R. DORSCH (2001)  
Die Behandlung immunmediierter hämolytischer Anämien des Hundes mit humanen Gammaglobulinen.  
*Tierärztliche Praxis* 29 (4), 229-233
- LIPPERHEIDE, C., N. DIEPERS, F. LAMPREAVE, M. ALAVA und B. PETERSEN (1998)  
Nephelometric determination of haptoglobin plasma concentrations in fattening pigs.  
*J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 45, 543-550
- LOBETTI, R.G., A.J. MOHR, T. DIPPENAAR und E. MYBURGH (2000)  
A preliminary study on the serum protein response in canine babesiosis.  
*J. S. Afr. Vet. Assoc.* 71 (1), 38-42
- LOBETTI, R.G., und T. SCHOENMAN (2001)  
Immune mediated haemolytic anemia: possible association with *Ancylostoma caninum* infection in three dogs.  
*J. S. Afr. Vet. Assoc.* 72 (1), 52-54
- MACDOUGALL, I.C., und A.C. COOPER (2002)  
Erythropoietin resistance: the role of inflammation and pro-inflammatory cytokines.  
*Nephrol. Dial. Transplant.* 17(11), 39-43
- MALYA, R.K., F.C. DE BEER und H. BERRY (1982)  
Correlation of clinical parameters of disease activity in rheumatoid arthritis with serum concentration of C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate.  
*J. Rheumatol.* 9, 224-228
- MALIK, E., O. BUCHWEITZ, M. MULLER-STEINHARDT, P. KRESSIN, M.A. MEYHOFER und K. DIEDRICH (2001)  
Prospective evaluation of the systemic immune response following abdominal, vaginal, and laparoscopically assisted vaginal hysterectomy.  
*Surg. Endosc.* 15 (5), 463-466

- MARTINEZ-SUBIELA, S., F. TECLES, P.D. ECKERSALL und J.J. CERON (2002)  
Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniosis.  
Vet. Rec. 50, 241-244
- MARTINEZ-SUBIELA, S., F. TECLES und J.J. CERON (2003a)  
Critical differences of acute phase proteins in canine serum samples.  
Vet. J. 166, 233-237
- MARTINEZ- SUBIELA, S., L.J. BERNAL und J.J. CERON (2003b)  
Serum concentrations of acute-phase proteins in dogs with leishmaniosis during short-term treatment.  
Am. J. Vet. Res. 64 (8), 1021-1025
- MARTINEZ-SUBIELA, S., P.J. GINEL und J.J. CERON (2004)  
Effects of different glucocorticoid treatments on serum acute phase proteins in dogs.  
Vet. Rec. 154, 814-817
- MARTINEZ-SUBIELA, S. und J.J. CERON (2005)  
Effects of hemolysis, lipemia, hyperbilirubinemia, and anticoagulants in canine C-reactive protein, serum amyloid A and ceruloplasmin assays.  
Can. Vet. J. 46, 625-629
- MASON, N., D. DUVAL, F.S. SHOFER und U. GIGER (2003)  
Cyclophosphamid exerts no beneficial effect over prednisone alone in the initial treatment of acute immune-mediated haemolytic anemia in dogs: a randomized controlled clinical trial.  
J. Vet. Int. Med. 17 (2), 206-212
- MATIJATKO, V., N. KUCER, R. BARIC-RAFAJ, J. FORSEK, I. KIS, D. POTOČNJAK, V. RAZDOROV und V. MRLJAK (2002)  
CRP-concentration in dogs with uncomplicated and complicated babesiosis.  
Proceedings of the Third Colloquium on Food Safety and Acute Phase Proteins. Doorn, The Netherlands; 2002:55
- MATUS, R.E., L.A. SCHRADER, C.E. LEIFER, B.R. GORDON und A.A. HURVITZ (1985)  
Plasmapheresis as adjuvant therapy for autoimmune haemolytic anemia in two dogs.  
J. Am. Vet. Assoc. 186 (7), 691-693
- McCULLOUGH, S. (2003)  
Immune-mediated hemolytic anemia: understanding the nemesis.  
Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 33, 1295-1315
- McGROTTY, Y.L., C.M. KNOTTENBELT, I.K. RAMSEY, S.W.J. REID und P.D. ECKERSALL (2003)  
Haptoglobin concentrations in a canine hospital population.  
Vet. Rec. 152, 562-564
- McGROTTY, Y.L., C.M. KNOTTENBELT und I.K. RAMSEY (2004)  
Evaluation of a rapid assay for canine C-reactive protein.  
Vet. Rec. 154, 175-176
- McMANUS, P.M., und L.E. CRAIG (2001)  
Correlation between leukocytosis and necropsy findings in dogs with immune-mediated haemolytic anemia: 34 cases (1994-1999).  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 218 (8), 1308-1313
- McMILLAN, D.C., H.A. WOTHERSPOON, K.C. FEARON, C. STURGEON, T.G. COOKE und C.S. McARDLE (1995)  
A prospective study of tumor recurrence and the acute-phase response after apparently curative colorectal cancer surgery.  
Am. J. Surg. 170 (4), 319-322
- MEANS, R.T. Jr. (1999)  
Advances in the anemia of chronic disease.  
Int. J. Hematol. 70 (1), 7-12

- MELLANBY, R.J., A. HOLLOWAY, J. CHANTREY, M.E. HERRTAGE und J.M. DOBSON (2004)  
Immune-mediated haemolytic anemia associated with a sarcoma in a flat-coated retriever.  
*J. Small Anim. Pract.* 45 (1), 21-24
- MELLOR, P.J., A.J. ROULOIS, M.J. DAY, B.A. BLACKLAWS, S.J. KNIVETT und M.E. HERRTAGE (2005)  
Neutrophilic dermatitis and immune-mediated haematological disorders in a dog: suspected adverse reaction to carprofen.  
*J. Small Anim. Pract.* 46 (5), 237-242
- MERLINI, G., V. PERFETTI, P.G. GOBBI, S. QUAGLINI, D.M. FRANCIOTTA und E. MARINO ASCARI (1993)  
Acute phase proteins and prognosis in multiple myeloma.  
*Br. J. Haematol.* 83 (4), 595-601
- MILLER, E. (2000)  
CVT update: diagnosis and treatment of immune mediated haemolytic anemia.  
In: "Current veterinary therapy XIII", WB Saunders, Philadelphia, 427-434
- MILLER, S.A., A.E. HOHENHAUS und A.S. HALE (2004)  
Case-control study of blood type, breed, sex and bacteremia in dogs with immune-mediated hemolytic anemia.  
*J. Am. Vet. Med. Assoc.* 224, 232-235
- MILLS, J.N., M.J. DAY, S.E. SHAW und W.J. PENHALE (1985)  
Autoimmune haemolytic anaemia in dogs.  
*Aust. Vet. J.* 62, 121-123
- MISCHKE, R., P. WOHLSEIN und L. BUSSE (1998)  
Disseminated intravascular coagulation and hyperfibrinolysis in dogs with metastasized mammary carcinoma.  
*Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 140, 497-505
- MISCHKE, R. (1998)  
Hämostasesstörungen als Komplikation der autoimmunhämolytischen Anämie beim Hund.  
*Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 105, 13-16
- MISCHKE, R.H., C. SCHUTTERT und S.I. GREBE (2001)  
Anticoagulant effects of repeated subcutaneous injections of high doses of unfractionated heparin in healthy dogs.  
*Am. J. Vet. Res.* 62, 1887-1891
- MOMINOKI, K., N. NAKAGAWA-TOSA und M. MORIMATSU (1995)  
Haptoglobin in carnivores: a unique molecular structure in bear, cat and dog haptoglobins.  
*Comp. Biochem. Physiol.* 110B, 785-789
- MOSHAGE, H. (1997)  
Cytokines and the hepatic acute phase response.  
*J. Pathol.* 181, 257-266
- NIMEH, N., und R.C. BISHOP (1980)  
Disorders of iron metabolism.  
*Med. Clin. North. Am.* 64, 631-65
- NISSENSON, A.R. (1994)  
Erythropoietin overview-1993.  
*Blood Purif.* 12 (1), 6-13
- NOBLE, S.J., und P.J. ARMSTRONG (1999)  
Bee sting envenomation resulting in secondary immune-mediated haemolytic anemia in two dogs.  
*J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214 (7), 1026-1027
- OGILVIE, G.K., L.M. WALTERS, S.G. GREELEY, S.E. HENKEL und M.D. SALMAN (1993)  
Concentration of alpha 1-acid glycoprotein in dogs with malignant neoplasia.  
*J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203 (8), 1144-1146

- OHWADA, K., und K. TAMURA (1995)  
Usefulness of alpha 1-acid glycoprotein values in screening pound dogs acquired from animal shelters for experimental use.  
*Exp. Anim.* 42, 627-630
- OPDENAKKER, G., W.E. FIBBE und J. VAN DAMME (1998)  
The molecular basis of leukocytosis.  
*Immunol. Today* 19, 182-189
- OTABE, K., T. SUGIMOTO, T. JINBO, M. HONDA, S. KITAO, S. HAYASHI, M. SHIMIZU und S. YAMAMOTO (1998)  
Physiological levels of C-reactive Protein in normal canine sera  
*Vet. Res. Commun.* 22, 77-85
- OTABE, K., T. ITO, T. SUGIMOTO und S. YAMAMOTO (2000)  
C-reactive protein (CRP) measurement in canine serum following experimentally-induced acute gastric mucosal injury.  
*Lab. Anim.* 34, 434-438
- OWEN, J.A., R. SMITH, R. PADANYI und J. MARTIN (1964)  
Serum Haptoglobin in disease.  
*Clin. Sci.* 26, 1-6
- PARRA, M.D., K. PAPASOULIOTIS und J.J. CERON (2004)  
C-reactive protein levels in canine effusions: a preliminary study.  
*Vet. Clin. Pathol.* 33, 257
- PARRA, M.D., M. TUOMOLA, J. CABEZAS-HERRERA und J.J. CERON (2005a)  
Use of a time-resolved immunofluorometric assay for determination of canine C-reactive protein concentration in whole blood.  
*Am. J. Vet. Res.*, 66 (1), 62-66
- PARRA, M.D., F. TECLES, S. MARTINEZ-SUBIELA und J.J. CERON (2005b)  
C-reactive protein measurement in canine saliva.  
*J. Vet. Diagn. Invest.* 17, 139-144
- PARRA, M.D., V. VÄISÄNEN und J.J. CERON (2005c)  
Development of a time-resolved fluorometry based immunoassay for the determination of canine haptoglobin in various body fluids.  
*Vet. Res.* 36, 117-129
- PARRA, M.D., L. PAPASOULIOTIS und J.J. CERON (2006)  
Concentrations of C-reactive protein levels in effusions in dogs.  
*Vet. Rec.* 158, 753-757
- PEDDI, V.R., und M.R. FIRST (2001)  
Recent advances in immunosuppressive therapy for renal transplantation.  
*Semin. Dial.* 14 (3), 218-23
- PEPYS, M.B., J.G. LANHAM und F.C. DE BEER (1982)  
C-reactive protein in SLE.  
*Clin. Rheum. Dis.* 8, 91-103
- PESILLO, S.A., L.M. FREEMAN und J.E. RUSH (2004)  
Assessment of lipid peroxidation and serum vitamin E concentration in dogs with immune-mediated hemolytic anemia.  
*Am. J. Vet. Res.* 65(12), 1621-4
- PLUMB, D.C. (2001)  
Veterinary drug handbook, 4<sup>th</sup> edition  
Ames, IA, Iowa State Press, Minnesota, 216-219

- POLAND, D.C.W., E. KRATZ und J.P. VERMEIDEN (2002)  
High levels of  $\alpha$ 1-acid glycoprotein in human seminal plasma is associated with high branching and expression of Lewis groups on its glycans: supporting evidence for a prostatic origin.  
Prostate 52, 34-42
- PRÜFER, A. (1995)  
Die autoimmunhämolytische Anämie des Hundes: Retrospektive Studie an 41 Fällen.  
Kleintierpraxis 40, 649-662
- PUTNAM, W.F. (1975)  
Haptoglobin.  
In: The Plasma Proteins. Structure, Function and Genetic Control, Vol. 2, Academic Press, New York, 1-50
- QUIGLEY, K.A., B.J. CHELACK, D.M. HAINES und M.L. JACKSON (2001)  
Application of a direct flow cytometric erythrocyte immunofluorescence assay in dogs with immune-mediated haemolytic anemia and comparison of the direct antiglobulin test.  
J. Vet. Diagn. Invest. 13, 927-300
- REIMER, M.E., G.C. TROY und L.D. WARNICK (1999)  
Immune-mediated hemolytic anemia: 70 cases (1988-1996).  
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 35, 384-391
- RENTKO, V.T., S. HANDLER und B. HANSON (2002)  
Influence of oxygen-carrying support on survival in dogs with immune mediated hemolytic anemia: 143 cases (1999).  
J. Vet. Emerg. Crit. Care 12 (3), 198
- RENY, J.L., A. VUAGNAT und C. RACT (2002)  
Diagnosis and follow up of infections in intensive care patients: value of C-reactive protein compared with other clinical and biological variables.  
Crit. Care Med. 30, 529-535
- RIKISHA, Y., S. YAMAMOTO, I. KWAK, Z. IQBAL, G. KOCIBA, J. MOTT und W. CHICHANASIRIWITHAYA (1994)  
C-Reactive Protein and  $\alpha$ 1-Acid Glycoprotein Levels in Dogs Infected with Ehrlichia canis.  
J. Clin. Microbiol. 32 (4), 912-917
- ROGIERS, P., H. ZHANG, M. LEEMAN, J. NAGLER, H. NEELS, C. MELOT und J.L. VINCENT (1997)  
Erythropoietin response is blunted in critically ill patients.  
Intensive Care Med. 23 (2), 159-162
- ROLEFF, S. (2005)  
Klinische Evaluierung des automatischen Blutzellzählgerätes CA530-VET durch Vergleich mit dem CELL-DYN 3500 und Standardmethoden für die Tierarten Hund, Katze und Pferd.  
Vet. Med. Diss. Berlin
- RUSH, J.E., N.D. LEE, L.M. FREEMAN und B. BREWER (2006)  
C-Reactive Protein Concentration in Dogs with Chronic Valvular Disease.  
J. Vet. Intern. Med. 20, 635-639
- SAARINEN, U.M., S.E. STRANDJORD, P.I. WARKENTIN, N.K.V. CHEUNG, H.M. LAZARUS und P.F. COCCIA (1987)  
Differentiation of presumed sepsis from acute graft-versus-host disease by C-reactive protein and serum total IgE in bone marrow transplant recipients.  
Transplantation 44, 540-546
- SAITO, T., A. KUWAHARA, K. SHIMODA, T. KINOSHITA, K. SATO, M. MIYAHARA und M. KOBAYASHI (1991)  
Factors influencing the acute phase protein levels in patients with esophageal cancer.  
Jpn. J. Surg. 21 (4), 402-411

- SCHAFFER, A.I. (1985)  
The hypercoagulable states.  
Ann. Intern. Med. 102, 814-828
- SCHLAG, G., und H. REDL (1996)  
Mediators of injury and inflammation.  
World J. Surg. 20 (4), 406-410
- SCHOBERSBERGER, W., P. HOBISCH-HAGEN und D. FUCHS et al. (1998)  
Pathogenesis of anemia in the critically ill patient.  
Clin. Intensive Care 9, 111-117
- SCHREIBER A., und M. FRANK (1988)  
Acquired hemolytic anemia.  
In: Samter M. (Hrsg.), „Immunological disorders“. 4th edition. Littler, Brown and Company, Boston, 1120-1174
- SCHWARTZ, R.S., L.E. SILBERSTEIN und E.M. BERKMAN (1995)  
Autoimmune hemolytic anemias.  
In: Hoffmann, R., E.J. Benz jr., S.J. Shattil, B. Furie, H.J. Cohen u. L.E. Silberstein (Hrsg.):  
„Hematology, Basic Principles and Practice“. 2. Ausgabe, Churchill Livingstone, New York, 710-729
- SCOTT-MONCRIEFF, J.C., W.J. REAGAN, P.W. SNYDER und L.T. GLICKMAN (1997)  
Intravenous administration of human immune globuline in dogs with immune-mediated hemolytic anemia.  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 210, 1623-1627
- SCOTT-MONCRIEFF, J.C., N.G. TREADWELL, S.M. McCULLOUGH und M.B. BROOKS (2001)  
Hemostatic abnormalities with primary immune mediated haemolytic anemia.  
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 37, 220-227
- SCOTT-MONCRIEFF, J.C. (2005)  
Prevention of Thromboembolic Complications of Canine IMHA: Are We Any Closer?  
Proceedings, ACVIM Congress 2005, Baltimore
- SELLAR, G.C., M.C. DEBEER und J.M. LELIAS (1991)  
Dog serum amyloid A protein.  
J. Biol. Chem. 266, 3505-3510
- SEVELIUS, E., und M. ANDERSON (1995)  
Serum protein electrophoresis as a prognostic marker of chronic liver disease in dogs.  
Vet. Rec. 137, 663-667
- SHIFRINE, M., und C. STORMONT (1973)  
Hemoglobins, haptoglobins and transferrins in beagles.  
Lab. Anim. Sci. 23, 704-760
- SHIM, B. S., C. S. YOON, S. K. OH, T. H. LEE und Y. S. KANG (1971)  
Studies of swine and canine serum haptoglobins.  
Biochim. Biophys. Acta 243, 126-136
- SHIMADA, T., Y. ISHIDA, M. SHIMIZU, M. NOMURA, K. KAWATO, K. IGUCHI und T. JINBO (2002)  
Monitoring C-reactive Protein in Beagle Dogs Experimentally Inoculated with Ehrlichia canis.  
Vet. Res. Commun. 26, 171-177
- SIPE, J.D. (1995)  
Acute-phase proteins in osteoarthritis.  
Semin. Arthritis Rheum. 25 (2), 75-86
- SKUBITZ, K.M. (1999)  
Neutrophilic leukocytes.  
In: Lee GR, Foerster J., Lukens J., et al. (Hrsg.). „Wintrobe's clinical hematology. 10<sup>th</sup> ed.“, Lea & Febiger, Philadelphia, 300-350

- SLAPPENDEL, R.J. (1979)  
The diagnostic significance of the direct antiglobulin test (DAT) in anemic dogs.  
Vet. Immunol. Immunopathol. 1, 49-59
- SMITH, J.E., P.S. CHAVEY und G.A. ANDREWS (1998)  
Semiautomatic and robotic methods for determining serum haptoglobin levels.  
Vet. Clin. Pathol. 27, 11-14
- SOLTER, P.F., W.E. HOFFMANN, L.L. HUNGERFORD, J.P. SIEGEL, S.H.S. DENIS und J.L. DORNER (1991)  
Haptoglobin and ceruloplasmin as determinants of inflammation in dogs.  
Am. J. Vet. Res. 52 (10), 1738-1742
- SPILLMANN, T., J. KORELL, A. WITTKER, S. BÖRNGEN und M. KRÜGER (2004)  
Serum canine pancreatic elastase and canine C-reactive protein for the diagnosis and prognosis of acute pancreatitis in dogs.  
ECVIM Proceedings 2004, Barcelona
- STAMATIADIS, A.P., M.ST. TOUMANIDOU, G.P. VYSSOULIS, A.J. MANOURAS und N.S. APOSTOLIDIS (1990)  
Value of serum acute-phase reactant protein and carcinoembryonic antigen in the preoperative staging of colorectal cancer. A multivariate analysis.  
Cancer 65 (9), 2055-2057
- STEINHOFF, J., U. BÜHNER, A. FEDDERSEN, W.G. WOOD, G. WIEDEMANN, R. PREUSS, L. FRICKE, P. FÄRBER, J. HOYER und K. SACK (1992)  
Analysis of C-reactive protein in urine as an aid in the clinical diagnosis of disturbed renal transplant function.  
Transplant. Proc. 24, 2735-2737
- STEINHOFF, J., G. EINECKE, C. NIEDERSTADT, K. DE GROOT, L. FRICKE, H. MACHNIK und K. SACK (1997)  
Renal graft rejection or urinary tract infection? The value of myeloperoxidase, C-reactive protein, and alpha 2 macroglobulin in the urine.  
Transplantation 64, 443-447
- STOCKHAUS, C. (1998)  
Gerinnungsparameter beim Hund und deren Veränderungen beim Mammakarzinom.  
Vet. Med. Diss. Berlin
- STEWART, A.F., und B.F. FELDMAN (1993a)  
Immune-mediated hemolytic anemia. Part I. An overview.  
Comp. Cont. Educ. Vet. 15, 372-381
- STEWART, A.F., und B.F. FELDMAN (1993b)  
Immune-mediated hemolytic anemia. Part II. Clinical entity, diagnosis, and treatment theory.  
Comp. Cont. Educ. Vet. 15, 1479-1491
- SWITZER, J.W., und N.C. JAIN (1981)  
Autoimmune hemolytic anemia in dogs and cats.  
Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 11, 405-419
- SZCZEPANEK D., M. CZOCHRA, E. ZDERKIEWICZ, A. MOSIEWICZ und A. HARASIMIUK (1997)  
Biological and clinical significance of acute phase proteins with particular emphasis on the role of C-reactive protein.  
Wiad. Lek. 50 (4-6), 112-116
- TAGATA, K., S. YOKOYAMA, T. GINBO, M. HONDA, T. OKIMURA, M. ODAKURA, M. NOMURA und S. YAMAMOTO (1996)  
Quantitative capillary reversed passive latex agglutination test for C-reactive protein (CRP) in the dog.  
Vet. Res. Commun. 20, 21-30

- TAKAMI, M. J. (1993)  
Catabolism of heme moiety of haemoglobin-haptoglobin in rat liver cells in vivo.  
*J. Biol. Chem.* 268, 20335-20342
- TECLES, F., E. SPIRANELLI, U. BONFATI, J.J. CERON und S. PALTINIERI (2005a)  
Preliminary Studies of Serum Acute-Phase Protein Concentrations in Hematologic and Neoplastic Diseases of the Dog.  
*J. Vet. Intern. Med.* 19, 865-870
- TECLES, F., S. MARTINEZ-SUBIELA, M.D. PARRA, E. SPIRANELLI, S. PALTRINIERI und J.J. CERON (2005b)  
Use of acute phase proteins for monitoring treatment evolution in dogs with different pathologic conditions.  
ESVCP Annual Meeting Abstracts, Utrecht
- THOMPSON, D., A. MILFORD-WARD und J. WHICHER (1992)  
The value of acute phase measurements in clinical practice.  
*Ann. Clin. Biochem.* 29, 123-131
- THOUGAARD, A.V., E. HELLMEN, H.D. PEDERSEN und A.L. JENSEN (1999)  
Correlation between alpha(1)-acid-glycoprotein and total sialic acid in serum from dogs with tumors.  
*J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 46, 231-237
- TILLET, W.S., und J. FRANCIS (1930)  
Serological reactions in pneumonia with nonprotein somatic fraction of pneumococcus.  
*J. Exp. Med.* 52, 561-571
- TORIANI-TERENZI, C., U. POZZETTO, M. BIANCHI und E. FAGIOLO (2002)  
Cytokine network in autoimmune hemolytic anemia: new probable targets for therapy.  
*Cancer Detect. Prev.* 26, 292-298
- TORIANI-TERENZI, C., und E. FAGIOLO (2005)  
IL-10 and the Cytokine Network in the Pathogenesis of Human Autoimmune Hemolytic Anemia.  
*Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1051, 29-44
- TOSA, N., M. MORIMATSU und M. NAKAGAWA (1993)  
Purification and identification of a serum protein increased by antihelminthic drugs for *Dirofilaria immitis* in dogs.  
*J. Vet. Med. Sci.* 55, 27-31
- UHLAR, C.M., und A. WHITEHEAD (1999)  
Serum Amyloid A, the major vertebrate acute phase reactant.  
*Eur. J. Biochem.* 265, 501-523
- ULUTAS, B., G.BAYRAMLI, P.A. ULUTAS und T. KARAGENC (2005)  
Serum concentration of some acute phase proteins in naturally occurring canine babesiosis: a preliminary study.  
*Vet. Clin. Pathol.* 34 (2), 144-147
- VADEN S.L., B. M. PRESSLER, M.R. LAPPIN und W.A. JENSEN (2004)  
Effects of urinary tract inflammation and sample blood contamination on urine albumin and total protein concentrations in canine urine samples.  
*Vet. Clin. Pathol.* 33 (1), 14-19
- VANNUCCHI, C.I., R.M. MIRANDOLA und C.M. OLIVEIRA (2002)  
Acute-phase protein profile during gestation and diestrus: proposal for an early pregnancy test in bitches.  
*Anim. Reprod. Sci.* 74, 87-99
- WARDROP, K.J. (2005)  
The Coombs' test in veterinary medicine: past, present, future.  
*Vet. Clin. Pathol.* 34, 325-334

- WARREN, R.W., und M.L. COLLINS (1988)  
Immune haemolytic anemia in children.  
Crit. Rev. Oncol. Hematol. 8, 65-73
- WEIDEMEYER, C. E., und P. F. SOLTER (1996)  
Validation of human haptoglobin immunoturbidometric detection of haptoglobin in equine and canine serum and plasma.  
Vet. Clin. Pathol. 25, 141-146
- WEINKLE, T.K., S.A. CENTER, J.F. RANDOLPH, K.L. WARNER, S.C. BARR und H.N. ERB (2005)  
Evaluation of prognostic factors, survival rates, and treatment protocols for immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 151 cases (1993-2002).  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 226 (11), 1869-1880
- WEISS, D.H. (1984)  
Uniform evaluation and semiquantitative reporting of hematologic data in veterinary laboratories.  
Vet. Clin. Pathol. 13, 27-31
- WHICHER, J.T., und C.I. WESTACOTT (1992)  
The acute phase response.  
In: Whicher J.T., Evans S.W. (Hrsg.). "Biochemistry of inflammation". Kluwer Academic, London, 243-272
- WHITE, H.L., T.E. O'TOOLE und E.A. ROZANSKI (2002)  
Early treatment of canine immune-mediated haemolytic anemia with intravenous immunoglobulin: 11 cases (1998-2001) [Abstract].  
J. Vet. Intern. Med. 16, 351
- XIE, J.F. (1991)  
Clinical significance of serum ferritin and acute phase reactant protein levels in patients with cervical cancer.  
Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi 26, 92-94
- YAMAMOTO, S., K. TAGATA und H. NAGHATA et al. (1992)  
Isolation of C-reactive protein and characterization of its properties.  
Vet. Immunol. Immunopathol. 30, 329-339
- YAMAMOTO, S., T. SHIDA, S. MIYAJI, H. SANTSUKA, H. FUJISE, K. MUKAWA, E. FURUKAWA, T. NAGAE und M. NAIKI (1993)  
Changes in Serum C-Reactive Protein levels in dogs with various disorders and surgical traumas.  
Vet. Res. Commun. 17, 85-93
- YAMAMOTO, S., S. MIYADI und Y. ASHIDA (1994)  
Preparation of anti-canine serum amyloid A (SAA) serum and purification of SAA from canine high-density lipoprotein.  
Vet. Immunol. Immunopathol. 41, 41-53
- YAMAMOTO, S., T. SHIDA, T. OKIMURA, K. OTABE, M. HONDA, Y. ASHIDA, E. FURUKAWA, M. SARIKAPUTI und M. NAIKI (1994a)  
Determination of C-reactive protein in serum and plasma from healthy dogs and dogs with pneumonia by ELISA and slide reversed passive latex agglutination test.  
Vet. Q. 16 (2), 74-77
- YAMAMOTO, S., T. SHIDA, M. HONDA, Y. ASHIDA, Y. RIKISHA, M. ODAKURA, S. HAYASHI, M. NOMURA und Y. ISAYAMA (1994b)  
Serum C-reactive protein and immune responses in dogs inoculated with Bordetella bronchiseptica (Phase I cells).  
Vet. Res. Commun. 18, 347-357
- YAMASHITA, K., T. FUJINAGA, T. MIYAMOTO, M. HAGIO, Y. IZUMISAWA und T. KOTANI (1994)  
Canine Acute Phase Response: Relationship between Serum Cytokine Activity and Acute Phase Protein in Dogs.  
J. Vet. Med. Sci. 56, 487-492

YASOJIMA, K., C. SCHWAB, E.G. MCGEER und P.L. MCGEER (2000)  
Human neurons generate C-reactive protein and amyloid P: upregulation in Alzheimer`s disease.  
Brain Res. 887, 80-89

YASOJIMA, K., C. SCHWAB, E.G. MCGEER und P.L. MCGEER (2001)  
Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques.  
Am. J. Pathol. 158, 1039-1051

YULE, T.D., M.B. ROTH und K. DREIER et al. (1997)  
Canine parvovirus vaccine elicits protection from the inflammatory and clinical consequences of the disease.  
Vaccine 15, 720-729

## VIII. ANHANG

Tabelle 46: Signalement der 31 Hunde mit pHA

Hund Nr.	Rasse	Alter (Jahre)	Geschlecht	Gewicht (kg)
1	Perro de Presa Mallorquin	1	m	34
2	Cocker Spaniel	4,5	w	18
3	Irish Setter	3	w	27
4	Bullterrier	6,5	w	24
5	Dobermann	9	w	30
6	Rauhhaarteckel	8,5	w	7
7	Berner Sennenhund	6	w	46
8	Staffordshire Terrier	7	m	29
9	Schnauzer-Mix	6	m	10
10	Coton de Tulear	4	w	4
11	Shih Tzu	5,5	m	9
12	Cocker Spaniel	6,5	w	20
13	Mischling	10	mk	38
14	WHWT	13	m	10
15	Riesenschnauzer	9	m	40
16	Sheltie	10	m	16
17	Mops	8	w	10
18	Rauhhaarteckel	10	wk	8
19	DSH	10	m	40
20	Irisher Terrier	7	m	20
21	Briard	5	m	30
22	Terrier-Mix	5	wk	30
23	Terrier-Mix	0,5	w	13
24	DSH	8	m	53
25	Malteser	1	wk	6
26	Shih Tzu	2	m	6
27	Malteser-Mix	10	m	8
28	DSH-Mix	12	wk	27
29	Dt.Dogge	6	m	72
30	Rottweiler	10	mk	43
31	Rauhhaarteckel	12	wk	8

**Tabelle 47:** Differentialblutbilder von Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21)

WBC = Leukozyten (G/l), Neutr. Stab. = stabkernige neutrophile Granulozyten/ $\mu$ l; Neutr. Segm. = segmentkernige neutrophile Granulozyten/ $\mu$ l; Eosinophile = eosinophile Granulozyten/ $\mu$ l

Nr.	WBC (G/l)	Metamyelozyten ( $\mu$ l)	Neutr. Stab. ( $\mu$ l)	Neutr. Segm. ( $\mu$ l)	Eosinophile ( $\mu$ l)	Monozyten ( $\mu$ l)	Lymphozyten ( $\mu$ l)
1	56,3	0	1.700	46.729	0	5.630	2.252
2	31,8	1.200	5.400	43.873	0	4.808	3.606
3	35,2	0	1.800	27.104	0	3.872	2.464
6	9,1	0	500	12.012	312	1.248	1.560
8	14,6	0	1.000	12.410	0	0	1.168
9	61,7	2.468	3.702	52.445	0	1.851	617
10	49,1	982	2.700	29.183	0	2.274	3.790
12	21,5	215	430	15.480	0	3.440	1.935
14	13,3	0	133	11.571	0	399	1.197
15	23,9	239	3.757	37.740	0	888	1.776
17	33,7	1.348	2.148	25.612	0	3.370	1.348
18	29,8	0	3.192	15.276	0	2.964	1.368
19	18,3	0	1.281	14.091	0	2.196	732
22	21,1	-	690	19.550	0	1.840	920
23	25,5	-	3.315	19.635	0	1.020	1.530
25	23,7	0	378	12.096	185	1.850	4.255
26	32,5	-	4.875	17.875	0	5.850	3.900
27	35,1	2.106	1.404	25.623	351	4.563	1.053
28	13,7	0	411	11.645	411	548	685
30	12,0	-	513	15.048	0	684	855
31	31,6	-	4.069	24.101	626	1.252	1.252

**Tabelle 48:** Differentialblutbilder von Hunden mit pIHA der Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 8)

<b>Nr.</b>	<b>WBC (G/l)</b>	<b>Metamyelozyten (/µl)</b>	<b>Neutr. Stab. (/µl)</b>	<b>Neutr. Segm. (/µl)</b>	<b>Eosinophile (/µl)</b>	<b>Monozyten (/µl)</b>	<b>Lymphozyten (/µl)</b>
4	31,3	0	5.000	23.162	0	1.252	624
5	38,4	0	1300	35.506	0	3.897	2.598
7	24,4	488	3.312	26.754	0	0	1.029
16	6,6	132	264	5.016	0	396	792
20	11,9	119	952	9.282	238	714	595
21	20,1	-	3.216	15.678	0	804	402
24	19,3	-	4.095	37.310	0	3.185	910
29	20,1	-	1.608	14.673	0	804	3.015

**Tabelle 49:** Differentialblutbilder von Hunden mit pIHA, die auf Besitzerwunsch euthanasiert wurden (n = 2)

<b>Nr.</b>	<b>WBC (G/l)</b>	<b>Metamyelozyten (/µl)</b>	<b>Neutr. Stab. (/µl)</b>	<b>Neutr. Segm. (/µl)</b>	<b>Eosinophile (/µl)</b>	<b>Monozyten (/µl)</b>	<b>Lymphozyten (µl)</b>
11	44,7	447	8.453	30.396	0	1.788	2.682
13	32,6	-	1.600	29.992	0	0	978

**Tabelle 50:** Relative, korrigierte und absolute Retikulozytenzahlen der 21 Hunde mit pIHA der Gruppe 1 bei Erstvorstellung = Überlebenszeit >14 Tage

Nr.	Hkt (l/l)	Retikulozytenzahlen relativ (%)	Retikulozytenzahlen korrigiert (%)	Retikulozytenzahlen absolut (/µl)
1	0,21	1,8	0,8	46.260
2	0,14	2	0,6	29.400
3	0,22	0,2	0,1	1.340
6	0,21	2,5	1,2	83.750
8	0,17	15,7	5,9	75.360
9	0,10	1,4	0,3	20.860
10	0,09	2	0,4	5.200
12	0,21	10	4,7	161.000
14	0,32	0,3	0,2	14.580
15	0,28	3,8	2,4	26.220
17	0,12	7,2	1,9	177.840
18	0,09	1,5	0,3	57.750
19	0,16	5,3	1,9	116.600
22	0,25	1	0,6	12.000
23	0,15	15,6	5,2	296.400
25	0,28	6,7	4,2	281.400
26	0,12	37	9,9	2.072.000
27	0,18	16	6,4	624.000
28	0,17	8	3	152.000
30	0,13	1,8	0,5	41.400
31	0,16	0,8	0,3	40.800

**Tabelle 51:** Relative, korrigierte und absolute Retikulozytenzahlen der 8 Hunde mit pIHA der Gruppe 2 bei Erstvorstellung = Tod innerhalb von 1-14 Tagen

Nr.	Hkt (l/l)	Retikulozytenzahlen relativ (%)	Retikulozytenzahlen korrigiert (%)	Retikulozytenzahlen absolut (/µl)
4	0,14	13,2	4,1	77.800
5	0,18	10,4	4,2	247.520
7	0,05	4,4	0,5	37.400
16	0,18	1,3	0,5	4940
20	0,18	7,6	3	182.400
21	0,16	-	-	-
24	0,15	15	5	480.000
29	0,15	0	0	0

**Tabelle 52:** Relative, korrigierte und absolute Retikulozytenzahlen der 2 Hunde mit pIHA, die auf Besitzerwunsch euthanasiert wurden

Nr.	Hkt (l/l)	Retikulozytenzahlen relativ (%)	Retikulozytenzahlen korrigiert (%)	Retikulozytenzahlen absolut (/µl)
11	0,07	16,5	2,6	99.000
13	0,09	0	0	0

**Tabelle 53:** Klinisch-chemische Laborwerte bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 21) und Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 8) (M = Median, MW = Mittelwert)

	<b>Gesamt</b>	<b>Gruppe 1</b>	<b>Gruppe 2</b>
<b>Natrium (mmol/l)</b>	136-163 M 145 MW 146 n = 31	136-156 M 144 MW 144 n = 21	143-163 M 148 MW 149 n = 8
<b>Kalium (mmol/l)</b>	2,8-4,7 M 3,5 MW 3,6 n = 31	2,8-4,7 M 3,5 MW 3,6 n = 21	3,2-3,9 M 3,6 MW 3,6 n = 8
<b>Glukose (mmol/l)</b>	3,2-10,5 M 6 MW 6 n = 31	4,2-10,5 M 6,2 MW 6,1 n = 21	4,4-8 M 6,5 MW 6,3 n = 8
<b>Harnstoff (mmol/l)</b>	4,6-48 M 13,9 MW 18,1 n = 31	4,6-33,8 M 13,5 MW 14,9 n = 21	10-43 M 21 MW 22,8 n = 8
<b>Kreatinin (µmol/l)</b>	17,7-229,8 M 61,9 MW 70,7 n = 31	17,7-150,3 M 61,9 MW 61,9 n = 21	17,7-229,8 M 75,2 MW 97,2 n = 8
<b>ALT (U/l)</b>	16-5887 M 83 MW 421 n = 31	16-1839 M 65 MW 201 n = 21	40-5887 M 251 MW 1046 n = 10
<b>AP (U/l)</b>	25-1507 M 184 MW 275 n = 31	25-911 M 184 MW 241 n = 21	104-1507 M 158 MW 371 n = 8
<b>AST (U/l)</b>	9-1818 M 49 MW 300 n = 28	9-1818 M 32 MW 173 n = 19	47-1751 M 370 MW 632 n = 7
<b>GLDH (U/l)</b>	0,5-184,6 M 7,1 MW 23,7 n = 28	0,5-184,6 M 6,1 MW 24,4 n = 19	0,5-98,8 M 21 MW 26 n = 7
<b>Bilirubin (µmol/l)</b>	4,1-1233,9 M 20,4 MW 87,4 n = 31	4,1-184,9 M 16,1 MW 39,1 n = 21	14,9-1233,9 M 38 MW 222 n = 8
<b>Cholesterin (mmol/l)</b>	2,6-13,2 M 7,4 MW 7,6 n = 25	2,6-13,2 M 8 MW 7,9 n = 16	5,1-11,3 M 6,4 MW 7,3 n = 7
<b>Protein (g/l)</b>	50-91 M 70 MW 70 n = 31	50-82 M 70 MW 69 n = 21	60-89 M 70 MW 70 n = 8
<b>Albumin (g/dl)</b>	21-35 M 27 MW 27 n = 31	21-35 M 27 MW 27 n = 21	21-31 M 27 MW 27 n = 8

**Tabelle 54:** Gerinnungsparameter, Thrombozyten- und Schistozytenzahl bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 20)

Hund	PTT (sec)	PT (sec)	Fibrinogen (g/l)	Thrombozyten (G/l)	Schistozyten
1	31,4	22	4,2	311	Keine
2	17,6	15,5	-	165	1+
3	18,1	15,9	-	196	-
6	15,3	27,3	-	127	Keine
8	28,4	17,8	6,9	236	-
9	38	27,3	3,9	165	Keine
10	32	27,2	-	107	-
12	17,9	16,9	-	152	1+
15	20	18,5	4,6	8	Keine
17	27,9	24,2	4,9	114	Keine
18	19,9	12,5	5,1	250	Keine
19	23,9	15,2	2,1	139	Keine
22	22,6	20,1	-	211	Keine
23	17,3	20,8	-	129	Keine
25	17,2	17,4	7	139	Keine
26	30,9	24,7	2,1	188	Keine
27	13,6	15,2	4,5	277	Keine
28	21,8	18,7	7,9	116	Keine
30	19,6	18,4	-	120	Keine
31	12,4	18,4	-	576	Keine

**Tabelle 55:** Gerinnungsparameter, Thrombozyten- und Schistozytenzahl bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 2 = Tod innerhalb von 1-14 Tagen (n = 8)

Hund	PTT (sec)	PT (sec)	Fibrinogen (g/l)	Thrombozyten (G/l)	Schistozyten
4	22,5	22,7	-	103	-
5	34	26,1	3,2	144	1+
7	57,1	34,9	1,4	50	Keine
16	40,2	35,9	0,96	17	-
20	20,9	14,9	-	147	Keine
21	34,2	25,8	-	123	Keine
24	39,8	29	-	19	Keine
29	24,2	19,1	-	77	Keine

**Tabelle 56:** Gerinnungsparameter, Thrombozyten- und Schistozytenzahl bei Erstvorstellung bei Hunden mit pIHA, die auf Besitzerwunsch euthanasiert wurden (n = 2)

Hund	PTT (sec)	PT (sec)	Fibrinogen (g/l)	Thrombozyten (G/l)	Schistozyten
11	28,5	23	-	170	Keine
13	22,5	15,8	-	493	-

**Tabelle 57:** Veränderungen der CRP-Konzentration ( $\mu\text{g/ml}$ ) im Verlauf der Erkrankung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 19)

Hund Nr.	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
1	413,4	182,9	24,5	3,2
2	128,4	46,7	-	4,7
3	268,3	127,1	105,4	-
6	106,9	16,1	16,5	0
8	205,4	91,2	43,6	12,1
9	54,3	55,5	53,2	49,6
10	184,7	51,6	-	17,9
12	412	108	8,4	0
14	26,5	15,6	1,6	0
15	0	-	14,4	0
17	234,1	38,8	34,9	1,3
18	100,7	32,7	30,8	-
19	359,2	125,7	34,2	0
23	112,1	-	-	-
25	405,4	-	-	-
26	311,3	135,7	94,4	-
27	390,8	-	-	-
28	213,4	-	-	-
31	46,2	30,5	216,9	-

**Tabelle 58:** Veränderungen der CRP-Konzentration ( $\mu\text{g/ml}$ ) im Verlauf der Erkrankung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 2 = Tod innerhalb von 14 Tagen (n = 4)

Hund Nr.	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
4	400,8	127,3	-	-
5	173,8	102,2	-	-
7	112,3	-	-	-
16	213,5	118,6	-	-

**Tabelle 59:** Veränderung der CRP-Konzentration ( $\mu\text{g/ml}$ ) im Verlauf der Erkrankung bei einem Hund mit pIHA, der auf Besitzerwunsch euthanasiert wurde.

Hund Nr.	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
13	15,3	-	30,1	-

**Tabelle 60:** Veränderungen der Hp-Konzentration (mg/ml) im Verlauf der Erkrankung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 8)

Hund Nr.	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14	Vorbehandlung mit Glukokortikoiden
1	1,1	2,7	17,6	15,6	-
2	0,6	7,1	-	10	-
3	7,1	9,1	8	-	+
9	2,1	1,5	6,1	-	-
10	2,6	1	-	10,2	+
12	12,2	14,9	5,2	-	-
14	8,8	-	11,4	24,9	-
15	1,8	-	16,9	16,9	-

**Tabelle 61:** Veränderungen der Hp-Konzentration (mg/ml) im Verlauf der Erkrankung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 2 = Tod innerhalb von 14 Tagen (n = 2)

Hund Nr.	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14	Vorbehandlung mit Glukokortikoiden
4	7,3	1,7	-	-	-
7	1,3	-	-	-	+

**Tabelle 62:** Veränderung der Hp-Konzentration (mg/ml) im Verlauf der Erkrankung bei einem Hund mit pIHA, der auf Besitzerwunsch euthanasiert wurde.

Hund Nr.	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14	Vorbehandlung mit Glukokortikoiden
13	2,3	-	13,7	-	-

**Tabelle 63:** Veränderungen der Fibrinogen-Konzentration (g/l) im Verlauf der Erkrankung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 = Überlebenszeit >14 Tage (n = 11)

Hund Nr.	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
1	4,2	-	4,4	2,3
8	6,9	6,9	3,8	2,1
9	3,9	-	-	1,8
15	4,6	-	2,7	-
17	4,9	3,6	2,8	-
18	5,1	3,6	3,3	-
19	2,1	5,3	-	1,7
25	7	-	-	-
26	2,1	-	2,2	-
27	4,5	-	-	-
28	7,9	-	-	-

**Tabelle 64:** Veränderungen der Fibrinogen-Konzentration (g/l) im Verlauf der Erkrankung bei Hunden mit pIHA der Gruppe 2 = Tod innerhalb von 14 Tagen (n = 4)

Hund Nr.	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14
5	3,2	3,3	-	-
7	1,4	-	-	-
16	1	0,6	-	-
20	-	4,2	-	-

**Tabelle 65:** Hkt-Verläufe (l/l), Krankheits-Verlauf und Therapie bei Hunden mit pIHA der Gruppe 1 (n = 21)  
(P=Prednisolon, C=Ciclosporin, Begr. Beobachtung = begrenzter Beobachtungszeitraum, OP = Operation, AB = Allgemeinbefinden)

Hund Nr.	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Therapie	Verlauf
1	0,21	0,19	0,27	0,34	0,37	0,40	P+C	Beobachtung > 1 Jahr, ohne Medikation
2	0,14	0,23	0,32	0,32	0,31		P+C	begr. Beobachtung (69 Tage)
3	0,22	0,18	0,23				P+C	begr. Beobachtung; 2 Monate später Euthanasie mit Hkt 18
6	0,22	0,27	0,24	0,22	0,28	0,29	P+C ab Woche 5 Wechsel auf Chlorambucil	fehlende Regeneration, Euthanasie 3 Monate nach Behandlungsbeginn mit Hkt 22
8	0,17	0,23	0,27	0,29	0,31	0,30	P, ab Woche 12 C dazu	Beobachtung > 1 Jahr, geringe Dosis P
9	0,10	0,19	0,19	0,30	0,25	0,26	P+C	Komplikation Milznekrose, Beobachtung > 1 Jahr, ohne Medikation
10	0,09	0,23	0,19	0,33	0,35	0,35	P+C	begr. Beobachtung
12	0,21	0,30	0,26	0,37		0,36	P	Woche 3 Hämometra-OP, Beobachtung > 1 Jahr, ohne Medikation
14	0,32		0,27	0,26		0,38	P	Beobachtung > 1 Jahr, ohne Medikation, verstorben mit V.a. Thromboembolie
15	0,15	0,31	0,31		0,39		P	Beobachtung > 1 Jahr, ohne Medikation; Rezidiv 1,5 Jahre nach Erstvorstellung, Euthanasie
17	0,11	0,33	0,39	0,37	0,34	0,38	P+C	unter Therapie
18	0,09	0,30	0,32				P+C	begr. Beobachtung
19	0,16	0,21	0,21	0,29	0,35	0,35	P+C	Beobachtung > 1 Jahr, ohne Medikation
22	0,25	0,24	0,37				P	begr. Beobachtung
23	0,15	0,18	0,31	0,36	0,38	0,36	P	unter Therapie
25	0,28	0,26	0,29	0,37	0,46	0,51	P	unter Therapie
26	0,12	0,40	0,36	0,31	0,40		P+C	unter Therapie
27	0,18	0,16	0,26	0,32	0,35	0,36	P+C	Rezidiv 5 Monate nach Therapiebeginn, unter Therapie
28	0,17	0,18	0,29	0,36	0,34	0,37	P+C	Euthanasie 6 Wochen nach Therapiebeginn wegen Hüftluxation
30	0,13	0,16	0,19				P	begr. Beobachtung
31	0,16	0,33	0,27	0,28			P	begr. Beobachtung

**Tabelle 66:** Hkt-Verläufe und Verlauf bei Hunden mit pIHA der Gruppe 2 (n = 8)

Hund Nr.	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14	Therapie	Verlauf
4	0,14	0,18			P	Verstorben an Tag 7 mit Dyspnoe und V.a. Thromboembolie (Hkt 10)
5	0,18	0,16			P+C	Euthanasie an Tag 6 wegen V.a. Hirnblutung (Hkt 18)
7	0,05				P+C	Verstorben an Tag 2 mit Anfällen und Arrhythmie (Hkt 13)
16	0,18	0,24			P	Euthanasie an Tag 4 wegen Dyspnoe und schlechtem AB (Hkt 27)
20	0,18	0,14	0,20	0,17	P+C	Euthanasie an Tag 14 mit V.a. Hirnblutung
21	0,16	0,15			P	Euthanasie an Tag 3 mit V.a. Hirnblutung
24	0,15	0,21			P	Verstorben an Tag 4 mit V.a. Multiorganversagen
29	0,15	0,14			P+C	Verstorben an Tag 4 mit V.a. Multiorganversagen (Hkt 12)

**Tabelle 67:** Hkt-Verläufe und Verlauf bei 2 Hunden, die auf Besitzerwunsch euthanasiert wurden

Hund Nr.	Tag 0	Tag 3	Tag 8	Tag 14	Therapie	Verlauf
11	0,07				P	Euthanasiert an Tag 1 auf Besitzerwunsch (Hkt 21)
13	0,09	0,11	0,10		P, nach 1 Woche C dazu	Euthanasiert an Tag 11 wegen fehlender Regeneration auf Besitzerwunsch (Hkt 12)

## DANKSAGUNG

Mein herzlicher Dank gilt Frau Prof. Dr. B. Kohn für die Überlassung des Themas, die intensive Betreuung, die Hilfe bei der Beschaffung von Arbeitsmaterialien, die wertvollen Literaturhinweise und die sorgfältige Korrektur des Manuskriptes. Herrn Prof. Dr. L. Brunnberg danke ich für die jederzeit gewährte Unterstützung während der Arbeit an dem Promotionsthema.

Herrn Prof. Leibold und seinen Mitarbeitern, insbesondere Herrn U. Rabe möchte ich danken für die Erlernung des Coombs-Test, sowie die parallele Bestimmung des Coombs-Test zu Beginn und teilweise auch während meiner Arbeit.

Herrn Dr. F. J. Schweigert, Herrn Dr. J. Raila und ganz besonders Frau Pilz möchte ich danken für die tatkräftige Unterstützung bei der Bestimmung des CRP.

Frau Dr. S. Hiss möchte ich danken für die Bestimmung von Haptoglobin.

Frau Dr. Arndt danke ich für die geduldige und freundliche Einarbeitung in das Statistikprogramm SPSS und die motivierende Hilfestellung.

Bei den Mitarbeiterinnen des Labors der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der FU-Berlin möchte ich mich für die ständige Hilfsbereitschaft, die Durchführung der hämatologischen und klinisch-chemischen Untersuchungen sowie der Blutgerinnung und die stets offene und hilfsbereite Art danken. Mein besonderer Dank gilt Frau Mittag, Frau Classe, Frau Schröder, Frau Carow und Frau Salinger.

Allen angestellten Tierärzten, Assistenten, Doktoranden und studentischen Pflegern der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere danke ich für die gute und freundschaftliche Zusammenarbeit. Ganz besonderes danke ich Katja Adamik, Claudia Kellermeier, Mareike Ottenjann und Christiane Weingart für die Einarbeitung in den Blutspendedienst sowie Eva Bauer, René Dörfelt, Susanna Falk, Helge Linzmann, Maria Somerkoski und Christina Wondratschek für die tägliche Unterstützung, das stets offene Ohr und die ständige Verbreitung guter Laune bei der Arbeit.

Nicht zuletzt danke ich ganz herzlich meinen Eltern für die finanzielle Hilfe und die liebevolle und geduldige Unterstützung, ohne die diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre. Mein ebenso herzlicher Dank gilt Maren Schneider und Kirsten Schmidt geb. Schürmann für die seelische Unterstützung und die aufmunternden Worte.

## **Selbständigkeitserklärung**

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschliesslich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Christine Griebisch