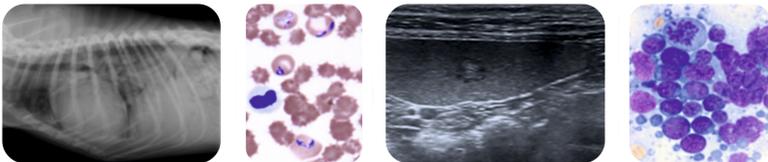




Die immunhämolytische Anämie des Hundes

Vergleichende, retrospektive Auswertung
der Patienten von 2006-2012 mit primärer
oder sekundärer immunvermittelter Anämie

Eva Reith



Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet. beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei den Autoren dieses Werkes.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung der Autoren oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2016

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Authors or the Publisher.

1st Edition 2016

© 2016 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin
Klinik für Kleintiere
(Innere Medizin und Chirurgie)
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Reto Neiger

**Die immunhämolytische Anämie des Hundes –
Vergleichende, retrospektive Auswertung der
Patienten von 2006-2012 mit primärer oder
sekundärer immunvermittelter Anämie**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Eva Reith

Tierärztin aus Darmstadt

Gießen 2016

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. M. Kramer

Gutachter/in Prof. Dr. Reto Neiger

Prof. Dr. Kerstin Fey

Tag der Disputation: 13.06.2016

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

E. Rejh

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG.....	2
1.1	Studienziel	4
2	LITERATURÜBERSICHT	5
2.1	Pathogenese.....	5
2.2	Ätiologie	7
2.3	Signalement.....	13
2.4	Klinik.....	13
2.5	Diagnose	15
2.5.1	Differentialdiagnosen.....	15
2.5.2	Labordiagnostik	17
2.6	Therapie	32
2.7	Prognose	52
3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....	58
3.1	Material und Methoden	58
3.1.1	Patientenauswahl	58
3.1.2	Patientendaten	59
3.1.3	Statistische Auswertung	73
3.2	Ergebnisse.....	74
3.2.1	Signalement	76
3.2.2	Anamnese	83
3.2.3	Klinische Untersuchung.....	88
3.2.4	Labordiagnostik	92
3.2.5	Bildgebung	117
3.2.6	Therapie	119
3.2.7	Verlauf und prognostische Faktoren.....	124
3.2.8	Histopathologische Untersuchung.....	128
4	DISKUSSION	131
4.1	Patientenauswahl	131
4.2	Signalement.....	134
4.2.1	Alter	134
4.2.2	Geschlecht	134

Inhaltsverzeichnis

4.2.3	Gewicht	135
4.2.4	Rasse	135
4.3	Anamnese	137
4.3.1	Zeitpunkt der Vorstellung/Saisonalität	137
4.3.2	Vorstellungsgrund.....	137
4.3.3	Erkrankungsdauer	142
4.3.4	Vorbehandlung	142
4.3.5	Impfstatus.....	143
4.3.6	Auslandsaufenthalt.....	145
4.4	Klinische Untersuchung	145
4.5	Labordiagnostik	147
4.5.1	Hämatologie	147
4.5.2	Blutausstrich.....	153
4.5.3	Autoagglutination.....	155
4.5.4	Klinische Chemie.....	156
4.5.5	Harnstatus	158
4.5.6	PT/aPTT	159
4.5.7	TEG.....	161
4.5.8	D-Dimere	162
4.5.9	Entzündungsparameter (Fibrinogen, Blutsenkung, CRP).....	163
4.5.10	Coombs-Test.....	165
4.5.11	Infektionserkrankungen	167
4.5.12	Knochenmarkuntersuchung.....	168
4.6	Bildgebung.....	170
4.7	Therapie	174
4.8	Verlauf und prognostische Faktoren	177
4.9	Histopathologische Untersuchung	180
4.10	Fazit.....	182
5	ZUSAMMENFASSUNG	183
6	SUMMARY	186
7	LITERATURVERZEICHNIS	189

Im Rahmen der Arbeit verwendete Abkürzungen:

Ag	Antigen
AK	Antikörper
ALT	Alanin-Aminotransferase
APP(s)	Akute-Phase-Protein(e)
AP	Alkalische Phosphatase
AST	Aspartat-Aminotransferase
AV-Block	Atrioventrikulärer Block
CAV-2	Canines Adenovirus Typ 2
CHCM	Direkt gemessene mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration (Corpuscular hemoglobin concentration mean)
CK	Kreatinkinase
CRP	C-reaktives Protein
DAT	Direkter Antiglobulintest
DEA	Dog erythrocyte antigen
DELAT	Direct enzyme-linked antiglobulin-test
DIC	Disseminierte intravasale Koagulopathie
DIF	Direkte Immunfluoreszenz-Durchflusszytometrie
dl	Deziliter
DLA	Dog leucocyte antigen
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
et al.	und andere
FDP(s)	Fibrinspaltprodukt(e)
fL	Femtoliter
fmol	Femtomol
g	Gramm
G-CSF	Granulocyte-colony stimulating factor
ggr.	geringgradig

GLDH	Glutamatdehydrogenase
hIVIG	Humanes intravenöses Immunglobulin
h	Stunde(n)
Hb	Hämoglobin
Hkt.	Hämatokrit
IAT	Indirekter Antiglobulintest
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IMHA	Immunhämolytische Anämie
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KI	Konfidenzintervall
l	Liter
LMWH	Niedermolekulares Heparin (Low-molecular-weight-heparin)
m	männlich
MAC	Membrane attack complex
MCH	Mittlerer Hämoglobingehalt der Einzelerythrozyten (Mean cell hemoglobin)
MCHC	Mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (Mean cell hemoglobin concentration)
MCP	Monocyte chemoattractant protein
MCV	Mittleres Erythrozytenvolumen (Mean cell volume)
mg	Milligramm
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex (Major histocompatibility complex)
min.	Minute
m	männlich
mk	männlich-kastriert
mm	Millimeter
mmol	Millimol

MPS	Mononukleäres Phagozytosesystem
m ²	Quadratmeter
µg	Mikrogramm
n	Fallzahl
NSAID(s)	nichtsteroidale Antiphlogistika
obB	ohne besonderen Befund
Pat.-Nr.	Patienten-Nummer
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
pIMHA	Primäre immunhämolytische Anämie
PLT	Blutplättchen
p.o.	per os
PT	Prothrombinzeit
PTE	Pulmonale Thrombembolie
aPTT	Aktivierte partielle Thromboplastinzeit
RBC	Erythrozytenzahl (Red blood cells)
RDW	Erythrozytenverteilungsbreite (Red cell distribution width)
s.c.	subkutan
sec.	Sekunde(n)
sIMHA	Sekundäre immunhämolytische Anämie
SLE	Systemischer Lupus erythematodes
spp.	species (pl.)
TEG	Thrombelastogramm/-elastographie
TF	Gewebefaktor (Tissue factor)
TFPI	Tissue factor pathway inhibitor
tgl.	täglich
Th	T-Helferzelle
TNF-α	Tumor-Nekrose-Faktor α
TNF-β	Tumor-Nekrose-Faktor β
Treg	Regulatorische T-Zelle(n)
U	Units

UPC	Urin-Protein-Kreatinin-Quotient
vs.	versus
w	weiblich
WBC	Leukozytenzahl (White blood cells)
wk	weiblich-kastriert

1 Einleitung

Bei der immunhämolytischen Anämie (IMHA) handelt es sich um eine der häufigsten Anämieformen des Hundes.⁷ Darüber hinaus gehört sie außerdem zu den wichtigsten Immunerkrankungen dieser Spezies.^{40,101}

Im Rahmen einer Hypersensitivitätsreaktion vom Typ II kommt es bei dieser Erkrankung zu einer Antikörper-vermittelten Zerstörung von Erythrozyten mit oder ohne Beteiligung des Komplementsystems.¹⁸⁷ Antikörper vom Typ IgG, IgM und IgA binden an intakte oder veränderte Oberflächenproteine der Erythrozytenmembran und bewirken eine Hämolyse.⁴⁰ Hierbei unterscheidet man die vornehmlich durch IgM-vermittelte intravaskuläre Hämolyse (seltener), die mit einer Aktivierung des Komplementsystems einhergeht, von einer größtenteils in Milz und Leber stattfindenden, extravaskulären Hämolyse durch Zellen des mononukleären Phagozytosesystem (MPS).

Bei der Komplement-vermittelten, intravaskulären Hämolyse kommt es über die Bildung des „membrane attack complex“ (MAC) zur Entstehung transmembraner Poren, über die ungehindert Flüssigkeit in den Erythrozyt einströmen kann. Die Folge ist eine Zellschwellung mit anschließender Lyse der betroffenen Zellen.¹⁸⁷ Labordiagnostisch stellt sich diese Form der Hämolyse als Hämoglobinämie sowie Hämoglobinurie dar. Klinisch ist bei betroffenen Patienten häufig ein Ikterus auffällig.⁶⁵

Die extravaskuläre Hämolyse ist charakterisiert durch eine vollständige oder inkomplette Phagozytose von opsonierten Erythrozyten durch Makrophagen in Milz, Leber und Knochenmark.^{140,191,219} Hierbei kann es durch die Schädigung der Erythrozytenmembran zum Aufkugeln der Zelle mit Verlust der bikonkaven Erythrozytenform kommen. Die dabei entstehenden Zellen werden als Sphärozyten bezeichnet und sind im Blutausschlag zu detektieren. Sie werden u.a. zur Diagnosestellung herangezogen.²⁰³

Die Unterscheidung in intra- oder extravaskuläre Hämolyse dient vornehmlich der prognostischen Einschätzung. So zeigen Tiere mit einer intravaskulären Hämolyse

(10 – 20 % der Hunde mit IMHA)¹³⁶ einen wesentlich schwereren, häufig lebensbedrohlichen Krankheitsverlauf und folglich eine schlechtere Prognose.¹⁹¹ Darüber hinaus können sich nach Definition der (Haupt-)Lokalisation der Erythrozytenzerstörung (extra- oder intravaskulär) erste Hinweise auf eine eventuell zugrunde liegende Erkrankung ergeben. Eine Kombination aus intra- und extravaskulärer Hämolyse sowie Übergangsformen sind allerdings ebenfalls möglich.¹⁹¹

Abhängig davon, ob eine auslösende Ursache für die immunvermittelte Hämolyse gefunden werden kann oder nicht, wird die Erkrankung als sekundäre (sIMHA) oder primäre immunhämolytische Anämie (pIMHA) bezeichnet. Während bei der sIMHA verschiedene Auslöser diskutiert werden (Neoplasien, Toxine, Medikamente, Infektionen, Vakzine, andere Immunerkrankungen)¹⁸¹, handelt es sich bei der pIMHA um eine idiopathische Autoimmunerkrankung mit Verlust der Selbsttoleranz und somit um eine Ausschlussdiagnose.

Mit einer Inzidenz von 60 – 76 %^{43,50,89,131} stellt die pIMHA den Großteil der immunvermittelten Erkrankungen des hämatopoietischen Systems beim Hund dar.

Die Diagnosestellung der IMHA erfolgt entweder direkt mit Hilfe des Nachweises von Antikörpern bzw. Komplement auf der Erythrozytenoberfläche (Coombs-Test) oder indirekt anhand einer persistierenden Objektträgeragglutination oder dem Nachweis zahlreicher Sphärozyten im Blutaussstrich.²¹⁶

Therapeutisch kommen nach einer initialen Stabilisation (Bluttransfusionen etc.) sowie der Therapie der Grunderkrankung im Fall einer sIMHA verschiedene immunsuppressive bzw. immunmodulatorische Medikamente zum Einsatz.

Da eine kausale Therapie bei der pIMHA aufgrund einer fehlenden auslösenden Ursache nicht möglich ist, ist die Prognose – wie bei vielen Autoimmunerkrankungen – als vorsichtig bis schlecht zu bewerten. Die Mortalitätsrate der pIMHA liegt – je nach Studie (n ≥ 20) – zwischen 21 % und 70 %, ^{4,22,25,48,50,70,74,84,88,105,107,129,134,142,161,162,164,171,181,196,212,215,218,221} wobei die meisten Patienten innerhalb der ersten ein bis zwei Wochen nach Diagnosestellung versterben.^{22,162}

Zur genaueren prognostischen Einschätzung der Patienten wurden bereits zahlreiche labordiagnostische sowie klinisch erfassbare negative prognostische Parameter, wie z.B. ein deutlich erniedrigter Hämatokrit, eine aregenerative Anämie, eine Thrombopenie, eine ausgeprägte Leukozytose, das Vorliegen stabkerniger neutrophiler Granulozyten, eine persistierende Autoagglutination, eine Hypoproteinämie mit Hypoalbuminämie, ein erhöhter Harnstoffwert, eine Hyperbilirubinämie sowie das Auftreten eines Ikterus, eine Hypernatriämie, eine Hypokaliämie, verlängerte Gerinnungszeiten (PT/aPTT), erhöhte Leberenzymwerte (ALT, AP), ein Anstieg der Kreatinkinase, das Auftreten von petechialen Blutungen, das Vorhandensein einer Tachypnoe, sowie das vermehrte Auftreten von Fibrinolyseprodukten herausgearbeitet.^{22,25,84,88,107,132,162,181,215}

Einige der beschriebenen Veränderungen stehen in unmittelbarem Zusammenhang mit dem Vorliegen einer disseminierten intravasalen Koagulopathie (DIC) bzw. einer pulmonalen Thrombembolie, welche die häufigsten Komplikationen einer IMHA darstellen.^{93,108,181}

1.1 Studienziel

Das Ziel der vorliegenden Studie ist die retrospektive Auswertung der Patientendaten der Klinik für Kleintiere, Innere Medizin, der Justus-Liebig-Universität Gießen der Jahre 2006 bis 2012 unter besonderer Berücksichtigung möglicher klinisch sowie labordiagnostisch erfassbarer Unterschiede zwischen Hunden mit primärer und sekundärer immunhämolytischer Anämie. Darüber hinaus liegt der Schwerpunkt in der Herausarbeitung eigener bzw. Anwendung bereits beschriebener prognostischer Faktoren, der Evaluation des Langzeitüberlebens und in der vergleichenden Betrachtung der verschiedenen Therapieoptionen sowie der eventuell damit in Zusammenhang stehenden Überlebenszeiten.

Die Hypothese dieser Studie ist, dass die Möglichkeit der kausalen Therapie einer zugrunde liegenden Erkrankung bei Hunden mit sIMHA die Prognose und somit das Langzeitüberleben im Vergleich zu Hunden mit pIMHA verbessert.

2 Literaturübersicht

2.1 Pathogenese

Im Rahmen des physiologischen Alterungsprozesses der Erythrozyten kommt es nach Ablauf der Lebenszeit von ca. 100-120 Tagen zur Veränderung der Zellmembran mit Ausprägung neuer autoantigener Strukturen. Die gealterten Erythrozyten werden so von körpereigenen Antikörpern, welche v.a. gegen Proteine des Zytoskeletts bzw. der Zellmembran (z.B. Bande-3-Protein) gerichtet sind, erkannt, opsoniert und schließlich durch Zellen des MPS in Milz, Leber und Knochenmark abgebaut.^{39,200}

Im Gegensatz dazu handelt es sich bei der IMHA um eine vorzeitige Elimination von Erythrozyten aller Altersstufen. Ursächlich liegt hier eine Überempfindlichkeitsreaktion vom Typ II zugrunde, welche auf einer humoralen, zytotoxischen Immunreaktion beruht. Erythrozytenbestandteile als körpereigene Antigene oder mit diesen assoziierte Fremdanigene werden von Antigen-präsentierenden Zellen (Makrophagen, dendritische Zellen) aufgenommen, „weiterverarbeitet“ (processing) und schließlich fragmentiert zusammen mit MHC-II-Molekülen den T-Helferzellen (hier: Th2) präsentiert. Über verschiedene Zytokine (z.B. Interleukin-4, -5, -9 und -13) erfolgt dann die Aktivierung von B-Lymphozyten sowie deren Differenzierung zu Plasmazellen mit anschließender Produktion spezifischer Antikörper.^{36,223} Durch die Anlagerung der gebildeten Immunglobuline an die Erythrozytenoberfläche kommt es im Anschluss zur Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen und schließlich über verschiedene Mechanismen zur Zerstörung der betroffenen Zelle. Der Grad der vorliegenden Hämolyse ist hierbei abhängig vom beteiligten Immunglobulin-Isotyp und seinen spezifischen Charakteristika (z.B. Fähigkeit der Makrophagen- und/oder Komplement-Aktivierung) sowie vom entsprechenden Zielantigen auf dem Erythrozyten.⁵⁹

In zahlreichen Studien, die sich mit dem Nachweis antierythrozytärer Antikörper bei Hunden mit IMHA beschäftigt haben, konnten Immunglobuline vom Typ IgG, IgM, IgA sowie C3-Komplement nachgewiesen werden.^{9,146,167,213,225} Geringe Mengen der

genannten Immunglobuline sowie von C3-Komplement konnten auch wiederholt auf den Erythrozyten gesunder Hunde detektiert werden.¹⁶⁷ Hier spielen sie eine wichtige Rolle im physiologischen Erythrozytenabbau, da sie alterungsbedingte Veränderungen struktureller Membranproteine (u.a. Formation von Bande-3-Protein-Clustern) erkennen und betroffene Zellen opsonieren.¹⁷²

Den häufigsten Immunglobulin-Isotyp bei Hunden mit IMHA stellt IgG dar,^{43,185,225} wobei die Subklassen IgG1 und IgG4 dominieren.³⁷ In einer kumulativen Auswertung von 255 Hunden mit pIMHA konnte IgG alleine oder in Kombination mit anderen Immunglobulinen bei 85 % der Patienten nachgewiesen werden.⁷⁴ An zweiter Stelle der beteiligten Antikörper ist IgM zu nennen gefolgt von IgA, dessen pathogenetische Bedeutung jedoch fraglich ist.³⁹ Hinsichtlich der klinischen Bedeutung der verschiedenen Immunglobulin-Isotypen bei Patienten mit pIMHA konnten Harkin et al. außerdem zeigen, dass Hunde mit ≥ 2 Immunglobulin-Isotypen (insbesondere IgG und IgM) oftmals eine schwerere Anämie, Sphärozytose sowie Autoagglutination aufweisen.⁷⁴

Bezüglich der Antikörper-vermittelten Immunreaktion bei Patienten mit IMHA unterscheidet man die häufiger auftretende extravasale Hämolyse durch Phagozytose markierter Erythrozyten in Milz, Leber und Knochenmark von einer Komplement-vermittelten intravasalen Hämolyse.¹⁹¹

Während eine Opsonierung mit IgG über eine Fc-Rezeptor-vermittelte Aktivierung von Makrophagen in erster Linie zur extravasalen Phagozytose von Erythrozyten führt, kann eine Bindung von IgM darüber hinaus eine Aktivierung des Komplementsystems bewirken. Nach Anlagerung verschiedener Komplementkomponenten an die Erythrozytenmembran sowie anschließender Konformation bildet sich der sogenannte „membrane attack complex“ (MAC).⁴¹

Über die entstandenen transmembranösen Kanäle kommt es in der Folge zum Einströmen von Extrazellulärflüssigkeit in den Erythrozyt, welcher daraufhin anschwillt und schließlich lysiert. Das Ergebnis ist eine intravasale Hämolyse.⁴¹ Diese tritt allerdings erst auf, wenn große Mengen an IgM auf der Erythrozytenmembran gebunden sind.⁵⁹ Alternativ kann aber auch im Rahmen einer IgM-vermittelten Immunantwort über Komplement-Rezeptoren auf Makrophagen eine extravaskuläre Erythrophagozytose initiiert werden.¹³¹ Regulatorisch wirkende

Proteine auf den Erythrozyten (z.B. DAF, CD55, CD59 u.a.), deren Aufgabe in einer Hemmung der Komplement-vermittelten Zellyse besteht, begünstigen diese Form des Erythrozytenabbaus zusätzlich, sodass die extravaskuläre Hämolyse im Rahmen der IMHA dominiert.⁵⁹

Während die IgG-vermittelte extravaskuläre Hämolyse vor allem in der Milz stattfindet, erfolgt die Elimination IgM-markierter Erythrozyten hauptsächlich in den Kupffer-Zellen der Leber.⁵⁹ Klinisch kann sich der gesteigerte Erythrozytenabbau in einer Schwellung der betroffenen Organe äußern. Bei unvollständiger Phagozytose der Erythrozyten mit partiellem Verlust der Zellmembran und gleichzeitiger Schädigung des Zytoskeletts kommt es darüber hinaus zur Entstehung von Sphärozyten. Hierbei handelt es sich um aufgekugelte Erythrozyten, welche im Blutausschrieb einen deutlich reduzierten Durchmesser bei gleichzeitig fehlender zentraler Aufhellung aufweisen. Neben weiteren diagnostischen Tests spielen sie eine zentrale Rolle bei der Diagnosestellung der IMHA. In einer Studie über die verschiedenen Immunglobulin-Isotypen des Hundes konnte außerdem gezeigt werden, dass ein positives Testresultat auf IgG und IgM in Kombination mit einer stärker ausgeprägten Sphärozytose sowie einem niedrigeren Hämatokrit assoziiert ist.⁷⁴

Die ebenfalls labordiagnostisch erfassbare Autoagglutination von Erythrozyten, eine nahezu pathognomonische Veränderung im Rahmen der IMHA, erfolgt hingegen dominierend IgM-vermittelt. Ursächlich ist hier die pentamerische Molekülstruktur des Immunglobulins mit zehn Bindungsstellen für Antigene anzuführen.⁷⁹ Bei einer IgG-vermittelten Immunreaktion sind im Vergleich dazu deutlich höhere Antikörper-Mengen notwendig, um eine Autoagglutination auszulösen.¹³¹

2.2 Ätiologie

Trotz des identischen, oben beschriebenen Pathomechanismus erfolgt im Hinblick auf die zugrunde liegende Ätiologie der IMHA eine weitere Differenzierung in die sogenannte primäre oder autoimmunhämolytische Anämie (pIMHA) und die sekundäre immunmedierte Anämie (sIMHA).

Während es bei der pIMHA zur Interaktion von Autoantikörpern mit unveränderten, intakten Bestandteilen der Erythrozytenmembran im Sinne einer echten Autoimmunerkrankung kommt, liegt bei der sIMHA eine Immunreaktion vor, welche nur indirekt gegen Erythrozyten gerichtet ist. Der Erythrozyt wird hierbei als „innocent bystander“ in das immunologische Geschehen involviert.^{40,136}

Ursächlich werden verschiedene Mechanismen diskutiert. So kann es beispielsweise durch Anlagerung pharmakologischer oder mikrobieller Substanzen an die Erythrozytenoberfläche zur Veränderung von Oberflächenantigenen und schließlich zur Antikörper-vermittelten Hämolyse kommen. Die Medikamente, Toxine oder Mikroorganismen fungieren in diesem Zusammenhang als Haptene, welche erst nach Bindung an ein körpereigenes Trägerprotein eine antigene Wirkung entfalten.^{41,223} Alternativ kann auch eine Bindung von Immunkomplexen bestehend aus Medikament und entsprechendem Antikörper an die Erythrozytenmembran eine Autoimmunreaktion auslösen.²⁰³ Neben verschiedenen Antibiotika, wie Penicillinen,^{62,203} Sulfonamiden^{40,52,62,149,203} und Cephalosporinen^{20,40,62,203} kommen auch eine Therapie mit Amiodaron^{24,203} oder eine anthelminthische Behandlung mit Levamisol⁶ als Ursache einer sIMHA in Frage. Weiterhin existiert ein Fallbericht über das Auftreten einer neutrophilen Dermatitis in Kombination mit einer immunbedingten Anämie und Thrombopenie beim Hund nach Verabreichung von Carprofen.¹³⁵

Darüber hinaus werden auch Vakzine als mögliche Auslöser einer sIMHA diskutiert. In einer Studie konnte ein zeitlicher Zusammenhang zwischen einer vorangegangenen Impfung (vier Wochen vor Vorstellung) und dem Auftreten einer sIMHA in 26 % der Fälle gezeigt werden.⁴⁸ Ursächlich wird neben der Entstehung neuer antigener Epitope durch Anlagerung von Vakzin-Bestandteilen an die Erythrozytenoberfläche auch die impfinduzierte unspezifische Stimulation des Immunsystems mit eventuell überschießender Immunreaktion angeführt.⁴⁸ Diese kann neben den vakzinspezifischen Antigenen auch durch im Impfstoff enthaltene Adjuvantien, Stabilisatoren, Bakteriostatika sowie Rückstände der Zellkulturen oder des Herstellungsprozesses ausgelöst werden.²⁸ Zahlreiche Folgestudien zur IMHA konnten den Zusammenhang zwischen einer erfolgten Vakzinierung und dem Auftreten einer sIMHA allerdings nicht bestätigen.^{25,215} Insgesamt stellt die

impfinduzierte sIMHA mit einer Prävalenz von 0,0001 % eine extrem seltene Erkrankung dar.⁴⁸

Ähnlich wie beim physiologischen Alterungsprozess der Erythrozyten kann es außerdem durch die Formation neuer antigener Epitope bzw. durch die plötzliche Exposition vorhandener antigener Strukturen auf der Erythrozytenoberfläche zur Entstehung einer sIMHA kommen. Ursächlich sind hier vor allem Neoplasien sowie systemische Entzündungsreaktionen anzuführen. Zu den beschriebenen Tumorerkrankungen, die mit einer sIMHA assoziiert sein können, zählen das Lymphom,^{40,52,95,98,136,140} myeloproliferative Neoplasien,^{40,95,140} das anaplastische Sarkom,^{40,133,140} das histiozytäre Sarkom,¹⁹¹ das Hämangiosarkom,^{40,73,136,140} das Melanom,⁵² das Plattenepithelkarzinom,⁵² das hepatozelluläre Karzinom,⁵⁰ das Bronchialkarzinom,^{95,140} sowie der Mastzelltumor.^{89,140} Häufige entzündlich-infektiöse Erkrankungen mit sIMHA sind neben den vektorübertragenen Erkrankungen wie der Babesiose,^{19,40,125,136,140,153,183,191} der Ehrlichiose,^{40,136,183} der Anaplasiose,^{17,40,128,140,191} sowie der Leishmaniose^{40,223} die Leptospirose,¹³⁶ parasitäre Infektionen wie die Dirofilariose,^{65,136} ein Befall mit *Ancylostoma caninum*¹¹⁷ oder *Trichuris vulpis*¹⁴⁰ oder in selteneren Fällen auch eine Infektion mit hämotrophen Mycoplasmen.^{40,100,136,140,191} Daneben kann es auch im Rahmen schwerer (bakterieller) Infektionen, wie z.B. einer Endokarditis, einer Pankreatitis, einer Diskospondylitis, einer Zystitis, einer Pyelonephritis, einer Prostatitis oder einer Pyometra zur Ausprägung einer sIMHA kommen.^{62,71,136,140,213} Aufgrund der Fähigkeit einiger Mikroorganismen zur molekularen Mimikry spielen hier auch kreuzreaktive Antikörper eine wichtige Rolle.³⁹

Als weiterer möglicher Auslöser einer sIMHA bei der Hündin wird außerdem der Einfluss von Hormonen (insbesondere Östrogen) in Zusammenhang mit anderen Stressoren im Rahmen von Östrus und Trächtigkeit diskutiert.^{40,43}

Hinsichtlich der Häufigkeit der genannten Ursachen einer sIMHA konnte in einer Studie bei 35 % der Patienten (7/20) ein systemischer Lupus erythematodes (SLE), bei 30 % der Hunde (6/20) eine Neoplasie (Lymphom n=2, lymphatische Leukämie n=2, Bronchialkarzinom n=1, Magentumor n=1), in 25 % der Fälle (5/20) eine primäre Knochenmarkerkrankung mit aplastischer bzw. hypoplastischer Anämie sowie in je 5 % der erkrankten Hunde (je 1/20) eine traumatisch/entzündliche Erkrankung

(Zwerchfellruptur) bzw. eine Hepatopathie diagnostiziert werden.⁹⁵ In einer Studie von Feldman et al. wiesen 50 % der betroffenen Hunde (16/32) eine in den meisten Fällen nicht weiter klassifizierte Lebererkrankung, 31 % (10/32) eine Septikämie und 19 % (6/32) eine Neoplasie (Lymphom n=4, Melanom n=1, Plattenepithelkarzinom n=1) auf.⁵² Engelbrecht et al. diagnostizierten als Ursache der sIMHA in 4/7 Fällen (57 %) eine Infektionserkrankung (Ehrlichiose n=1, Leishmaniose n=2, Leishmaniose/Babesiose n=1) sowie in jeweils einem Fall (14 %) eine Hepatopathie (Lebernekrose), eine Neoplasie (Leberzellkarzinom) und eine vorangegangene medikamentöse Therapie (Phenobarbital).⁵⁰ Vergleichend dazu zeigten in der Studie von Wang et al. je ca. 1/3 der Patienten mit sIMHA ursächlich eine Infektionserkrankung (7/22; 32 %) oder eine vorangegangene Medikamentengabe (8/22; 36%), 27% (6/22) eine Neoplasie und 5 % (1/22) eine entzündliche Erkrankung.²¹⁰

Eine Sonderstellung nimmt die sogenannte alloimmune Hämolyse ein. Bei dieser Form der IMHA kommt es zur Zerstörung allogener Erythrozyten durch präformierte Antikörper. Im Gegensatz zur Katze besitzt der Hund keine natürlich vorkommenden Alloantikörper, kann diese aber nach Kontakt mit Alloantigenen, wie z.B. nach Bluttransfusionen, während der Trächtigkeit oder infolge von Geburten entwickeln.^{79,140}

Die neonatale Isoerythrolyse, eine beim Hund sehr seltene Erkrankung, basiert letztlich auf der Übertragung dieser Alloantikörper auf die Welpen. Bekommt eine DEA 1.1-negative Hündin, welche in der Vergangenheit DEA 1.1-positives Blut erhalten hat, DEA 1.1-positiv Welpen, können diese über das Kolostrum des Muttertieres Antikörper aufnehmen, welche gegen ihre eigene Blutgruppe gerichtet sind. Die Folge ist eine schwerwiegende Hämolyse, welche innerhalb von Stunden bis Tagen nach Kolostrumaufnahme auftritt, und meist zum Tod der betroffenen Welpen führt.^{80,140}

Bei der pIMHA handelt es sich um ein multifaktorielles Geschehen, bei dem es infolge einer Dysregulation des Immunsystems zur Zerstörung körpereigener Erythrozyten kommt. Ätiologisch betrachtet spielen verschiedene Einflussfaktoren, wie genetische Komponenten, Alter und Geschlecht des Patienten sowie Umwelteinflüsse eine Rolle.^{36,61,101,104} Autoantigene – in diesem Fall Produkte des

physiologischen Erythrozytenabbau – werden infolge der Erkrankung als körperfremd missklassifiziert, von antigenpräsentierenden Zellen aufgenommen, präsentiert und schließlich im Rahmen einer T2-Helferzell-vermittelten humoralen Immunantwort zerstört.²²³ Die pIMHA kann hierbei als eigenständige Erkrankung, in Kombination mit einer immunvermittelten Thrombopenie (Evans Syndrom)^{89,107} oder als Teil des systemischen Lupus erythematoses (SLE), einer systemischen Autoimmunerkrankung, vorliegen.⁴⁰

Ursächlich liegt in erster Linie eine Störung der Autoregulation aufgrund einer Fehlsteuerung bzw. Fehlaktivierung sogenannter autoreaktiver T-Zellen zugrunde.^{39,187} Beim gesunden Hund werden diese Zellen normalerweise frühzeitig vom Immunsystem detektiert und größtenteils bereits während der Reifung im Thymus oder peripher in der Zirkulation eliminiert. Geschieht dies nicht, besteht eine weitere Möglichkeit zur Verhinderung autoimmuner Reaktionen in der dauerhaften Inaktivierung autoreaktiver T-Zellen im Sinne der Anergie. Aufgrund des Fehlens kostimulatorischer Faktoren bleibt in diesem Fall eine Aktivierung und somit eine gegen körpereigene Zellen gerichtete Immunreaktion aus.⁴⁰

Da die eigentliche Aktivierung autoreaktiver T-Lymphozyten über MHC-II-gebundene Autoantigene auf Antigen-präsentierenden Zellen erfolgt, wird bezüglich des genetischen Hintergrundes der Erkrankung, der sich in familiärer Häufung bzw. in Rasseprädispositionen zeigt, ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer pIMHA und dem Vorliegen bestimmter DLA-Klasse-II-Haplotypen diskutiert.¹⁰¹ Ursächlich erscheinen vor allem exzessive Selektionsmaßnahmen sowie Inzucht zur Realisierung des phänotypischen Zuchtziels und ein damit einhergehendes gehäuftes Auftreten bestimmter DLA-Klasse-II-Haplotypen wahrscheinlich.¹⁰¹

Bereits 1997 konnte in Studien gezeigt werden, dass autoreaktive T-Zellen auch beim gesunden Hund existieren – allerdings in einer inaktiven Form.³¹ Erst durch einen externen Trigger (z.B. Virusinfektion, Medikamente, Vakzine) oder beispielsweise eine zugrunde liegende genetische Prädisposition kommt es schließlich zur Überführung in die aktive Form und somit zur Autoimmunerkrankung. Um dies zu verhindern existieren neben den genannten Mechanismen zum Erhalt der Immuntoleranz außerdem sogenannte regulatorische T-Zellen (Treg), welche ihre immunmodulatorischen Fähigkeiten vor allem über Interleukin-10 sowie TNF- β

vermitteln. Funktionsstörungen dieser Zellreihe sind somit ebenfalls an der Entstehung autoimmuner Erkrankungen beteiligt.^{18,223}

Während bei der sIMHA eine Bindung von Antikörpern an modifizierte Bestandteile der Erythrozytenmembran vorliegt, richtet sich die Immunreaktion der pIMHA gegen unveränderte Erythrozyten. Im Vergleich zum Menschen, bei dem die Immunglobuline hauptsächlich gegen Proteine der Rhesusgruppe und den Anionenkanal Bande 3 gerichtet sind, konnten beim Hund verschiedene Zielantigene isoliert werden. Hierzu gehören neben dem Bande-3-Protein (transmembranöser Anionenaustauschkanal) das Transmembranprotein Glycophorin sowie Spektrin als Bestandteil des erythrozytären Zytoskeletts.^{10,11,39} Darüber hinaus konnten in einer aktuellen Studie von Tan et al. weitere cytosolische Proteine detektiert werden, welche beispielsweise durch oxidativen Stress (Peroxisredoxin 2) oder Eryptose (Calpain) an die Erythrozytenoberfläche transloziert werden, und somit als neue Zielantigene für Autoantikörper fungieren.²⁰⁰ Auch im Rahmen von Entzündungsreaktionen freigesetztes und an Erythrozyten gebundenes Komplement (C3d) konnte hier als antigenes Epitop identifiziert werden.²⁰⁰ Unklar bleibt allerdings, ob die beschriebenen Proteine tatsächlich Auslöser der Autoimmunreaktion sind, oder ob sie im Verlauf einer pIMHA zu Zielantigenen werden.

Ein Zusammenhang zwischen oxidativem Stress und der Entstehung einer IMHA wurde bereits in früheren Studien diskutiert. So kann die Freisetzung von Hämoglobin infolge einer hämolytischen Anämie zur Bildung von Sauerstoffradikalen führen, welche ihrerseits die Hämolyse verstärken.¹⁵⁹ Der Einsatz von Antioxidantien stellt in diesem Zusammenhang womöglich einen weiteren Therapieansatz dar.²⁰⁰

Neben vorhandenen Bestandteilen der Erythrozytenmembran, welche im Rahmen der pIMHA fälschlicherweise als körperfremd klassifiziert werden, kann auch das Fehlen funktioneller Membranproteine zu morphologischen Veränderungen und schließlich zur Instabilität der Zellmembran mit frühzeitiger Zellyse führen. So ergab eine Studie von Miller et al., dass die Abwesenheit von DEA 7 beim Amerikanischen Cocker Spaniel mit einem erhöhten Risiko an einer pIMHA zu erkranken vergesellschaftet ist.¹³⁸

2.3 Signalement

Im Hinblick auf das Signalement der Patienten mit pIMHA konnte in zahlreichen Fallserien gezeigt werden, dass mit einem medianen Alter von 5-7 Jahren bzw. einem Durchschnittsalter von 6,4 Jahren dominierend mittelalte, erwachsene Hunde betroffen sind.^{4,21–23,25,50,60,68,74,88,105,107,124,129,162,171,181,215}

Darüber hinaus wurde in einigen Studien ein gehäuftes Auftreten der Erkrankung beim Cocker Spaniel,^{4,16,22,23,25,50,74,88,107,124,129,132,138,162,171,173,181,196,215} beim English Springer Spaniel,^{4,107,129,171,173,213} beim Zwergschnauzer,^{22,74,171,181,215} beim Collie,^{16,22,107,138,171} beim Dackel,^{74,162} beim Labrador Retriever,^{22,162,196} beim Bobtail,^{38,50,162} beim Pudel/Zwergpudel,^{16,74,171} beim Irish Setter,⁴³ beim Airedale Terrier,¹²⁹ beim Magyar Vizsla,¹²⁹ beim Malteser,¹²⁹ beim Shi-Tzu,^{74,88} beim Bichon Frise,¹³⁸ beim Zwergpinscher,¹³⁸ beim Mops,⁷⁴ beim Chihuahua,⁷⁴ beim Finnischen Spitz,¹³⁸ beim Whippet¹⁶ und beim Münsterländer¹⁶ beobachtet. Diese Angaben sind allerdings vor allem im Hinblick auf regionale sowie temporäre Rassepräferenzen kritisch zu bewerten.

Bezüglich der Geschlechterverteilung von Hunden mit pIMHA konnte außerdem wiederholt eine Überrepräsentation weiblicher^{21,22,25,64,74,89,99,105,124,138,171,215} bzw. weiblich-kastrierter Tiere^{4,25,129,181} und kastrierter Tiere im Allgemeinen^{25,215} festgestellt werden. Ursächlich wird hier ein negativer Einfluss von Östrogenen^{43,131,188} bzw. eine fraglich protektive Wirkung von Androgenen diskutiert.²¹⁵

Bei der sekundären immunvermittelten Anämie sind sowohl das Alter des erkrankten Tieres als auch eventuelle Rasseprädispositionen von der Grunderkrankung abhängig und somit sehr variabel.

2.4 Klinik

Die klinische Symptomatik von Patienten mit IMHA erklärt sich in erster Linie durch die anämiebedingte Gewebshypoxie, die bestehende immunvermittelte Hämolyse sowie die begleitende systemische Entzündungsreaktion.^{7,115} Der Schweregrad des Krankheitsbildes ist dabei abhängig vom Krankheitsverlauf, welcher akut oder

chronisch sein kann. Während Hunde in einer akuten hämolytischen Krise häufig im Schock vorgestellt werden, zeigen chronisch-krankte Hunde schwere klinische Symptome, wie z.B. Dyspnoe meist erst nach Stressexposition.^{7,209}

Bei Hunden mit sIMHA können darüber hinaus Beschwerden auftreten, welche auf die zugrunde liegende Erkrankung zurückzuführen und dementsprechend variabel sind.

Die folgenden Daten sind Studien entlehnt, deren Patientengut lediglich Hunde mit pIMHA beinhaltet. Anamnestisch werden von den Besitzern betroffener Hunde vor allem unspezifische Symptome wie Lethargie (70 – 99 %),^{22,68,107,124,162,171} Leistungsschwäche (46 – 67 %)^{107,171,210} und Inappetenz bis Anorexie (65-99 %)^{68,107,124,162,164,171,210} beschrieben. Daneben zeigen einige der Patienten zusätzlich gastrointestinale Symptome wie Erbrechen (22 – 33 %) und Durchfall (11-18%).^{16,65,68,124,162,164} Im Falle einer akuten hämolytischen Krise können außerdem oftmals eine Pigmenturie (13 – 88 %)^{22,60,68,124,162,164,171} infolge einer Hämoglobin- oder Bilirubinurie sowie ein Ikterus (27 – 67 %)^{22,60,99,105,107,124,162,164,171,210} beobachtet werden. In seltenen Fällen treten außerdem Synkopen auf.^{16,65,162}

Häufige Befunde der klinischen Untersuchung bei Patienten mit IMHA sind neben blassen bis blass-ikterischen Schleimhäuten (76 – 98 %)^{22,68,105,107,162,164,171} Fieber (18 – 46 %),^{32,68,162,164,171,196} palpable Hepato- und Splenomegalien (23 – 43 %),^{22,107,162,171} Lymphadenomegalien,¹⁶² eine kompensatorische Tachykardie^{16,65,107,124,171,196} sowie eine Tachypnoe.^{16,65,124,171,196} In einer Studie von Piek et al. zeigten außerdem 9 % der Patienten bereits bei initialer Vorstellung eine Dyspnoe.¹⁶⁴ Ursächlich muss bei diesen Tieren unter anderem an eine pulmonale Thrombembolie (PTE) gedacht werden, welche zu den häufigsten Komplikationen dieser Erkrankung gehört und in verschiedenen Fallserien bei 7 – 44 % der Patienten in der Sektion nachgewiesen werden konnte.^{25,93,107,108,132,221}

Aufgrund einer verminderten Blutviskosität im Rahmen der bestehenden Anämie ist bei 23 – 47 % der betroffenen Hunde zudem auskultatorisch ein Herzgeräusch auffällig.^{22,64,68,105,171} Hinsichtlich der Gradeinteilung des Herzgeräusches konnte in zwei Publikationen gezeigt werden, dass maximal ein Geräusch Grad 3/6 vorliegt.^{64,105}

Hypoxiebedingte Herzrhythmusstörungen, wie beispielsweise ein AV-Block II. Grades oder auch ventrikuläre und supraventrikuläre Extrasystolen sind ebenfalls beschrieben.¹²⁴

Bis zu 85 % der Hunde mit pIMHA zeigen zusätzlich eine Thrombozytopenie,¹⁶² wobei rund 22 % aller betroffenen Tiere eine schwere Form mit Thrombozytenzahlen $< 50 \times 10^9/l$ aufweisen.^{22,25,107,124,132,162,181,196,202} Neben den oben genannten Symptomen können bei diesen Patienten zusätzlich Petechien und Ecchymosen, gingivale oder episklerale Blutungen, ein Hyphäma, Epistaxis, Hämaturie, Meläna oder Hämatochezie auftreten.^{7,63,89,164} Ursächlich muss in diesem Fall neben der Möglichkeit eines Evans Syndroms an einen erhöhten Thrombozytenverbrauch z.B. in Folge einer DIC gedacht werden.

2.5 Diagnose

2.5.1 Differentialdiagnosen

Da neben der IMHA zahlreiche Differentialdiagnosen für das Auftreten einer Hämolyse beim Hund in Frage kommen, ist es wichtig, mögliche Ursachen – beispielsweise durch eine eingehende Anamneseerhebung – im Vorfeld abzuklären bzw. bestenfalls auszuschließen.

Bei betroffenen Jungtieren prädisponierter Rassen muss vor allem an erbliche Erkrankungen gedacht werden, welche zu einer erhöhten Fragilität der Erythrozyten führen. Hierzu gehören autosomal-rezessiv vererbte erythrozytäre Enzymdefekte, wie der Pyruvatkinase- (z.B. beim Basenji, Beagle, West Highland White Terrier, Cairn Terrier, Zwergpudel, Chihuahua, Mops, Dackel und Spitz) oder Phosphofruktokinasekinasemangel (z.B. beim English Springer Spaniel, Amerikanischen Cocker Spaniel, Mischling, Whippet oder Deutschen Wachtelhund)^{77,156} sowie Membrandefekte wie z.B. die hereditäre Stomatozytose (z.B. beim Alaskan Malamute oder beim Zwergschnauzer).¹⁴⁰

Darüber hinaus können verschiedene Blutparasiten über eine direkte Erythrozytenschädigung eine hämolytische Anämie auslösen. Neben einer Infektion mit hämotrophen Mycoplasmen (*M. haemocanis*, *Candidatus M. haematoparvum*),

welche vor allem bei immunsupprimierten oder splenektomierten Hunden zu einer dominierend extravaskulären Hämolyse führen, kommt eine Babesiose (Infektion mit *B. canis*, *B. gibsonii* oder *B. conradae*) als Auslöser in Betracht.^{140,191} Die Hämolyse erfolgt hier neben einer sekundären immunvermittelten Reaktion des Wirtsorganismus (SIMHA) durch verschiedene Proteasen sowie eine oxidative Schädigung der Erythrozyten.¹⁹¹

Auch die Aufnahme von N-Propyl-Disulfid-haltigen Lauchgewächsen (z.B: Zwiebeln, Knoblauch, Schnittlauch etc.), Zink (z.B. in Salben, Pennies, Spielzeugen etc.), Kupfer, Methylenblau, Vitamin K1 und K3 oder die Verabreichung von Medikamenten wie Acetaminophen, Propylthiouracil, Propofol, Methimazol, Methionin, Chinidin, Penicillinen, Cephalosporinen oder Benzocain kann über oxidativen Stress zu Membranschäden und somit zur verfrühten Lyse von Erythrozyten führen.^{136,140,209} Daher sollte der Tierbesitzer in der Anamnese explizit nach einer möglichen Ingestion bzw. Verabreichung der genannten Substanzen gefragt werden. Charakteristisch für diese Form der Hämolyse ist das Auftreten von Heinz-Körperchen oder Exzentrozyten, welche im Blutausstrich zu detektieren sind.²⁰⁹

Eine Exposition mit Giften bestimmter Schlangen- (z.B. Diamant-Klapperschlange, Östliche Korallenotter oder Rotbauch-Schwarzotter) und Spinnenarten (z.B. Braune Einsiedlerspinne) kann über verschiedene Enzyme, wie z.B. Phospholipase A oder Sphingomyelinase D ebenfalls eine direkte Hämolyse auslösen.¹⁴⁰

Daneben kann es auch im Rahmen schwerer Hypophosphatämien, wie z.B. infolge der Insulintherapie bei einer diabetischen Ketoazidose, bei stark unterernährten Patienten mit enteraler oder parenteraler Überversorgung (Refeeding-Syndrom) oder nach Verabreichung von Phosphatbindern zur Ausprägung einer hämolytischen Anämie kommen.⁷

Eine intravasale, mechanische Fragmentation von Erythrozyten, beispielsweise durch bestehende Fibrinnetze, verletzte Gefäßwände, turbulente Blutflüsse oder gefäßassoziierte Tumoren, führt zur sogenannten mikroangiopathischen hämolytischen Anämie – einer weiteren wichtigen Differentialdiagnose. Ursächlich kommen hier neben einer DIC Vaskulitiden, ein Vena-cava-Syndrom infolge einer Dirofilariose, gefäßassoziierte Tumorerkrankungen wie z.B. das Hämangiosarkom,¹⁷⁰ Herzklappenerkrankungen, Gefäßimplantate und Venenverweilkatheter, das

hämolytisch-urämische Syndrom oder auch massive Entzündungen stark vaskularisierter Organe, wie Milz, Leber, Lunge, Knochenmark und Niere in Frage.^{7,79,209} Im Blutaussstrich betroffener Patienten sind häufig Erythrozytenfragmente zu erkennen, welche als Fragmentozyten/Schistozysten oder Keratozyten bezeichnet werden.²⁰⁹

Da einige der genannten Erkrankungen auch als Ursachen einer sIMHA in Frage kommen, wird deutlich, dass bei vielen Krankheitsprozessen sowohl immunvermittelte Mechanismen als auch eine direkte Erythrozytenschädigung eine Rolle spielen. Eine genaue Differenzierung zwischen immunhämolytischer und hämolytischer Anämie ist somit nicht immer möglich.

2.5.2 Labordiagnostik

Bei klinischem Verdacht einer Anämie besteht der erste Schritt der diagnostischen Aufarbeitung betroffener Patienten in der Durchführung einer vollständigen hämatologischen Untersuchung inklusive Retikulozytenzählung.⁸⁵ Neben der Beurteilung des Schweregrades der Anämie und der Detektion weiterer Blutbildveränderungen dient diese Untersuchung vor allem der Klassifikation der Anämie. Klassischerweise zählt die IMHA genau wie die (chronische) Blutungsanämie mit einer Retikulozytenzahl von > 60.000 Zellen/ μ l zu den regenerativen Anämien. Ausnahmen stellen immunvermittelte Anämien auf Knochenmarkebene mit Zerstörung erythroider Vorläufer sowie ein akuter Krankheitsprozess dar.⁸⁵ In letzterem Fall ist der Zeitraum für eine adäquate Regeneration zu kurz, da das Knochenmark ca. 3-5 Tage (Maximalwert nach ca. 4-7 Tagen) benötigt, um eine Stimulation durch Erythropoetin mit einer detektierbaren Retikulozytose zu beantworten.¹⁴⁰ Bleibt die erwartete Regeneration allerdings auch fünf Tage nach Krankheitsbeginn aus und/oder liegen weitere Zytopenien vor, so sollte bei betroffenen Tieren eine Knochenmarkuntersuchung erfolgen, um primäre Erkrankungen des Knochenmarks, wie z.B. eine Myelofibrose, Myelophthise oder andere myeloproliferative Erkrankungen auszuschließen.^{40,140}

In verschiedenen Fallserien zur IMHA betrug der Anteil regenerativer Anämien initial rund 63 % (40 – 84 %).^{22,29,60,68,86,107,124,132,180,181,212,215,218} Bei ausgeprägter

Retikulozytose mit einem Anstieg der Erythrozytenindizes MCV (Mean Corpuscular Volume) und RDW (Red Blood Cell Distribution Width) spricht man darüber hinaus von einer makrozytären Anämie, welche normochrom oder hypochrom sein kann.⁷⁹ Zu beachten ist hier allerdings, dass es bei ausgeprägter Agglutination zu einer Fehlklassifikation (Agglutinate werden als makrozytäre Erythrozyten interpretiert) und somit zu einem falsch-hohen MCV kommen kann.²⁰³

Im Hinblick auf den Schweregrad der Anämie ist zu sagen, dass 74-88 %^{23,50,68,107,129,132} der Hunde mit IMHA mit einem Hämatokrit von ≤ 20 % eine hochgradige Anämie aufweisen, was laut Ishihara et al. mit einer verkürzten Lebensdauer einhergeht, und somit einen negativen prognostischen Parameter darstellt.⁸⁸ Das Auftreten besonders schwerer Anämien in Zusammenhang mit einer IMHA konnte in einer weiteren Publikation bestätigt werden. Hier lag bei 56,2 % der Patienten mit einem Hkt. < 13 % ursächlich eine IMHA zugrunde.²⁹ Jones et al. konnten außerdem zeigen, dass die bestehende Anämie bei Hunden mit pIMHA stärker ausgeprägt war als im Falle einer sIMHA, was sich in einem signifikant niedrigeren Hämoglobinwert äußerte.⁹⁵ In verschiedenen Studien lag der mediane Hämatokrit von Patienten mit pIMHA zwischen 11 % und 17 % (Mittel: 14,8 %).^{21,22,54,64,66,68,86,129,161,162,180,181,196,202,215,218,221} Einfluss auf das Ausmaß der Anämie haben neben der Ausprägung der zugrunde liegenden Hämolyse¹⁰⁷ außerdem Blutungen infolge sekundärer Koagulopathien.⁸⁸

Ein weiterer diagnostischer Schritt zur Aufarbeitung eines anämischen Patienten ist die Beurteilung der Erythrozytenmorphologie anhand eines Blutausstriches. Hier zeigt sich die gesteigerte Regeneration in einer Anisozytose, Polychromasie sowie im Vorliegen von Normoblasten.^{40,136}

Charakteristisch für eine immunvermittelte Hämolyse ist darüber hinaus der Nachweis zahlreicher Sphärozyten im Blutausstrich.¹⁶⁰ Das Vorliegen von mehr als 50 % Sphärozyten gilt hierbei als nahezu diagnostisch.²¹⁹ Bei den Sphärozyten handelt es sich um formveränderte Erythrozyten, welche aufgrund partieller Phagozytose durch Makrophagen ein vermindertes Verhältnis von Zelloberfläche zu Zellvolumen aufweisen. Durch die Phagozytose-bedingten Membranverluste sind die betroffenen Zellen zudem rigider, weisen eine erhöhte osmotische Fragilität auf und unterliegen einer vorschnellen Phagozytose in der Milz. Die Folge ist eine deutlich

verkürzte Lebensdauer.⁶² Mikroskopisch stellen sich die betroffenen Erythrozyten mikrozytär dar. Bedingt durch den Verlust der bikonkaven Zellform fehlt ihnen zudem die zentrale Aufhellung, und sie erscheinen intensiv gefärbt.²⁰³ Ca. 52 – 96 % aller Hunde mit IMHA weisen eine Sphärozytose auf.^{21–23,25,66,68,74,83,86,99,107,124,159,161,162,171,180,181,196,202,212,215,218,221} Differentialdiagnostisch kann es allerdings auch infolge einer traumatisch bedingten Zerstörung von Erythrozyten (z.B. im Rahmen einer mikroangiopathischen hämolytischen Anämie), aufgrund einer Zinkintoxikation oder einer schweren Hypophosphatämie, nach vorangegangener Bluttransfusion, bei verschiedenen hereditären Erkrankungen oder auch in seltenen Fällen nach einem Klapperschlangenbiss oder einem Bienenstich zur Entstehung von Sphärozyten kommen.^{42,62,80,139,203,209} Bei gleichzeitigem Vorliegen intravasaler Fibringerinnsel, beispielsweise infolge einer DIC, können neben Sphärozyten außerdem eventuell auch Fragmentozyten im Blutausschrieb nachgewiesen werden.²⁰⁹

Eine weitere Indikation für die Durchführung eines Blutausschriebs ist neben der Evaluation der Thrombozytenzahl der Nachweis möglicher Blutparasiten, wie z.B. Mycoplasmen, Anaplasmen oder Babesien.¹⁹¹

Die für die IMHA nahezu pathognomonische Autoagglutination von Erythrozyten ist häufig ebenfalls bereits makroskopisch auf dem Objektträger oder im Blutprobenröhrchen zu erkennen. Um hier allerdings eine physiologisch auftretende Rouleaux-Formation (Geldrollenbildung) von einer echten Agglutination unterscheiden zu können, muss ein sogenannter Objektträgeragglutinationstest durchgeführt werden. Hierbei wird ein Tropfen EDTA-Blut des Patienten mit 1-3 Tropfen einer 0,9 %igen Kochsalzlösung auf dem Glasobjektträger vermischt, und im Anschluss sowohl makroskopisch als auch unter dem Mikroskop (40fache Vergrößerung, Deckgläschen) untersucht.^{136,140,203,209} Die unspezifische Zusammenlagerung von Erythrozyten im Sinne einer Geldrollenbildung wird durch diesen Test aufgebrochen, während eine Autoagglutination weiterhin bestehen bleibt. Ist Letzteres der Fall, sollte im Anschluss zusätzlich eine Waschung der Erythrozyten erfolgen. Hierbei wird die Blutprobe dreimalig im Verhältnis 1:3, 1:4 und 1:5 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, zentrifugiert und der Überstand dekantiert. Zeigen die Erythrozyten des erkrankten Hundes weiterhin eine Autoagglutination, ist

diese als echt zu bewerten („true autoagglutination“).⁶² In der aktuellen Literatur wird die Erythrozytenwaschung allerdings immer seltener aufgeführt. Während in wenigen, z.T. älteren Studien eine Waschung der Erythrozyten mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) oder Kochsalzlösung explizit erwähnt wird,^{48,50,68,69,107,124} bewertet ein Großteil der Studien eine nach Verdünnung mit Kochsalzlösung bzw. nach Durchführung eines Objektträgeragglutinationstests persistierende Autoagglutination bereits als positiv.^{21,22,25,64,66,83,86,88,129,181,196,202,212,215,221} Insgesamt konnte eine echte Autoagglutination, die auch nach Erythrozytenwaschung bestehen blieb, in 4 %, ⁵⁰ 8 %, ⁶⁸ 10 %, ¹⁰⁷ 29 %, ⁶³ 44 %, ¹²⁴ bzw. 49 %⁴⁸ der Fälle mit pIMHA sowie bei 14 %⁵⁰ bzw. 60 % der Hunde mit sIMHA⁴⁸ nachgewiesen werden, wohingegen eine lediglich nach Verdünnung mit Kochsalzlösung persistierende Autoagglutination bei 38 – 100 % (Mittel: 70 %) der erkrankten Hunde beschrieben ist.^{21,22,25,64,66,83,86,99,129,181,196,202,212,215,221}

Weitere hämatologische Veränderungen, welche häufig mit einer IMHA assoziiert sind, sind eine Leukozytose mit Neutrophilie, welche in 67 – 99 % der Fälle vorliegt,^{22,64,86,124,129,162,171,180,181,202,218} sowie eine in bis zu 80 % der Fälle zusätzlich bestehende Thrombozytopenie.¹⁶¹

Ursächlich für die Neutrophilie, welche in 63 – 80 % der Fälle mit einer Linksverschiebung kombiniert ist,^{64,162,180,181,202} sind verschiedene Mechanismen anzuführen. Neben einer gesteigerten Granulopoese sowie Freisetzung von Neutrophilen infolge der anämiebedingten Knochenmarkstimulation durch Erythropoetin kommt es vor allem aufgrund bestehender Gewebsnekrosen zu einer Hemmung der Marginalisation und Diapedese der neutrophilen Granulozyten.¹³² Darüber hinaus führen auch verschiedene Zytokine (z.B. Interleukine, Koloniestimulierende Faktoren, Chemokine), welche im Rahmen von entzündlich-infektiösen Prozessen, Neoplasien oder Nekrosen freigesetzt werden, zu einer Rekrutierung und Aktivierung von neutrophilen Granulozyten.¹⁵⁴ McManus et al. konnten in ihrer Studie zudem zeigen, dass die Leukozytenzahl, eine (eventuell auch degenerative) Linksverschiebung oder das Vorliegen toxischer neutrophiler Granulozyten direkt mit postmortal auffälligen hypoxisch bzw. thrombembolisch bedingten Organnekrosen

korreliert. Eine häufige Lokalisation von Organnekrosen im Rahmen einer IMHA war hier die zentrolobuläre Leberzellnekrose.¹³²

Vor allem beim Auftreten einer degenerativen Linksverschiebung sollte in Zusammenhang mit einer entsprechenden klinischen Symptomatik (gestörtes Allgemeinbefinden, Fieber etc.) differentialdiagnostisch an eine Sepsis gedacht werden. In einer Studie von Miller et al. konnte allerdings bei keinem der getesteten Patienten (n=12) mit IMHA in der durchgeführten Blutkultur ein Bakterienwachstum nachgewiesen werden.¹³⁸ Neben den beschriebenen, physiologisch ablaufenden Prozessen hat die bei der pIMHA indizierte immunsuppressive Therapie mit Corticosteroiden ebenfalls einen Einfluss auf die Bereitstellung und Verteilung der Leukozyten. Da Corticosteroide allerdings dominierend die Demarginalisation der neutrophilen Granulozyten fördern (ca. 61 %) bzw. die Halbwertszeit der Zellen in der Zirkulation verlängern (29 %) und nur wenig Einfluss auf den mitotischen Pool im Knochenmark haben (ca. 10 %), ist durch den Einsatz dieser Medikamente maximal eine Verdopplung der Leukozytenzahl zu erwarten.^{132,148}

Obwohl die Mehrzahl der Patienten mit IMHA eine teilweise ausgeprägte Leukozytose mit Neutrophilie aufweist, kann es in seltenen Fällen auch zur Ausprägung einer Leukopenie kommen. Differentialdiagnostisch kommen hier neben einer Myelosuppression mit folglich gestörter Granulopoese ein erhöhter Verbrauch im Rahmen eines septischen Prozesses oder eine ebenfalls immunmedierte Zerstörung dieser Zellreihe in Frage.¹³⁶

Bei einer gleichzeitig vorliegenden Thrombozytopenie muss ursächlich neben einer ebenfalls immunvermittelten Zerstörung (Evans Syndrom) an einen gesteigerten Umsatz, z.B. im Rahmen einer DIC, einer Blutung oder einer Sepsis, eine Sequestration der Thrombozyten in der Milz, eine verminderte Bildung (z.B. nach Verabreichung von Chemotherapeutika) sowie mögliche Thrombembolien gedacht werden.^{25,136,215} In diesem Fall sind weiterführende labordiagnostische Untersuchungen im Sinne einer Gerinnungsdiagnostik notwendig.

Generell stellt das Auftreten von Thrombembolien die häufigste Komplikation im Verlauf einer IMHA dar. In mehreren Studien konnten bei 60 – 100 % der infolge einer pIMHA verstorbenen Hunde in der Sektion Thrombosen in verschiedenen Organen, wie z.B. der Milz, der Lunge, den Nieren, dem Herz und den Lymphknoten

nachgewiesen werden.^{25,180,202,215} In Bezug auf die gesamte Studienpopulation betrug der Anteil der Patienten mit Thrombembolien 24 – 50 %.^{25,180,202,215}

Labordiagnostische Parameter, die mit dem Auftreten von Thrombembolien bei Patienten mit pIMHA korrelieren, sind neben einer Hypoalbuminämie sowie einer Hyperbilirubinämie (> 5mg/dl) schwere Thrombopenien (< 50 x 10⁹/l).²⁵

Pathophysiologisch betrachtet handelt es sich bei der Entstehung von Thrombembolien im Rahmen der IMHA um ein multifaktorielles Geschehen. Durch die immunvermittelte Zerstörung der Erythrozyten kommt es u.a. zur Aktivierung von Gewebethromboplastin (auch Tissue Factor oder Faktor III) und somit zur Gerinnungsinduktion (extrinsischer Weg).⁹² Piek et al. konnten eine deutlich gesteigerte Expression von Tissue Factor (TF) bei Hunden mit pIMHA nachweisen, wobei neben dem Gefäßendothel vor allem Leukozyten (insbesondere Monozyten und neutrophile Granulozyten) und Thrombozyten als Quelle der gesteigerten TF-Synthese in Frage kommen.¹⁶¹ Daneben forcieren auch zirkulierende Membranbestandteile apoptotischer oder aktivierter Zellen – sogenannte Mikropartikel – über eine Freisetzung von TF sowie anionischen Phospholipiden (insbesondere Phosphatidylserin) einen prokoagulatorischen Zustand.¹⁵⁷ Das Vorhandensein großer Mengen an Mikropartikeln infolge der bestehenden immunvermittelten Hämolyse führt außerdem zu einer Stase des Blutflusses und somit wiederum zur Gerinnungsaktivierung.⁹²

Die bestehende Entzündungsreaktion bewirkt darüber hinaus eine gesteigerte Freisetzung verschiedener Entzündungsmediatoren sowie Zytokine, welche ihrerseits die anämiebedingte Gewebshypoxie verstärken und zudem zu einer erhöhten Gewebespermeabilität führen.⁹² Ein Anstieg von Zytokinen und Chemokinen, welche die Aktivierung von Makrophagen und Monozyten induzieren (z.B. IL-18, MCP-1), konnte in diesem Zusammenhang als negativer prognostischer Parameter bei Hunden mit pIMHA herausgearbeitet werden.¹⁰⁵

Hyperkoagulabilität, Veränderung der Blutviskosität und Blutstase sowie Endothelalterationen begünstigen schließlich das Auftreten vaskulärer Thromben, was bereits im Jahr 1856 von dem deutschen Arzt Rudolf Virchow postuliert wurde.²⁰⁸

Häufige Laborwertveränderungen, die eine Störung der Hämostase bei Patienten mit IMHA widerspiegeln, sind eine Verlängerung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) sowie der Prothrombinzeit (PT),^{25,50,162,181,202} ein erniedrigter Antithrombinwert,^{54,112,181,202} eine Hyperfibrinogenämie^{54,162,181,202} sowie eine erhöhte Konzentration an D-Dimeren und/oder Fibrinospaltprodukten.^{25,162,181,202,221} Es konnte außerdem gezeigt werden, dass ein erniedrigter Antithrombinwert < 60 % mit daraus resultierender Hypokoagulabilität mit einer erhöhten Mortalität assoziiert ist.¹¹²

Während ein hypokoagulabler Zustand mit Hilfe der Bestimmung konventioneller Gerinnungsparameter (PT, aPTT) zu detektieren ist, kann eine tatsächlich bestehende Hyperkoagulabilität, welche eine umgehende antithrombotische Therapie erfordert, anhand dieser Untersuchungen nicht bewiesen werden.^{45,54} Hier bietet sich die Thrombelastographie als globaler Gerinnungstest an. In verschiedenen Studien zur IMHA des Hundes konnte mittels dieser Testmethode bei 80 – 100 % der erkrankten Tiere eine bestehende Hyperkoagulabilität nachgewiesen werden.^{54,56,64,184}

Darüber hinaus waren ein initial normaler oder erniedrigter Koagulationsindex^{56,184} bzw. eine niedrigere Maximalamplitude^{56,64} mit einer deutlich höheren Mortalitätsrate assoziiert. Ursächlich wird bei den betroffenen Tieren ein Verbrauch von Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten infolge einer DIC oder einer Thrombembolie vermutet, welcher eine relative Hypokoagulabilität zur Folge hat.^{56,64,184}

Um den klinischen Verdacht einer disseminierten intravasalen Gerinnung zu verifizieren, müssen neben einer vorliegenden prädisponierenden Grunderkrankung letztlich mindestens zwei der folgenden Kriterien erfüllt sein:¹⁹⁴

- 1) Verbrauch von Thrombozyten
 - a. Thrombozytopenie
- 2) Verbrauch von Gerinnungsfaktoren
 - a. Verlängerung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT)
 - b. Verlängerung der Prothrombinzeit (PT)
 - c. Verlängerung der Thrombinzeit (TT)
 - d. Hypofibrinogenämie

-
- 3) Verbrauch von Inhibitoren der Blutgerinnung
 - a. Erniedrigter Antithrombin-III-Wert
 - 4) Gesteigerte Fibrinolyse
 - a. Erhöhte Konzentration an D-Dimeren
 - b. Erhöhte Konzentration an Fibrin(ogen)spaltprodukten
 - 5) Fragmentation roter Blutkörperchen im Rahmen einer Mikroangiopathie
 - a. Fragmentozyten
 - b. Keratozyten
 - c. Akanthozyten

Insgesamt konnte in verschiedenen Studien zur IMHA des Hundes bei 13 – 45 % der Patienten eine DIC diagnostiziert werden.^{25,50,52,107,181}

Zur weiteren Abklärung zugrunde liegender Ursachen der hämolytischen Anämie sowie zur Detektion sekundärer hypoxisch oder thrombembolisch bedingter Organschäden sollte im weiteren Verlauf außerdem eine blutchemische Untersuchung durchgeführt werden. Häufige Befunde dieser Untersuchung sind neben einer Azotämie und Hyperbilirubinämie erhöhte Leberenzymwerte sowie in einigen Fällen eine Hypoproteinämie infolge einer Hypoalbuminämie.^{50,107,129,132,171}

Die Azotämie kann einerseits Ausdruck einer möglichen Dehydratation sein und somit als prärenal klassifiziert werden. Andererseits kommen auch eine akute Nierenschädigung beispielsweise infolge einer thrombembolisch bedingten Ischämie, der bestehenden Hypoxie, eines septischen Geschehens, einer Ablagerung von Immunkomplexen oder einer Hämoglobin-induzierten Tubulusnekrose in Frage (renale Azotämie).^{136,203}

Bei einer singulären Harnstoffhöhung müssen darüber hinaus gastrointestinale Blutungen – z.B. im Rahmen einer Thrombopenie oder nach Applikation bestimmter Medikamente (z.B. Glucocorticoide) – oder eine bestehende katabole Stoffwechsellage in Betracht gezogen werden.⁸⁸

Der bei rund 2/3 der erkrankten Hunde auffälligen Hyperbilirubinämie^{22,64,66,86,107,124,129,132,171,180,181,202} liegt meist eine Kombination aus einer die Stoffwechsellage der Leber übersteigenden, hochgradigen Hämolyse sowie einer hypoxisch oder thrombembolisch bedingten Leberzellschädigung mit

Leberfunktionsstörung und folglich verminderter biliärer Exkretion zugrunde.^{107,174} Zur Ausprägung eines klinisch detektierbaren Ikterus kommt es hierbei ab einem Serum-Bilirubinwert von > 1,5-2,0 mg/dl (25,5-34 µmol/l).¹⁹¹

Während sich hypoxisch bedingte hepatozelluläre Schäden außerdem in einem Anstieg der Leberenzymwerte widerspiegeln,²² kann die mögliche Leberfunktionsstörung als Erklärung für eine bestehende Hypoalbuminämie herangezogen werden.⁸⁸ Differentialdiagnostisch kommen hier außerdem blutungsbedingte Proteinverluste (bei Störungen der primären und/oder sekundären Hämostase), eine verminderte Albuminsynthese infolge der akuten systemischen Entzündungsreaktion (Albumin als negatives Akute-Phase-Protein), Vaskulitiden, eine Proteinverlust-Nephro- oder Enteropathie oder eine Dilution der Plasmaproteine beispielsweise infolge einer Infusionstherapie oder durch Verschiebung von Flüssigkeit aus dem Interstitium in das Gefäßsystem in Frage.^{25,142}

Erhöhte Leberenzymwerte, insbesondere ein Anstieg der Alkalischen Phosphatase, können darüber hinaus außerdem eine Folge der Therapie mit Glucocorticoiden sein, bzw. durch die Anwendung entsprechender Präparate verstärkt werden.¹⁷¹

Führt man bei Patienten mit IMHA zusätzlich eine Blutgasanalyse durch, so äußert sich die bestehende Gewebshypoxie infolge der Anämie bzw. einer systemischen Hypoperfusion häufig in einer Erhöhung des Laktatwertes. In einer Studie von Holahan et al. war dies initial bei 84 % der Hunde mit pIMHA der Fall.⁸⁴ Eine statistisch signifikante prognostische Einschätzung der erkrankten Tiere anhand des Laktatwertes konnte allerdings erst mit Hilfe serieller Messungen erreicht werden. Hier zeigten sich deutlich höhere mediane Laktatwerte bei Tieren, die aufgrund der Erkrankung verstarben. Darüber hinaus empfehlen die Autoren neben anderen hämodynamischen Parametern eine regelmäßige Bestimmung des Blutlaktatwertes zur Überprüfung des Transfusionsmanagements.⁸⁴

Weitere labordiagnostische Parameter, welche zum Monitoring von Patienten mit IMHA herangezogen werden können, sind die Serum-Akute-Phase-Proteine C-reaktives Protein und α -1-saures-Glycoprotein.^{69,142} Diese zeigen vor allem in der akuten hämolytischen Krise einen Anstieg sowie eine Normalisierung innerhalb von 7-9 Tagen bei adäquatem Ansprechen auf die begonnene Therapie.¹⁴²

Neben den erwähnten Blutuntersuchungen kann außerdem eine Urinuntersuchung die Verdachtsdiagnose einer IMHA stützen. Hier zeigt sich die gesteigerte Hämolyse mit dem vermehrten Anfall von (Zwischen-)Produkten des Blutabbaus in Form einer Bilirubin- und/oder Hämoglobinurie. Übersteigt die Bilirubinproduktion die Eliminationskapazität der Leber, kommt es zur Hyperbilirubinämie und schließlich zur Ausscheidung von konjugiertem Bilirubin über den Urin. Ähnlich verhält es sich bei einer Hämoglobinurie. Durch die infolge einer schweren intravaskulären Hämolyse gesteigerte Freisetzung von Hämoglobin ins Blut (Hämoglobinämie) kommt es zur Überlastung der Bindungsmöglichkeiten an Haptoglobin sowie der Reabsorptionsfähigkeit der Niere.²⁰³ Das Resultat ist eine Hämoglobinurie, welche mit einer rötlich-braunen bis schwärzlichen Färbung des Harns einhergeht.¹⁹¹

Das spezifische Harngewicht ist aufgrund der bestehenden Dehydratation in den meisten Fällen hoch. Liegt jedoch eine Isostenurie vor, sollte ursächlich an eine akute oder chronische Nierenerkrankung gedacht werden.¹³⁶ Bei Hinweisen auf eine Harnwegsinfektion (Pyurie etc.) sollte außerdem zusätzlich eine bakteriologische Urinuntersuchung erfolgen, da es sich hierbei theoretisch um eine Keimabsiedlung im Rahmen einer zugrunde liegenden Infektionserkrankung (z.B. Endokarditis) handeln kann, welche wiederum als Ursache einer sIMHA in Frage kommt.^{62,136}

Die endgültige Diagnosestellung einer IMHA erfolgt schließlich anhand des Nachweises antierythrozytärer Antikörper und/oder Komplement mittels spezifischer Tests. Der in diesem Zusammenhang in der Veterinärmedizin am häufigsten verwendete Test ist der sogenannte Antiglobulin- oder Coombs-Test, welcher im Jahr 1945 durch den Veterinär und Immunologen Robin R. A. Coombs entwickelt wurde.³⁰ Eine erste Beschreibung über die Anwendung dieses Testverfahrens zur Diagnose der IMHA beim Hund erfolgte 1954 durch Miller et al.¹³⁷

Prinzipiell unterscheidet man den direkten Antiglobulintest (DAT), bei welchem auf den Erythrozyten gebundene Antikörper bzw. Komplement nachgewiesen werden, vom indirekten Antiglobulintest (IAT), der freie Antikörper im Serum detektiert. Während der DAT in der Tiermedizin bei Patienten mit Verdacht auf IMHA ein wichtiges Diagnostikum darstellt, findet der IAT vor allem im Rahmen der Transfusionsmedizin in der Humanmedizin Anwendung.²¹¹

Durch Zugabe von mono- oder polyvalenten Immunsereen, welche beim DAT für den Hund je nach Hersteller beispielsweise vom Kaninchen oder der Ziege gewonnen werden, kommt es beim Vorliegen opsonierter Erythrozyten zu einer Bindung des Antiglobulin-Reagenz, welche schließlich in einer sichtbaren Agglutination mündet.²¹³ Aufgrund des Testprinzips ist eine Durchführung des Coombs-Tests daher vor allem bei den Patienten mit Verdacht auf IMHA sinnvoll, die keine spontane Autoagglutination aufweisen.^{80,136} Da eine Autoagglutination allerdings in erster Linie durch IgM vermittelt wird und nur bei großen Mengen an IgG erfolgt,¹³¹ können Tiere mit IgG-vermittelter Erythrozytenzerstörung ohne einen DAT möglicherweise verpasst werden.

Die Durchführung des Coombs-Tests erfolgt – wie bereits erwähnt – unter Verwendung mono- und/oder polyvalenter Immunsereen, welche in der Regel anti-IgG-, anti-IgM- und anti-C3b-Antikörper enthalten.²¹³ Die zu testende EDTA-Blutprobe wird hierbei nach mehrmaligem Waschen bei 37°C sowie 4°C mit verschiedenen Verdünnungsstufen des jeweiligen Antiserums inkubiert und im Anschluss auf Agglutination überprüft.²¹¹ Die Notwendigkeit einer Inkubation bei 4°C zum Nachweis kältereaktiver Antikörper (dominierend IgM)¹⁸⁷ wird kontrovers diskutiert, da Kälteagglutinine auch bei gesunden Hunden nachgewiesen werden können und somit ein falsch-positives Testresultat die Folge sein kann.²¹¹

Abhängig von der Testmethode kann der DAT je nach Hersteller als Röhren- oder Kapillartest (tube/capillary technique), in Form von einem immuno-chromatographischen Schnelltests, als Geltest oder mit Hilfe von Mikrotiterplatten durchgeführt werden.^{26,211}

Die Verwendung von EDTA-Blut wird empfohlen, um eine mögliche in vitro Anlagerung von Komplement und somit ein falsch-positives Testergebnis zu vermeiden.^{80,211} Die Erythrozytenwaschung dient daneben ebenfalls der Vermeidung falsch-positiver Resultate, da so unspezifisch adsorbierte Proteine, Leukozyten und Erythrozytenfragmente entfernt werden.⁴¹

Insgesamt handelt es sich beim Coombs-Test um ein aufwendiges und daher störanfälliges Testverfahren. Darüber hinaus können auch externe Faktoren einen Einfluss auf die Probenqualität haben und somit zu falschen Ergebnissen führen. Das Ergebnis des DAT sollte daher immer kritisch und unter Berücksichtigung der

restlichen Laborparameter sowie des klinischen Erscheinungsbildes des Patienten interpretiert werden. Einen Überblick über mögliche Ursachen für falsch-positive oder falsch-negative Resultate des Coombs-Tests gibt Tabelle 1.

Falsch-negative Resultate	Falsch-positive Resultate
<p>Technische Fehler:</p> <ul style="list-style-type: none"> • unsachgemäße Erythrozytenwaschung (alte Waschlösung, falsche Temperatur, falscher pH-Wert, verzögerte oder unterbrochene Waschung etc.) • mangelhafte Zentrifugation (Röhrchentest) • suboptimale Temperatur für den gebundenen Immunglobulin-Isotyp • Verwendung fehlerhafter Antiseren (falsche Konzentration, Kontamination etc.) • Ablesefehler/Fehlinterpretationen (z.B. durch starkes Schütteln beim Röhrchentest) 	<p>Technische Fehler:</p> <ul style="list-style-type: none"> • unsauberes Arbeiten (Verwendung verschmutzter Probengefäße) • Kontamination von Reagenzien (z.B. mit Bakterien, Schwermetallen, Silikon-Gel etc.) • zu starke Zentrifugation (Röhrchentest) • Überinterpretation der Resultate • fehlerhafte Blutentnahme (z.B. über Infusionsschläuche mit Glukose-haltiger Infusion) • Verwendung geronnener Blutproben
<p>Probenfehler:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Menge an gebundenem Immunglobulin klinisch relevant, aber für DAT zu wenig • längere Vorbehandlung mit Glucocorticoiden • Erkrankung in Remission • auslösendes Agens für sIMHA (z.B. Medikament) fehlt im Testansatz 	<p>Probenfehler:</p> <ul style="list-style-type: none"> • infektiöse, entzündliche, neoplastische oder andere immunvermittelte Erkrankungen • Polyagglutination durch Freilegung von Kryptantigenen bei septischen Patienten • Hypergammaglobulinämie • Nachweis natürlich vorkommender Kälteagglutinine • medikamentöse Vorbehandlung • vorangegangene inkompatible Bluttransfusion

Tabelle 1: Ursachen für falsch-negative sowie falsch-positive Testresultate des DAT^{62,136,211}

Die häufig diskutierte Beeinflussung des DAT-Testergebnisses durch vorangegangene Bluttransfusionen oder eine bereits begonnene immunsuppressive Therapie konnte in einer prospektiven Studie von Caviezel et al. zur vergleichenden Durchführung verschiedener DATs (Immunochromatographischer Schnelltest, Gel-Test, Kapillartest, Mikrotiterplatten-Test) allerdings widerlegt werden.²⁶

Während der DAT bei ausschließlicher Anwendung eines polyvalenten Antiserums auch als einfacher Coombs-Test bezeichnet wird, spricht man beim Einsatz monovalenter Immunsereen vom differenzierten Coombs-Test.⁴¹ Neben der Klassifikation des vorliegenden Immunglobulin-Isotypen sowie dem Nachweis einer möglichen Komplementbeteiligung (C3b) gibt der differenzierte Coombs-Test außerdem einen Antikörpertiter an (größtmögliche Verdünnung des Antiserums, bei der noch eine Agglutination ausgelöst wird), welcher in Abhängigkeit der Temperaturreaktivität des gebundenen Immunglobulins bei verschiedenen Test-Temperaturen (4°C oder 37°C) variieren kann.⁴¹

Eine Unterscheidung zwischen pIMHA und sIMHA anhand des Coombs-Tests ist generell nicht möglich. Warman et al. konnten in ihrer Studie allerdings zeigen, dass Hunde mit einem positiven DAT bei Einsatz eines polyvalenten Antiserums und gleichzeitig negativem Testresultat bei Verwendung von monovalentem Anti-IgG bei 4°C und/oder 37°C häufiger eine sIMHA aufwiesen. Darüber hinaus stellten sie eine deutliche Verbesserung der Sensitivität bei zusätzlicher Anwendung monovalenter Antiseren fest, weshalb die Autoren grundsätzlich zur kombinierten Durchführung eines DAT mit mono- und polyvalenten Antiseren bei 37°C und 4°C raten.²¹³

In einer weiteren Publikation, in der zwei verschiedene Coombs-Tests im Mikrotiterplatten-Format mit ausschließlich poly- (VMRD Coombs-Test) bzw. kombinierten poly- und monovalenten Antiseren (University of Minnesota Coombs-Test) verglichen wurden, konnte außerdem eine deutliche Erhöhung der Sensitivität durch Zugabe der Antiseren in verschiedenen Verdünnungsstufen erreicht werden.¹⁵⁵ Ursächlich ist dies auf das sogenannte Prozonenphänomen zurückzuführen, bei dem eine Agglutination der Erythrozyten bei ungenügender Verdünnung der Antiseren aufgrund eines Überschusses an Antiglobulinen ausbleibt. Die darüber hinaus ermittelten unterschiedlichen Sensitivitäten beim direkten Vergleich beider Tests (VMRD Coombs-Test: 61 %, University of Minnesota Coombs-Test: 82 %) wurden

hier allerdings nicht auf die zusätzliche Verwendung monovalenter Immunsereen, sondern auf die Qualität der eingesetzten polyvalenten Antiseren zurückgeführt.¹⁵⁵

Zur Verbesserung der Testergebnisse und somit der Diagnose der IMHA wurden in der Vergangenheit schließlich alternative Testverfahren, wie z.B. der Direct Enzyme-linked Antiglobulin-Test (DELAT) oder der Nachweis gebundener Immunglobuline oder Komplement mittels Direkter Immunfluoreszenz-Durchflusszytometrie (DIF) entwickelt. Während es sich beim DELAT um einen ELISA (Enzyme-linked Immunosorbant Assay) handelt, bei dem eine Antigen-Antikörper-Bindung mittels Farbreaktion visualisiert wird, werden die erythrozytären Antikörper bei der DIF mit Fluoreszein markiert und im Anschluss durchflusszytometrisch erfasst.⁸⁰ Beide Testverfahren sind dem DAT in Bezug auf die Sensitivität überlegen, weisen aber eine geringere Spezifität und somit einen erhöhten Anteil falsch-positiver Resultate auf.

In einer der ersten Studien zur Anwendung des DELAT beim Hund konnte bei 10/11 Hunden (91 %) mit IMHA erythrozytengebundenes IgG nachgewiesen werden. Daneben wiesen 8/11 Hunden (73 %) IgM sowie 3/11 Hunden (27 %) erhöhte Mengen an gebundenem C3-Komplement auf. auf Der parallel durchgeführte DAT verlief hingegen nur bei 27 % der erkrankten Tiere positiv (3/11 Hunden).⁹⁴

Ein Vergleich zwischen DAT und DIF ergab eine übereinstimmende Spezifität von 100 % für den Nachweis von gebundenem IgG für beide Tests. Allerdings wies der Immunfluoreszenz-Test mit 92 % eine deutlich höhere Sensitivität (Nachweis von IgG) auf als der DAT mit 53 %.¹⁶⁷ In einer anderen Studie lag die Sensitivität der DIF sogar bei 100 %.²²⁵ Vor allem bei geringen Mengen an gebundenen Immunglobulinen bzw. einer geringen Anzahl betroffener Erythrozyten (5 – 10 %) ist die DIF gegenüber dem DAT im Vorteil.²²⁵ Um eine Überinterpretation der Ergebnisse zu vermeiden (auch der physiologische Abbau gealterter Erythrozyten erfolgt Immunglobulin-vermittelt) und die Spezifität des Tests zu erhöhen, sollten allerdings lediglich Resultate > 5 % Fluoreszein-markierter Zellen als positiv bewertet werden.^{80,146} Aufgrund der Möglichkeit der Quantifizierung gebundener Immunglobuline dient die DIF nicht nur der Diagnosesicherung, sondern kann darüber hinaus auch zur Therapiekontrolle herangezogen werden.¹⁴⁶

Neben den beschriebenen Testverfahren wurde außerdem ein Gel-Test zum Nachweis antierythrozytärer Antikörper eingesetzt. Der Vorteil dieses Tests im Vergleich zum konventionellen DAT ist die Stabilisation der Agglutinationsreaktion in einer Gel-Phase, sodass die Ablesung des Ergebnisses auch zeitlich verzögert erfolgen kann.²¹¹ In einer Studie von Piek et al. ergaben beide Tests (Gel-Test und DAT) vergleichbare Ergebnisse. Daneben fiel auf, dass im Gel-Test vor allem Patienten mit pIMHA eine positive Agglutinationsreaktion aufwiesen, sodass sich dieser Test als initialer Screening-Test bei Patienten mit Verdacht auf pIMHA anbietet.¹⁶³

Aufgrund des z.T. erheblichen materiellen und zeitlichen Aufwandes bzw. der fehlenden kommerziellen Verfügbarkeit sind die beschriebenen Verfahren in der Veterinärmedizin bisher allerdings nicht etabliert, sodass der Coombs-Test im Rahmen der IMHA-Aufarbeitung weiterhin das Diagnostikum der Wahl darstellt. Eine objektive Bewertung der Validität des Coombs-Tests ist aufgrund eines fehlenden Goldstandards zur Diagnose der IMHA schwierig.²¹³ Je nach Studie erfolgen Diagnosestellung sowie Patientenauswahl anhand klinischer und/oder labordiagnostischer Parameter bzw. dem Ansprechen auf eine immunsuppressive Therapie.^{155,225} Spezifität und Sensitivität des DAT werden schließlich anhand der erhaltenen Resultate berechnet. Während die Spezifität des Coombs-Tests aufgrund der Selektion der Patienten meist 100 % beträgt,^{155,167,225} liegt die Sensitivität des Tests je nach angewandter Testmethode (Verwendung mono- oder polyvalenter Seren, Temperatur etc.) im Durchschnitt nur bei 64 % (53 – 82 %).^{155,167,225}

Kombiniert man nun die verschiedenen Laborwertveränderungen von Patienten mit IMHA, so ergeben sich als wichtigste Merkmale der Immunhämolyse eine persistierende Autoagglutination, eine ausgeprägte Sphärozytose sowie ein positives Resultat im DAT. Im Umkehrschluss muss zur Diagnosestellung mindestens eine dieser Veränderungen vorliegen.^{25,60,62–64,70,83,88,89,105,129,134,142,173,196,215,218,221} Darüber hinaus gehören zu den Einschlusskriterien aller Studien das Vorhandensein einer (regenerativen) Anämie sowie in einigen Fallserien zusätzlich labordiagnostisch erfassbare Anzeichen einer Hämolyse (Hyperbilirubinämie, Hämoglobinämie, Bilirubinurie oder Hämoglobinurie).^{7,48,99,107,134,138,171,215}

Kann anhand der beschriebenen labordiagnostischen Methoden schließlich die Diagnose einer IMHA gestellt werden, so sind zur Unterscheidung zwischen primärer und sekundärer IMHA im Anschluss weiterführende Untersuchungen, wie z.B. Bluttests auf mögliche Infektionserreger (Anaplasmen, Babesien, Ehrlichien, Leishmanien etc.), bildgebende Verfahren (Röntgen, Ultraschall), zytologische Untersuchungen von Proben veränderter Organe etc. notwendig. Die Indikationen für die jeweiligen Tests ergeben sich im Einzelfall aus Signalement und Anamnese, den Befunden der klinischen Untersuchung sowie einem fehlenden Ansprechen auf eine bereits begonnene immunsuppressive Therapie.⁷ Die endgültige Diagnose einer pIMHA kann letztendlich erst dann gestellt werden, wenn keine auslösende Ursache für die bestehende immunvermittelte Anämie gefunden werden kann.

2.6 Therapie

Die Behandlung eines Patienten mit IMHA besteht neben der kausalen Therapie in einer symptomatischen sowie antithrombotischen Therapie zur Prophylaxe thrombembolischer Komplikationen.

Während im Fall einer sIMHA die Behandlung der Grunderkrankung die kausale Therapie darstellt, ist bei Hunden mit pIMHA der Einsatz immunsuppressiver bzw. immunmodulatorischer oder zytotoxischer Medikamente zur Bekämpfung der bestehenden Autoimmunreaktion indiziert. Häufig ist allerdings auch bei Patienten mit sIMHA eine zusätzliche immunsuppressive Therapie notwendig.⁶² Ist die zugrunde liegende Erkrankung schließlich unter Kontrolle, kann eine Dosisreduktion der eingesetzten Immunsuppressiva deutlich schneller erfolgen als bei Patienten mit pIMHA.⁶²

Bevor mit einer medikamentösen Therapie begonnen wird, sollten vorerst die Indikation einer eventuell bereits bestehenden Medikation überprüft, und unnötige Medikamente – insbesondere potentielle Auslöser einer sIMHA – abgesetzt werden.¹⁴⁰

Vor allem bei Patienten mit akuter Hämolyse ist eine schnelle Versorgung mit Infusionslösungen bzw. Blutprodukten angezeigt. Ziel ist es, die anämiebedingte

Gewebshypoxie zu beheben, den Säure-Basen-Haushalt auszugleichen und den Hydratationsstatus zu normalisieren⁸. Über eine Verbesserung der Perfusion und Steigerung der Diurese durch eine intravenöse Flüssigkeitstherapie soll außerdem bei Patienten mit massiver intravasaler Hämolyse einer Hämoglobin-induzierten Nierenschädigung vorgebeugt werden.¹³⁶

Die Entscheidung über die Notwendigkeit einer Bluttransfusion erfolgt in Abhängigkeit der bestehenden Laborwertveränderungen sowie des klinischen Bildes. Engmaschige Kontrollen des Hämatokrits sind vor allem bei Patienten mit schwerer Hämolyse sinnvoll. Nur so kann ein Abfall der Erythrozyten frühzeitig erkannt, und der gesamte Krankheitsverlauf besser eingeschätzt werden.¹³⁶ Eine absolute Indikation zur Verabreichung von Blutprodukten besteht dann, wenn der erkrankte Hund bereits deutliche Symptome einer Anämie, wie eine Tachykardie bei gleichzeitig auffälligem Anämiepulss (klein, pochend), eine Tachypnoe oder Dyspnoe, eine generalisierte Schwäche bzw. Belastungsintoleranz sowie Arrhythmien zeigt.⁴² Hinsichtlich des zu wählenden Blutproduktes ist aufgrund des Mangels an Erythrozyten in den meisten Fällen ein Erythrozytenkonzentrat ausreichend. Bei labordiagnostischen Hinweisen auf eine Verbrauchskoagulopathie oder bei ausgeprägtem Blutverlust im Rahmen einer parallel bestehenden Thrombopenie kann in Einzelfällen auch die Übertragung von Vollblut oder Blutplasma sinnvoll sein.⁸ Eine Verbesserung der Inzidenz von Thrombembolien durch Erhöhung der Plasma-Antithrombin-Aktivität nach Verabreichung einer singulären Plasmatransfusion konnte in einer Fallserie mit 13 Hunden mit pIMHA allerdings nicht bewiesen werden.²⁰²

Das ausgewählte Blutprodukt sollte im Optimalfall der Blutgruppe des Empfängers entsprechen sowie im Vorfeld anhand eines Kreuztests auf seine Kompatibilität getestet worden sein. Können ein Blutgruppentest sowie die Kreuzprobe aufgrund persistierender Autoagglutination nicht durchgeführt werden, sollte der Patient DEA 1.1-negatives Blut erhalten.¹⁴⁰

Um Transfusionsreaktionen zu vermeiden, sollte die Transfusionsgeschwindigkeit in den ersten 30 Minuten nicht mehr als 0,5 - 1 ml/kg/h betragen. Treten in dieser Zeit keine Unverträglichkeitsreaktionen auf, so kann der Rest des Blutproduktes über insgesamt vier Stunden verabreicht werden. Bei Patienten mit kardiovaskulären

Erkrankungen sollte eine Transfusionsrate von 4 ml/kg/h hingegen nicht überschritten werden.¹³⁶ Der beschriebene Ziel-Hämatokrit post Transfusion sollte zwischen 25 und 30 % liegen, da bei Werten über 30 % die Gefahr einer Volumenüberladung sowie einer verminderten Regeneration besteht.⁸

Eine Alternative zu Blutprodukten stellen Hämoglobin-basierte Sauerstoffträger, wie z.B. Oxyglobin® dar. Hierbei handelt es sich um bovines, polymerisiertes Hämoglobin in einer modifizierten Ringer-Lösung.¹ Ziel der Therapie mit Oxyglobin® ist eine Erhöhung des Plasma-Hämoglobinspiegels und somit eine Verbesserung der Sauerstofftransportkapazität. Aufgrund der hohen Osmolalität der Lösung führt Oxyglobin® daneben auch zu einem Anstieg des kolloidosmotischen Drucks. Unerwünschte Nebenwirkungen sind somit in erster Linie eine Volumenüberladung mit Entwicklung eines Lungenödems. Daneben kann es – dosisabhängig – zur Ausprägung einer Pigmenturie sowie zur gelblich/orangen Verfärbung von Haut, Schleimhäuten und Skleren kommen.¹ Die Dosierung für Oxyglobin® beträgt 10-30 ml/kg in einer Infusionsrate von 1 - 3 ml/kg/h (maximale Infusionsgeschwindigkeit: 10 ml/kg/h). Während der Infusion sollten die Patienten engmaschig überwacht werden, um eine mögliche Kreislaufüberladung frühzeitig detektieren zu können.¹

In ihrer Studie aus dem Jahr 2001 konnten Grundy et al. eine Mortalität von 100 % nach Verabreichung einer bovinen Hämoglobin-Lösung bei Hunden mit pIMHA feststellen. Der genaue Zusammenhang zwischen der Therapie mit bovinem Hämoglobin und dem Versterben der Patienten konnte hier allerdings nicht geklärt werden.⁷⁰ Eine weitere Fallserie zur Anwendung von Oxyglobin® bei Hunden mit pIMHA (n=2) konnten auch nach mehrmaliger Transfusion bis auf eine Verfärbung des Urins keine klinisch relevanten Nebenwirkungen feststellen.⁴²

Bezüglich der zu verwendenden Venenverweilkatheter für die intravenöse Infusions- bzw. Transfusionstherapie, ergeht der Rat zum Einsatz peripherer Venenkatheter mit kleinstmöglichem Durchmesser, um das Risiko von Thrombembolien zu minimieren.¹³¹ Des Weiteren sollte im Umgang mit dem Patienten – vor allem bei Manipulation im Bereich des venösen Zugangs – auf strikte Hygiene (u.a. Verwendung von Handschuhen etc.) geachtet werden.¹³⁶ In einer Studie von Klein et al. konnte gezeigt werden, dass das Auftreten pulmonaler Thrombembolien bei Patienten mit IMHA u.a. mit der Anzahl der Venenverweilkatheter während des

stationären Aufenthaltes korrelierte.¹⁰⁸ Die Pflege sowie tägliche Kontrollen der Venenverweilkatheter sind daher obligat.

Neben der Normalisierung des Flüssigkeitshaushaltes gehört zur symptomatischen Therapie einer IMHA außerdem der Einsatz gastroprotektiver Medikamente. Durch die herabgesetzte Perfusion und die anämiebedingte Hypoxie besteht die Gefahr von Magen-Darm-Ulzera. Der Einsatz von Glucocorticoiden oder Chemotherapeutika stellt diesbezüglich einen weiteren Risikofaktor dar.¹³¹ Knapp $\frac{1}{3}$ der Hunde zeigt außerdem bereits bei Vorstellung Erbrechen.^{124,162,164} Häufig verwendete Präparate zur Ulkus-Prophylaxe sind neben Protonen-Pumpen-Inhibitoren (z.B. Omeprazol, Pantoprazol) H₂-Blocker (z.B. Ranitidin, Cimetidin, Famotidin) oder auch Prostaglandinanaloga (z.B. Misoprostol). Bei Patienten mit Erbrechen sollten darüber hinaus Schleimhautprotektiva wie z.B. Sucralfat sowie Antiemetika (z.B. Maropitant oder Metoclopramid) eingesetzt werden.^{131,136}

Zum Einsatz von Antibiotika bei Patienten mit IMHA werden unterschiedliche Angaben gemacht. Während die meisten Autoren eine antibiotische Therapie nur bei Verdacht einer bakteriellen Infektionen oder einer vektorübertragenen Infektionserkrankung aufgrund einer entsprechenden (Auslands-)Anamnese empfehlen,^{131,140} ergeht an anderer Stelle aufgrund möglicher okkulten Infektionen, der krankheitsbedingten Dysregulation des Immunsystems sowie der therapiebedingten Immunsuppression grundsätzlich der Rat zur antibiotischen Abdeckung betroffener Tiere.⁶² Generell sollten Patienten mit IMHA regelmäßig sowohl klinisch als auch labordiagnostisch auf Sepsisanzeichen überprüft werden, um im Fall einer (Sekundär-)Infektion ein schnelles therapeutisches Eingreifen zu ermöglichen.¹³⁶

Da die IMHA genau wie andere immunvermittelte Erkrankungen, Neoplasien, Herzerkrankungen, systemische Entzündungen bzw. Septikämien, Proteinverlust-Nephro- oder Enteropathien sowie Infektionserkrankungen ein hohes thrombotisches Risiko birgt,¹¹³ ist eine frühzeitige antithrombotische Therapie unerlässlich. Johnson et al. konnten diesbezüglich sogar zeigen, dass die relative Inzidenz bezüglich der Entwicklung sekundärer pulmonaler Thrombembolien (PTE) bei der IMHA im Vergleich zu anderen Erkrankungen am höchsten ist. Als mögliche externe Faktoren, die das Risiko pulmonaler Thrombembolien unabhängig von der

bestehenden Grunderkrankung zusätzlich erhöhen, konnten in dieser Studie neben Venenverweilkathetern an erster Stelle (77 %) eine exogene Glucocorticoidgabe (48%), der Einsatz zytotoxischer Medikamente (38 %), chirurgische Eingriffe (21%) sowie die Verabreichung von Bluttransfusionen (10 %) herausgearbeitet werden – Faktoren, die größtenteils auch bei der Behandlung der IMHA eine Rolle spielen.⁹³

Daneben wurde in verschiedenen Publikationen deutlich, dass die betroffenen Tiere in vielen Fällen keine klinischen Symptome aufweisen, und das Auftreten von (pulmonalen) Thrombembolien somit unterschätzt wird. So konnten in einer Studie bei 80 % der obduzierten Hunde mit pIMHA Thrombembolien in verschiedenen Organen diagnostiziert werden, während antemortem lediglich bei 28 % ein klinischer Verdacht bestand.²⁵ In einer anderen Fallserie zur PTE bei Hunden mit verschiedenen Erkrankungen wiesen 38 % der Patienten eine entsprechende klinische Symptomatik auf. In der Sektion konnten allerdings bei 86 % der Studienpopulation pulmonale Thromben detektiert werden.⁹³ Anhand dieser Ergebnisse wird die Notwendigkeit einer prophylaktischen antithrombotischen Therapie bei Hunden mit IMHA deutlich.

Ursachen für die mit der IMHA assoziierte Hyperkoagulabilität sind eine erhöhte Aktivität prokoagulatorischer Faktoren (z.B. TF), eine verminderte Konzentration endogener Antikoagulantien (z.B. Antithrombin), eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung sowie eine Störung der Fibrinolyse.^{113,184} Vor allem bei Hunden mit gleichzeitiger Thrombopenie konnte eine verstärkte Thrombozytenaktivierung mittels Vollblut-Durchflusszytometrie festgestellt werden.¹⁷³ Eine weitere Studie zur Detektion aktivierter Thrombozyten mittels Bestimmung der Expression von P-Selektin bei Hunden mit pIMHA konnte bei 75 % aller Patienten erhöhte P-Selektin-Werte und somit ein aktiviertes Stadium nachweisen.²¹⁸ Daneben zeigten die Thrombozyten von Patienten mit pIMHA im Vergleich zu gesunden Tieren außerdem eine Hyperreaktivität nach Inkubation mit Phorbol-Myristat-Acetat (PMA), was wiederum zum prothrombotischen Zustand der IMHA beiträgt.²¹⁸

Die Tatsache, dass sowohl Störungen der primären als auch der sekundären Hämostase bei der Thromboseentstehung im Rahmen der IMHA eine Rolle spielen, zeigt, dass somit auch zwei therapeutische Ansatzpunkte zur Thromboseprophylaxe existieren. Neben Antikoagulantien (Vitamin-K-Antagonisten, Heparin) kommen

Thrombozyten(aggregations)-hemmer (ADP-Rezeptor-Antagonisten, Cyclooxygenasehemmer) zum Einsatz. Da es im Verlauf einer IMHA sowohl zur Entstehung thrombozytenreicher, arterieller Thromben (rote Thromben) als auch zur Bildung fibrinreicher, venöser Thromben (weiße Thromben) kommen kann, erscheint eine kombinierte antithrombotische Therapie sinnvoll.^{103,122} Eine Übersicht über die verschiedenen Medikamente, welche beim Hund zur Anwendung kommen, gibt Tabelle 2.

	Medikament	Wirkung	Dosierung
1. Thrombozyten-antagonisten	Acetylsalicylsäure	<ul style="list-style-type: none"> • Hemmung der Thrombozytenaktivierung über Hemmung der Cyclooxygenase-1 und somit der Synthese von Thromboxan A₂ 	1x tgl. 0,5 mg/kg p.o.
	Clopidogrel	<ul style="list-style-type: none"> • Hemmung der Thrombozytenaggregation über irreversible Hemmung des ADP-Rezeptors P2Y • „Prodrug“: Aktivierung über Cytochrom P-450 • Weitere antithrombotische Effekte über: <ul style="list-style-type: none"> - Reduktion an zirkulierendem Fibrinogen - Hemmung der Erythrozyten-Aggregation - Steigerung der Produktion von Stickstoffmonoxid (NO) - Reduktion der Expression von Tissue-Faktor - Hemmung der Fibronektin-Synthese 	Ladedosis Tag 1: 1x tgl. 10 mg/kg p.o. Erhaltungsdosis: 1x tgl. 2 - 3 mg/kg p.o.

	Medikament	Wirkung	Dosierung
2. Antikoagulantien	Unfraktioniertes Heparin	<ul style="list-style-type: none"> • Inaktivierung von Thrombin sowie Faktor Xa über Verstärkung der Wirkung von Antithrombin • Freisetzung von Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) • Komplementhemmung • LMWH: v.a. Inhibition von Faktor Xa über Antithrombin 	3 - 4x tgl. 150 - 300 U/kg s.c. alternativ: individuell angepasste Therapie über Kontrolle von Anti-Faktor-Xa (Ziel: 0,35-0,7U/ml)
	Low-molecular weight-heparin (LMWH)		Enoxaparin: 2 - 3x tgl. 1 mg/kg s.c. oder 4x tgl. 0,8 mg/kg Dalteparin: 2x tgl. 150 U/kg s.c. alternativ: individuell angepasste Therapie über Kontrolle von Anti-Faktor-Xa (Ziel: 0,35 - 0,7 U/ml)
	Warfarin	<ul style="list-style-type: none"> • Hemmung der Aktivierung der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren (Faktor X, IX, VII, II) über Hemmung des Enzyms Vitamin-K-Epoxid-Reduktase 	0,05 - 0,2 mg/kg/d p.o.

Tabelle 2: Medikamente zur antithrombotischen Therapie bei Hunden mit IMHA^{21,47,83,103,121,122,134,215,226}

Beschriebene Nebenwirkungen einer antithrombotischen Therapie mit den genannten Medikamenten sind neben Blutungen (schwerwiegend bis fatal bei Warfarin), Thrombozytopenien (Heparin), gastrointestinale Symptome (Clopidogrel, Acetylsalicylsäure) sowie das Auftreten einer aplastischen Anämie (Clopidogrel).¹⁸⁶

Bezüglich des Einsatzes von Thrombozytenaggregationshemmern konnten Mellet et al. zeigen, dass eine kombinierte Therapie mit Clopidogrel und Aspirin (Ultra-Low-

Dose-Aspirin) im Vergleich zur Monotherapie mit Clopidogrel oder Aspirin im Hinblick auf das Kurzzeitüberleben keine Vorteile bringt. Alle drei Patientengruppen zeigten ein vergleichbares Outcome.¹³⁴

Beim Einsatz von unfraktioniertem Heparin zur Thromboseprophylaxe wird in mehreren Studien die Verwendung einer individuell angepassten Heparin-Dosierung propagiert.^{21,83} Die Kontrolle der Therapieeinstellung erfolgt hierbei über die regelmäßige Bestimmung von Anti-Faktor-Xa, welcher bei 0,35 - 0,7 U/ml liegen sollte.^{21,83} Helmond et al. konnten in ihrer prospektiven Studie bessere Überlebenszeiten sowie geringere Komplikationsraten in der Gruppe der individuell eingestellten Patienten (150 - 712 U/kg Heparin alle 6-8h) im Vergleich zu den Patienten mit einer konstanten Heparin-Dosierung (150 U/kg Heparin alle 6-8h) zeigen. Kritisch zu bewerten ist hierbei allerdings die niedrige Fallzahl der Studie (n=15).⁸³

Aufgrund der Möglichkeit thrombembolischer Komplikationen auch nach Normalisierung des Hämatokrits bei Patienten mit IMHA sollte die antithrombotische Therapie generell als Langzeittherapie erfolgen.²¹

Letztendlich besteht auf dem Gebiet der Thromboseprophylaxe in der Tiermedizin weiterhin großer Forschungsbedarf. Zukünftig werden daher neue Medikamente mit alternativen Ansatzpunkten, wie z.B. $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Rezeptor-Antagonisten (Hemmung der Thrombozytenaktivierung über Blockade des $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Rezeptors), wie Abciximab, Eptifibatid oder Tirofiban, welche sich bereits in experimentellen Studien bewährt haben, eine Rolle spielen.¹⁸⁶

Zur kausalen Therapie der pIMHA stehen verschiedene immunsuppressive bzw. immunmodulatorische sowie zytotoxische Medikamente zur Verfügung, welche in Tabelle 3 zusammengefasst sind. Obligat ist der Einsatz von Glucocorticoiden (First-Line-Therapie), welche neben ihrer entzündungshemmenden Wirkung über eine Downregulation der Fc-Rezeptor-Expression auf Makrophagen eine sofortige Hemmung der Phagozytose opsonierter Erythrozyten bewirken. Eine tatsächliche Hemmung der Immunglobulin-Produktion ist erst ca. 14 Tage nach Therapiebeginn zu erwarten.^{3,131,140,223} Bei schwerer intravasaler Hämolyse, fehlendem Ansprechen auf die alleinige Therapie mit Glucocorticoiden oder aregenerativer IMHA sollte eine Kombinationstherapie mit anderen Immunsuppressiva oder zytotoxischen Präparaten

erfolgen.^{40,41,136,140} Darüber hinaus ist eine frühzeitige kombinierte Therapie auch dann indiziert, wenn im Rahmen der Glucocorticoid-Therapie massive Nebenwirkungen auftreten.⁸

Swann et al. konnten in ihrer retrospektiven Studie einen Zusammenhang zwischen dem gewählten Therapieregime und der Mortalität der erkrankten Hunde aufzeigen. Tiere, die eine Kombinationstherapie aus Prednisolon und Ciclosporin erhielten zeigten ein deutlich kürzeres Überleben als Patienten, die mit Prednisolon und Azathioprin behandelt wurden oder eine Prednisolon-Monotherapie erhielten.¹⁹⁶ Aufgrund der niedrigen Fallzahl (n=42) sowie der retrospektiven Datenauswertung sind die Resultate dieser Studie allerdings unter Vorbehalt zu interpretieren.

Eine weitere prospektive randomisierte Doppelblindstudie (n=38) konnte ebenfalls keinen signifikanten Unterschied bezüglich des Überlebens bei additiver Therapie mit Ciclosporin im Vergleich zur Monotherapie mit Prednisolon bei Hunden mit pIMHA feststellen.⁸⁷

In einer retrospektiven Studie aus dem Jahr 2011 ergab sich keine Verbesserung des Krankheitsverlaufes nach zusätzlichem Einsatz von Azathioprin im Vergleich zur ausschließlichen Behandlung mit Prednisolon.¹⁶⁴ Allerdings wiesen die Patienten, welche eine kombinierte Therapie aus Prednisolon und Azathioprin erhielten im Vergleich signifikant niedrigere Thrombozytenzahlen (negativer prognostischer Parameter) auf und zeigten zudem eine längere Krankheitsgeschichte. In anderen Studien korrelierte der additive Einsatz von Azathioprin hingegen mit einem guten Outcome.^{4,22,171,196}

Bezüglich des Einsatzes von Cyclophosphamid zur Therapie der pIMHA des Hundes zeigte eine Studie von Mason et al., dass eine Kombinationstherapie keinerlei Vorteile gegenüber der Monotherapie mit Prednisolon bietet.¹²⁴ Darüber hinaus konnten Grundy et al. sogar ein signifikant erhöhtes Mortalitätsrisiko nach Verabreichung von Cyclophosphamid feststellen.⁷⁰ Eine Experimentalstudie zum Einsatz von Cyclophosphamid bei allergischem Asthma bei Mäusen ergab außerdem eine Zunahme der Entzündungsreaktion (vermehrte IgE- und Zytokinproduktion) sowie eine Verstärkung der Immunreaktion durch eine erhöhte Zytotoxizität gegenüber regulatorischen T-Zellen.¹⁹⁵ Aufgrund dieser Studienergebnisse sowie der

z.T. schweren Nebenwirkungen des Medikaments wird von einem Einsatz von Cyclophosphamid zur Behandlung der pIMHA mittlerweile abgesehen.

Ein weiteres Immunsuppressivum, welches immer häufiger bei Hunden mit Immunerkrankungen zum Einsatz kommt, ist Mycophenolat-Mofetil. Eine retrospektive Studie zum Einsatz von Mycophenolat-Mofetil in Kombination mit Glucocorticoiden bei Hunden mit pIMHA ergab keinen Unterschied im Hinblick auf das Kurzzeitüberleben im Vergleich zur Therapie mit Glucocorticoiden und anderen Immunsuppressiva wie z.B. Ciclosporin, oder Azathioprin.²¹⁰ Die Vorteile von Mycophenolat-Mofetil im Vergleich zu den genannten Medikamenten sehen die Autoren allerdings in seiner oralen und parenteralen Verfügbarkeit, seinem schnellen Wirkungseintritt, der Bezahlbarkeit des Präparates sowie den geringen Nebenwirkungen. So wiesen Patienten unter Therapie mit Mycophenolat-Mofetil lediglich milde, vorübergehende Durchfälle auf.²¹⁰ West et al. konnten in ihrer prospektiven Studie zur Anwendung von Mycophenolat-Mofetil bei fünf Hunden mit pIMHA allerdings zeigen, dass die beschriebenen gastrointestinalen Nebenwirkungen sehr schwerwiegend sein können, weshalb die in der Studie angewandte Dosierung von 3x tgl. 10 – 15 mg/kg nicht empfohlen wird.²²⁰ Wang et al. hingegen beschreiben eine Dosierung von 2x tgl. 10 mg/kg als gut verträglich.²¹⁰

Im Hinblick auf die verschiedenen Kombinationsmöglichkeiten der zur Verfügung stehenden Medikamente kann trotz zahlreicher, größtenteils retrospektiver Studien mit eingeschränkter Fallzahl keine allgemeine Therapieempfehlung ausgesprochen werden. Insgesamt erscheint eine Monotherapie mit Prednisolon bei einer Vielzahl der Patienten auszureichen, wobei eine Dosierung von 4 mg/kg/Tag aufgrund der medikamentösen Nebenwirkungen sowie fehlender Verbesserung des Kurz- und Langzeitüberlebens bei höherer Dosierung nicht überschritten werden sollte.¹⁹⁷ Aufgrund fehlender Daten bezüglich des Langzeitüberlebens sowie eventueller Rückfälle stellt sich hier allerdings die Frage, ob eine dauerhafte Remission mittels ausschließlicher Prednisolon-Monotherapie zu erreichen ist. Darüber hinaus existieren zu den neueren Medikamenten, wie z.B. Mycophenolat-Mofetil noch keine umfassenden Studien, was eine qualitative Bewertung der Verwendung dieser Präparate im Rahmen einer IMHA erschwert.

Eine weitere kausale Therapiemöglichkeit der IMHA besteht in der intravenösen Verabreichung von humanem Immunglobulin G (hIVIG), welches aus aufgereinigtem Plasma von ca. 3000 bis 10.000 gesunden Spendern (teilweise bis zu 100.000) hergestellt wird und polyspezifisches IgG enthält.^{97,178} In der Humanmedizin wird hIVIG seit mehr als 25 Jahren erfolgreich zur Therapie verschiedener (Auto-)Immunerkrankungen eingesetzt, da es zahlreiche immunmodulatorische Wirkungen besitzt. Neben einer Blockade der Fc-Rezeptoren auf Makrophagen sowie einer Inaktivierung zirkulierender Autoantikörper mit folglich Minderung der Opsonierung und Erythrophagozytose kommt es durch die Bindung von Komplementfaktoren (C3b und C4b) zur Hemmung der Komplementaktivierung. Darüber hinaus besitzt hIVIG über die Regulation der Bildung von Zytokinen und Zytokinantagonisten einen entzündungshemmenden Effekt und beeinflusst gleichzeitig die B- und T-Zellaktivierung sowie die Produktion von (Auto-)Antikörpern.^{97,147} In einer Studie von Reagan et al. konnte die Bindung von hIVIG an den Fc-Rezeptor mit folglich verminderter Phagozytose opsonierter Erythrozyten auch bei caninen Monozyten nachgewiesen werden.¹⁶⁹

Zum Einsatz von hIVIG bei Hunden mit IMHA existieren nur wenige, größtenteils retrospektive Studien mit meist kleiner Fallzahl (n=9-14).^{60,70,99,176,180,221,222} Während einige Autoren hIVIG als Therapieoption zur Behandlung therapieresistenter Fälle (ausbleibendes Ansprechen nach 7 Tagen)⁹⁹ oder aregenerativer Formen der IMHA¹⁷⁹ bzw. zur initialen Stabilisation bis zum Wirkungseintritt der eingesetzten Immunsuppressiva empfehlen¹⁸⁰, ergab eine prospektive Studie von Whelan et al. keine statistisch signifikanten Unterschiede im Hinblick auf das Überleben, das initiale Ansprechen auf die begonnene Therapie im Sinne eines Hämatokrit-Anstiegs sowie die Dauer des stationären Aufenthaltes im Vergleich zur Placebogruppe.²²¹ Ebenfalls keine Verbesserung der Überlebensrate nach Transfusion von hIVIG ergab eine weitere retrospektive Studie von Gerber et al. Allerdings zeigte sich in der Auswertung der Studienergebnisse, dass lediglich schwer erkrankte Hunde mit hIVIG therapiert wurden, weshalb die Wirkung von hIVIG bei Hunden mit IMHA insgesamt als positiv bewertet wurde.⁶⁰

Neben den immens hohen Kosten, die eine Transfusion von hIVIG verursacht, sowie den ethischen Aspekten (Einsatz eines humanmedizinischen Blutproduktes beim

Tier) müssen auch mögliche Nebenwirkungen in Betracht gezogen werden. Tsuchiya et al. konnten diesbezüglich nachweisen, dass der Einsatz von hIVIG beim Hund neben einer proinflammatorischen Wirkung auch einen hyperkoagulablen Zustand begünstigt, weshalb eine Therapie mit hIVIG bei Patienten mit prothrombotischen Erkrankungen wie der IMHA generell sehr kritisch zu bewerten ist.²⁰⁵ So entwickelten in einer Publikation zum Einsatz von hIVIG bei Hunden mit IMHA 6/10 Patienten nach Transfusion eine Thrombopenie. Bei 5/7 der verstorbenen Patienten konnten außerdem in der Obduktion Thrombembolien nachgewiesen werden, wobei über einen tatsächlichen Zusammenhang mit der vorangegangenen Verabreichung von hIVIG nur spekuliert werden kann.¹⁸⁰

Obwohl aufgrund der Gefahr von Hypersensitivitätsreaktionen von einem wiederholten Einsatz von hIVIG abgesehen werden sollte, konnten in mehreren Studien auch nach mehrfacher Gabe keine relevanten Nebenwirkungen beobachtet werden.^{179,222}

Wirkstoff	Stoffgruppe/ Wirkstoffklasse	Wirkungen	Nebenwirkungen	Dosierung
Glucocorticoide	Steroidhormon	<ul style="list-style-type: none"> • antiinflammatorische Wirkung (Membranstabilisation von Granulozyten, Mastzellen und Makrophagen, Hemmung der Phospholipase A₂ sowie der Zytokinfreisetzung (IL-1, IL-6)) • Downregulation der Fc-Rezeptor-Expression auf Makrophagen und somit Hemmung der Phagozytose opsonierter Erythrozyten (sofortige Wirkung) • Hemmung der Komplement-Aktivierung • Minderung der Immunglobulin-Produktion (ca. 14 Tage nach Therapiebeginn) 	<ul style="list-style-type: none"> • iatrogener Hyperadrenokortizismus • gastrointestinale Nebenwirkungen • Steroidhepatopathie • Pankreatitis • erhöhte Infektanfälligkeit • Sepsis • Thrombembolien 	<p>Prednisolon: Hd. < 6kg: 2x tgl. 2 mg/kg p.o. Hd. > 6kg: 2x tgl. 1,1 mg/kg p.o. oder 2x tgl. 30 mg/m² p.o.</p> <p>Dexamethason: 0,25 - 0,5 mg/kg/Tag</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nach Stabilisation des Hkt.: Reduktion um 25 – 50 % alle 3 - 4 Wochen über ca. 3 Monate • Gesamtdauer der Therapie: mindestens 3 - 6 Monate

Wirkstoff	Stoffgruppe/ Wirkstoffklasse	Wirkungen	Nebenwirkungen	Dosierung
Azathioprin	Purinanalogon (Antimetabolit)	<ul style="list-style-type: none"> • Hemmung der Zellproliferation von B- und T-Lymphozyten über Blockade der DNA- und RNA-Synthese • Reduktion der Antikörper-Produktion • Hemmung der Makrophagen (Hemmung der Phagozytose sowie der Zytokinproduktion) 	<ul style="list-style-type: none"> • gastrointestinale Nebenwirkungen • Myelosuppression • akute Pankreatitis • cholestatische Hepatopathie • erhöhte Infektanfälligkeit 	<p>1x tgl. 2 mg/kg p.o. über 5 - 7 Tage, danach Reduktion auf: 2 mg/kg p.o. jeden zweiten Tag</p> <ul style="list-style-type: none"> • Immunsuppressive Wirkung erst 2 - 4 Wochen nach Therapiebeginn

Wirkstoff	Stoffgruppe/ Wirkstoffklasse	Wirkungen	Nebenwirkungen	Dosierung
Ciclosporin A	Calcineurin-Inhibitor (Substrat des Schlauchpilzes <i>Toypocladium inflatum</i>)	<ul style="list-style-type: none"> • Hemmung der Zytokinbildung (v.a. IL-2) sowie der Zytokin-vermittelten T-Zell-Aktivierung über Blockade der Transkription entsprechender Gene • Reduktion der Antikörper-Produktion • Hemmung der Phagozytose-Aktivität von Makrophagen über Hemmung der Bildung von Interferon-γ • Hemmung der Produktion von IL-3, IL-4, G-CSF und TNF-α und somit Beeinflussung der Aktivität von Granulozyten, Makrophagen, natürlichen Killerzellen, Eosinophilen und Mastzellen 	<ul style="list-style-type: none"> • gastrointestinale Nebenwirkungen • Gingivahyperplasie • Antibiotika-responsive Dermatitis • Papillomatose • erhöhte Infektanfälligkeit • Auftreten von Neoplasien (Lymphom, Plattenepithelkarzinom) • Haarleidveränderungen (Hirsutismus, Haarverlust) 	1x tgl. 5-10mg/kg p.o.

Wirkstoff	Stoffgruppe/ Wirkstoffklasse	Wirkungen	Nebenwirkungen	Dosierung
Cyclophosphamid	Alkylans (Zytostatikum)	<ul style="list-style-type: none"> Hemmung der Lymphozyten-Proliferation durch Quervernetzung von DNA Hemmung der zellulären und humoralen Abwehr sowie der Phagozytoseaktivität mononukleärer Zellen 	<ul style="list-style-type: none"> gastrointestinale Nebenwirkungen Myelosuppression sterile hämorrhagische Zystitis Auftreten von Neoplasien 	<p>einmalig 200 mg/m² p.o. oder 1x tgl. 50 mg/m² p.o. über 4 Tage, im Anschluss 3 Tage Pause,</p> <ul style="list-style-type: none"> Wiederholung der Therapie bis Hkt. signifikant ansteigt
Danazol	Testosteron-Derivat (Antigonadotropin)	<ul style="list-style-type: none"> Hemmung der Erythropoese über Downregulation der Fc-Rezeptoren auf Makrophagen Reduktion der Antikörper-Produktion Reduktion der Opsonierung von Erythrozyten Stabilisation der Erythrozytenmembran 	<ul style="list-style-type: none"> Hepatotoxizität Gewichtszunahme 	<p>1x tgl. 10 - 15 mg/kg p.o. oder 2x tgl. 5 mg/kg p.o. oder 3x tgl. 4 mg/kg p.o.</p> <ul style="list-style-type: none"> Dauer bis Wirkungseintritt: bis zu 3 Wochen

Wirkstoff	Stoffgruppe/ Wirkstoffklasse	Wirkungen	Nebenwirkungen	Dosierung
Leflunomid	Isoxazolderivat (Immun- suppressivum)	<ul style="list-style-type: none"> Hemmung der T- und B-Zell-Proliferation über Hemmung Pyrimidin-Synthese Reduktion der Antikörper-Produktion Hemmung proinflammatorischer Zytokine (IL-1, TNF-α) Steigerung der Bildung von TGF-β (antiinflammatorisch) 	<ul style="list-style-type: none"> gastrointestinale Nebenwirkungen Apathie geringgradige Anämie (Hepato- und Myelotoxizität) 	1x tgl. 4 mg/kg p.o. (Ziel: Plasmaspiegel = 20 μ g/ml)
Mycophenolat-Mofetil	Fermentationsprodukt aus <i>Penicillium spp.</i> (Immun- suppressivum)	<ul style="list-style-type: none"> Selektive Hemmung der Lymphozyten-Proliferation über Hemmung der Purin-Biosynthese Reduktion der Antikörper-Produktion 	<ul style="list-style-type: none"> gastrointestinale Nebenwirkungen milde allergische Reaktionen bei parenteraler Applikation möglich 	20 - 40 mg/kg/Tag p.o. auf 2-3 Gaben verteilt <ul style="list-style-type: none"> schneller Wirkungseintritt bei parenteraler Gabe (2 - 4h)
Clodronat	Bisphosphonat	<ul style="list-style-type: none"> Apoptose von Makrophagen und dendritischen Zellen nach Phagozytose von liposomalem Clodronat 	<ul style="list-style-type: none"> in experimentellen Studien i.v.-Gabe komplikationslos 	Keine Angaben

Wirkstoff	Stoffgruppe/ Wirkstoffklasse	Wirkungen	Nebenwirkungen	Dosierung
Humanes Immunglobulin	aus humanem Plasma gewonnenes IgG	<ul style="list-style-type: none"> Hemmung der Antikörper- vermittelten Phagozytose von Erythrozyten über Blockade der Fc-Rezeptoren auf Makrophagen Hemmung der Autoantikörper- Produktion sowie der Komplement-Aktivierung 	<ul style="list-style-type: none"> anaphylaktische Reaktionen bei wiederholten Gaben Hyperkoagulabilität 	0,5 - 2,0 g/kg i.v. aufgeteilt auf 2 Gaben an 2 aufeinander- folgenden Tagen über je 6 - 12h

Tabelle 3: Immunsuppressive bzw. immunmodulatorische sowie zytotoxische Medikamente zur Therapie der pIMHA des Hundes^{3,46,131,140,223}

Neben der beschriebenen medikamentösen Therapie existieren weitere Therapiemaßnahmen, welche in der Behandlung von Patienten mit IMHA in seltenen Fällen unterstützend angewandt werden.

Aufgrund der Bedeutung der Milz als Ort der Produktion von Autoantikörpern sowie der Erythrophagozytose opsonierter Erythrozyten wird die Splenektomie in der Humanmedizin als therapeutische Alternative zur Behandlung refraktärer Fälle mit autoimmunhämolytischer Anämie vom Wärmetyp oder bei betroffenen Patienten mit Glucocorticoid-Unverträglichkeit empfohlen.^{90,114} In ca. 20 % der Fälle kann mit ihrer Hilfe sogar eine vollständige Heilung der Erkrankung erzielt werden.¹¹⁴

Auch beim Hund existieren Fallserien zur Splenektomie bei Patienten mit IMHA,^{53,86,204} immunmediierter Thrombopenie (IMT) oder Evans Syndrom.⁵³ So zeigten in einer Studie mit 9 therapieresistenten Fällen (jeweils 3 Tiere mit IMHA, IMT sowie Evans Syndrom) alle Hunde postoperativ eine deutliche Besserung der klinischen Symptomatik sowie eine variable Verbesserung der Laborbefunde. 89 % der splenektomierten Hunde benötigten im Anschluss außerdem keine oder lediglich eine reduzierte medikamentöse Therapie. Darüber hinaus konnte ein positiver Effekt auf Morbidität und Mortalität nachgewiesen werden. 12 Monate nach dem Eingriff lag die Überlebensrate bei 100 %.⁵³

Eine weitere retrospektive Studie zur Splenektomie bei Hunden (n=10) mit IMHA ergab einen schnellen Hämatokritanstieg sowie eine deutliche Reduktion benötigter Bluttransfusionen im Anschluss an die Operation. Die 30-Tage-Überlebensrate lag hier bei 90 %, wobei keiner der Patienten innerhalb dieses Zeitraumes einen Rückfall zeigte. Bei 4/9 Hunden war 30 Tage nach Splenektomie zudem keine immunsuppressive Therapie mehr notwendig. Postoperative Komplikationen, wie z.B. eine klinisch manifeste Infektion mit *Mycoplasma haemocanis* aufgrund einer infolge der Splenektomie eingeschränkten Immunkompetenz wurden nicht beobachtet.⁸⁶

In der einzigen prospektiven Studie zur Splenektomie bei Hunden mit pIMHA erfolgte die chirurgische Entfernung der Milz bei 10/12 Patienten innerhalb der ersten 48h nach Vorstellung. Im Vergleich zur ausschließlich medikamentös behandelten

Kontrollgruppe zeigten die Hunde mit zusätzlich durchgeführter Splenektomie längere Überlebenszeiten sowie eine schnellere Normalisierung des Hämatokrits.²⁰⁴

Insgesamt beurteilen alle der genannten Autoren die additive Splenektomie im Frühstadium einer IMHA als gute therapeutische Alternative bei schwer erkrankten, therapieresistenten Patienten mit hohem Bedarf an Bluttransfusionen.^{53,86,204}

Aufgrund des meist retrospektiven Charakters der zitierten Studien, der jeweils sehr kleinen Studienpopulation, häufig fehlender Kontrollgruppen sowie z.T. fehlender Angaben zum Langzeitüberleben der Tiere sind die Resultate dieser Untersuchungen allerdings nur eingeschränkt zu bewerten. Aus diesem Grund und wegen möglicher perioperativer Komplikationen wird die Splenektomie bei Hunden mit IMHA daher meist als ultima ratio bei schwer erkrankten, therapieresistenten Fällen betrachtet.⁴¹

Eine weitere Therapiemöglichkeit zur Minderung zirkulierender Autoantikörper im Rahmen einer IMHA besteht in der Durchführung einer Plasmapherese. Hierbei erfolgt nach Blutentnahme mittels spezieller Plasmapheresegeräte eine Trennung von Erythrozyten und Plasma mit anschließender Filtration des Plasmas zur Entfernung von Autoantikörpern sowie Immunkomplexen.¹³¹ Aufgrund seiner Pentamer-Struktur ist die Elimination von IgM hierbei besonders effektiv.¹³¹ Bereits gebundene Immunglobuline werden durch die Plasmapherese nicht beeinflusst.⁴¹

In einer Studie zur Plasmapherese bei zwei Hunden mit pIMHA konnte initial bei beiden Tieren eine kurzfristige Stabilisation mit Minderung der Hämolyse erreicht werden. Allerdings war die durchgeführte Therapie letztlich mitverantwortlich am Tod des einen Patienten.¹²⁷

Ein weiterer Fallbericht zur Durchführung der Plasmapherese aufgrund eines mangelhaften Ansprechens auf die konventionelle Kombinationstherapie mit Prednisolon und Ciclosporin bei einem siebenjährigen Malteser mit IMHA ergab eine deutliche Besserung der klinischen Symptomatik sowie einen messbaren Rückgang von IgG und IgM post Therapie. Aufgrund des massiven technischen und finanziellen Aufwandes dieser Methode sollte das Verfahren allerdings nur in Ausnahmefällen bei ausgewählten Patienten angewandt werden.³³

2.7 Prognose

Während die Prognose bei Patienten mit sIMHA in erster Linie von der Therapierbarkeit der Grunderkrankung abhängig ist, liegt die Mortalitätsrate bei Hunden mit pIMHA – je nach Studie ($n \geq 20$) – zwischen 21 % und 70 %.^{4,22,25,48,50,70,74,84,88,105,107,129,134,161,162,164,171,181,196,212,215,218,221} Ursächlich für die hohe Variabilität der beschriebenen Überlebenszeiten sind vor allem die von Studie zu Studie unterschiedlich festgelegten Kontrollzeitpunkte sowie die verschiedenen Therapieregime anzuführen. Darüber hinaus spielen im Einzelfall auch individuelle Besitzerentscheidungen (Euthanasie aus finanziellen Gründen, wegen vorsichtiger Prognose oder aufgrund einer anderen bestehenden Grunderkrankung) eine Rolle.¹²⁹

Zur Verbesserung der prognostischen Einschätzung von Patienten mit pIMHA wurden in der Vergangenheit in verschiedenen Publikationen sowohl klinische und labordiagnostische Parameter als auch äußere Faktoren im Hinblick auf ihre Korrelation mit der Überlebenszeit untersucht. Die beschriebenen negativen prognostischen Parameter sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Ein Review-Artikel aus dem Jahr 2015 ergab allerdings, dass allgemein gültige Aussagen zu prognostischen Faktoren bei Hunden mit pIMHA aufgrund einer fehlenden Standardisierung der verglichenen Studien, methodischer Unterschiede sowie fehlender externer Validation der Resultate schwierig sind.¹⁹⁸

Signalement	<ul style="list-style-type: none"> - männlich⁸⁸ - Gewicht > 12kg⁸⁸ - höheres Alter²¹⁵
Klinik	<ul style="list-style-type: none"> - Petechien¹⁶² - Ikterus^{48,84,162,164} - Tachypnoe²¹⁵ - Fieber¹⁶²

Äußere Faktoren	<ul style="list-style-type: none"> - Saisonalität: <ul style="list-style-type: none"> • April bis September⁸⁸ - Durchführung/Anzahl von Bluttransfusionen^{86,162}
Labordiagnostik	<ul style="list-style-type: none"> - Autoagglutination^{48,129,215} - Hämatokrit: <ul style="list-style-type: none"> • ausgeprägtere Anämie allgemein¹⁰⁷ • < 20 %⁸⁸ - Hämoglobinabfall im Verlauf⁶⁸ - Retikulozyten: <ul style="list-style-type: none"> • fehlende bis mäßige Retikulozytose (korrigierte Retikulozytenzahl $1,4 \pm 1,1$ %)¹⁰⁷ - Thrombozyten: <ul style="list-style-type: none"> • Thrombopenie allgemein^{25,68} • < $200 \times 10^9/l$^{86,88} • < $150 \times 10^9/l$²¹⁵ • < $50 \times 10^9/l$¹⁶² - Leukozyten: <ul style="list-style-type: none"> • Leukozytose allgemein⁸⁶ • Leukozytose > $60 \times 10^9/l$²² • Linksverschiebung¹⁶² • Linksverschiebung mit $\geq 3 \times 10^9/l$ stabkernigen neutrophilen Granulozyten²¹⁵ • Lymphopenie⁶⁸ • Monozytose¹⁶¹ • Anstieg im Verlauf⁶⁸ - Totalprotein: <ul style="list-style-type: none"> • Hypoproteinämie allgemein²¹⁵ • < 60 g/l⁸⁸ - Albumin: <ul style="list-style-type: none"> • Hypoalbuminämie allgemein²⁵ • < 30 g/l²¹⁵ • < 26 g/l⁸⁸ • < 22 g/l⁸⁶

Labordiagnostik	<ul style="list-style-type: none">- Harnstoff:<ul style="list-style-type: none">• Harnstoffhöhung allgemein^{84,164,196}• > 25 mg/dl⁸⁸• > 20 mg/dl¹⁶²• Anstieg im Verlauf⁶⁸- Kreatininerhöhung^{161,162}- Bilirubin:<ul style="list-style-type: none">• Hyperbilirubinämie allgemein^{48,74,84,171,196,221}• > 1,5 mg/dl²¹⁵• > 2 mg/dl⁸⁸• > 5 mg/dl²⁵• ≥ 10 mg/dl^{86,107,132}• Anstieg im Verlauf⁶⁸- Natrium:<ul style="list-style-type: none">• < 140 mmol/l⁸⁸- Kalium:<ul style="list-style-type: none">• < 3,5 mmol/l²¹⁵- PT:<ul style="list-style-type: none">• Verlängerung allgemein^{68,221}• > 9 sec.⁸⁸• > 10 sec.²²- aPTT:<ul style="list-style-type: none">• Verlängerung allgemein^{68,161,215}- TEG:<ul style="list-style-type: none">• Niedrige Maximalamplitude/relative Hypokoagulabilität/ Normokoagulabler Koagulationsindex^{64,184}- Fibrinogen:<ul style="list-style-type: none">• Erniedrigung allgemein⁶⁸- Antithrombin-Aktivität < 60 %¹¹²- FDPs:<ul style="list-style-type: none">• ≥10 µg/ml⁸⁸- AP-Erhöhung^{84,171}- ALT-Erhöhung^{68,215}- AST-Erhöhung⁶⁸- CK-Erhöhung > 250 U/l²¹⁵- Konzentration verschiedener Zytokine (IL-18, GM-CSF, MCP-1)¹⁰⁵
------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Labordiagnostik	<ul style="list-style-type: none"> - Blutgasanalyse: <ul style="list-style-type: none"> • erniedrigtes Bicarbonat⁸⁴ • erniedrigter Base-Excess⁸⁴ • persistierende Laktaterhöhung⁸⁴
------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Tabelle 4: Negative prognostische Faktoren bei Hunden mit pIMHA

Während der Großteil der genannten negativen prognostischen Faktoren direkt mit der Ausprägung der Immunhämolyse korreliert (z.B. Ikterus, Verabreichung/Anzahl von Bluttransfusionen, Autoagglutination, Grad der Anämie, Hämoglobinabfall im Verlauf, Hyperbilirubinämie etc.), stellen andere (Labor)-Parameter ein Maß für den Schweregrad der bestehenden Entzündungsreaktion dar (z.B. Fieber, Leukozytose ± Linksverschiebung, Hypoalbuminämie etc.), oder können als Ausdruck einer hypoxisch oder thrombembolisch bedingten Organschädigung interpretiert werden (z.B. Kreatininerhöhung, Harnstoffserumkonzentrationserhöhung, Leberenzymwerterhöhung etc.). Hinweise auf eine Störung der primären und/oder sekundären Hämostase (z.B. Petechien, Thrombopenie, Verlängerung der Gerinnungszeiten etc.) werden darüber hinaus häufig in Zusammenhang mit Thrombembolien oder einer DIC beobachtet, was sie zu negativen prognostischen Faktoren macht. Auch eine Hypokaliämie kann über eine Vasokonstriktion das Risiko thrombembolischer Komplikationen erhöhen, was ihre Einschätzung als negatives Prognostikum erklärt.²¹⁵ Da das Auftreten (pulmonaler) Thrombembolien die häufigste Komplikation mit Todesfolge in Zusammenhang mit einer IMHA darstellt, haben verschiedene Autoren zusätzlich Faktoren herausgearbeitet, die mit einer signifikant höheren Inzidenz (pulmonaler) Thrombembolien korrelieren. Hierzu gehören neben einer initial bestehenden Hyperbilirubinämie^{25,108} das Vorliegen einer schweren Thrombozytopenie,²⁵ einer Hypoalbuminämie²⁵ sowie die Verwendung von bzw. Anzahl an Venenverweilkathetern.¹⁰⁸

Ursächlich für die Erhöhung der Kreatinkinase als negatives prognostisches Kriterium bei Hunden mit pIMHA werden die krankheitsbedingte Hypoxie, das vermehrte Liegen der Patienten, eine erhöhte Zellpermeabilität sowie Muskelschäden (z.B. infolge einer Mangelperfusion, durch Thrombembolien, infolge

wiederholter Applikation von Venenverweilkathetern oder nach Injektionen) angeführt.²¹⁵

Die mit dem Signalement assoziierten negativen prognostischen Parameter (Geschlecht, Alter, Gewicht) waren nur in jeweils einer Studie statistisch signifikant und sind somit unter Vorbehalt zu interpretieren.

Neben den genannten negativen prognostischen Faktoren entwickelten Ishihara et al. ein Punktesystem zur Einschätzung des klinischen Verlaufes.⁸⁹ Prognostische Faktoren, die in diesem Bewertungssystem kombiniert wurden, sind das Geschlecht des Patienten, der Zeitpunkt der Vorstellung (Saisonalität), der initiale Hämatokrit, die Thrombozytenzahl sowie das Gesamteiweiß. Die schlechteste Prognose mit insgesamt 5 Punkten erhielten anhand dieses Schemas männliche Hunde, die in einer warmen Jahreszeit (April bis September) vorgestellt wurden und einen Hämatokrit < 20 %, eine Thrombopenie < 200 x 10⁹/l sowie ein Totalprotein < 60 g/l aufwiesen. Als Ursache der schlechteren Prognose beim Auftreten einer pIMHA in einer wärmeren Jahreszeit führten die Autoren eine temperaturbedingte Verstärkung der bestehenden Dehydratation sowie Hyperpnoe mit folgender Verschlimmerung der anämiebedingten Hypoxie an.⁸⁸

Aufgrund des identischen Pathomechanismus sind die genannten negativen prognostischen Faktoren auch bei Patienten mit sIMHA zu berücksichtigen. Studien diesbezüglich liegen allerdings nicht vor. Hinsichtlich der Überlebensrate bei Hunden mit sIMHA waren in einer Studie nach 8-13 Wochen noch 4/7 Hunden (57 %) am Leben. Von diesen Hunden lag bei drei Tieren ursächlich eine Infektionserkrankung zugrunde, welche kausal therapiert wurde. Der vierte Hund entwickelte eine sIMHA im Anschluss an eine Therapie mit Phenobarbital und musste immunsuppressiv behandelt werden, da ein Absetzen des Phenobarbitals nicht möglich war.⁵⁰

Insgesamt ist die Prognose der IMHA aufgrund der Komplexität der Erkrankung und der multisystemischen Auswirkungen als vorsichtig einzuschätzen. Häufige, z.T. lebensbedrohliche Komplikationen sind neben refraktären Anämien, Infektionen (bakteriell, mykotisch) aufgrund der immunsuppressiven Therapie, Blutungen, akutes Nierenversagen oder (pulmonale) Thrombembolien.¹³⁶ Auch bei initialem

Ansprechen sind Rezidive möglich,¹³¹ welche häufig ein schlechteres Ansprechen auf die medikamentöse Therapie zeigen.⁴¹ Daher sind regelmäßige Hämatologie-Kontrollen im Abstand von 2(-4) Wochen über einen Zeitraum von 6-12 Monaten notwendig.⁴¹ Einige der betroffenen Hunde benötigen außerdem eine lebenslange medikamentöse Therapie.⁸

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Patientenauswahl

Die Patientenauswahl der vorliegenden Studie erfolgte mit Hilfe des programminternen Filtersystems bzw. ab 2011 anhand des Diagnosekatalogs des Praxisprogramms easyVET (VetZ GmbH, Hannover, Deutschland). Die Vorauswahl umfasste alle Hunde, die in einem Zeitraum von sieben Jahren (2006 bis 2012) in der Klinik für Kleintiere, Innere Medizin, der Justus-Liebig-Universität Gießen vorgestellt wurden, und die Diagnose „immunbedingte“, „immunhämolytische“, „immunmedierte“, „immun-“ bzw. „autoimmun-“ Anämie erhielten. Darüber hinaus mussten folgende Einschlusskriterien erfüllt sein:

- 1) vollständige Krankenakte
- 2) Anämie mit Hkt. < 35 %
- 3) Bestätigung der immunvermittelten Hämolyse anhand mindestens eines der folgenden Kriterien:^{25,60,62–64,70,83,88,89,105,129,134,142,173,196,215,218,221}
 - a. positiver Coombs-Tests
 - b. persistierende Objektträgeragglutination
 - c. signifikante Sphärozytose(genaue Durchführung der Tests siehe 3.1.2.2)

Ausgeschlossen wurden Hunde, bei denen zusätzlich eine schwere Thrombozytopenie ($< 50 \times 10^9/l$) vorlag.^{83,129,134,196}

Die Diagnose einer pIMHA wurde dann gestellt, wenn sich anhand der weiterführenden Untersuchungen (Röntgen von Thorax und Abdomen, Sonographie des Abdomens, Bluttests auf Infektionserkrankungen, zytologische Untersuchungen von Feinnadelaspiraten sonographisch veränderter Organe sowie Knochenmark) keine Hinweise auf eine zugrunde liegende Erkrankung ergaben, und innerhalb der letzten vier Wochen vor Krankheitsbeginn keine Impfung erfolgt war.⁴⁸

Untersuchungspunkt	Erfasste Parameter	Antwortmöglichkeiten/ Graduierung/Einheit
	<ul style="list-style-type: none"> - PU/PD - Pigmenturie - Hämatochezie/Meläna - Erkrankungsdauer - Vorbehandlung - Impfstatus - Auslandsanamnese 	<ul style="list-style-type: none"> - ja/nein - ja/nein - ja/nein - in Tagen - Antibiotika - Immunsuppressiva - Zytostatika - andere Medikamente - regelmäßig - unregelmäßig - letzte Impfung - ja/nein
<p style="text-align: center;">Klinische Untersuchung</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Allgemeinbefinden - Schleimhautfarbe - Dehydratation - Puls - Pulsqualität - Tachykardie - Atmung - Tachypnoe - Husten - Verschärfte Lungenauskultation - Temperatur 	<ul style="list-style-type: none"> - ungestört - geringgradig gestört - mittelgradig gestört - hochgradig gestört - obB - blass - ikterisch - ja/nein - Schläge/min. - obB - klein, kräftig - ja/nein - ja: kleiner Hund > 180/min., großer Hund (≥ 30 kg) > 140/min.¹⁴ - Züge/min. - Hecheln - ja/nein - ja: > 30/min.¹⁴ - ja/nein - ja/nein - °C

Untersuchungspunkt	Erfasste Parameter	Antwortmöglichkeiten/ Graduierung/Einheit
	<ul style="list-style-type: none"> - Fieber/Hyperthermie - Herzgeräusch - Splenomegalie 	<ul style="list-style-type: none"> - ja/nein - ja: > 39,0°C¹⁴ - ja/nein - Grad - lokalisierbar/funktionell - ja/nein

Tabelle 5: Erfasste und ausgewertete Daten aus Signalement, Anamnese und klinischer Untersuchung

3.1.2.2 Labordiagnostik

3.1.2.2.1 Hämatologie

Die Bestimmung der hämatologischen Parameter (Leukozytenzahl (WBC) sowie Differentialblutbild, Erythrozyten (RBC)- und Thrombozytenzahlen (PLT), Hämatokrit (Hkt), Hämoglobinwert (Hb), absolute Retikulozytenzahl, Erythrozytenindizes MCV, RDW, MCH und MCHC) erfolgte innerhalb von 24h nach Vorstellung des Patienten unter Verwendung verschiedener Hämatologie-Geräte. Während bei der Mehrzahl der Hunde das vollautomatische Hämatologiesystems ADVIA® 120 bzw. 2120 (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland) zum Einsatz kam, wurden bei Patienten, die im Nacht- und Notdienst vorgestellt wurden, das Scil Vet ABC® (scil animal care company GmbH, Viernheim, Deutschland) sowie ab 2012 der IDEXX ProCyte Dx® (IDEXX GmbH, Ludwigsburg, Deutschland) angewandt. In wenigen Ausnahmefällen, bei denen aufgrund einer aktuellen Blutuntersuchung durch den Haustierarzt keine erneute Evaluation der Blutwerte in unserer Klinik erfolgte, flossen die vorliegenden Daten in die statistische Auswertung mit ein. Hierbei handelte es sich in der Mehrzahl der Fälle um Blutuntersuchungen aus externen Labors (z.B. IDEXX Vet Med Labor GmbH, Ludwigsburg, Deutschland, synlab.vet, Leverkusen, Deutschland).

Verwendet wurde EDTA-Vollblut, welches aus der Vena cephalica antebrachii, der Vena saphena oder der Vena jugularis entnommen wurde. Die gerätespezifischen, kliniksinternen Referenzwerte der Einzelparameter für den Hund für den am häufigsten angewandten ADVIA® 120 bzw. 2120 (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland) finden sich in Tabelle 6.

Parameter	Einheit	Referenzbereich	
		ADVIA® 120	ADVIA® 2120
WBC	10 ⁹ /l	5,84 – 20,26	5,48 – 13,74
Neutrophile	10 ⁹ /l	4,27 – 9,06	2,78 – 8,73
Lymphozyten	10 ⁹ /l	2,04 – 4,66	0,72 – 4,71
Monozyten	10 ⁹ /l	0,24 – 2,04	0,06 – 0,83
Eosinophile	10 ⁹ /l	0,10 – 1,20	< 1,47
Basophile	10 ⁹ /l	0,01 – 0,08	0 – 0,11
RBC	10 ¹² /l	5,68 – 9,08	5,64 – 8,30
Hämoglobingehalt (berechnet)	mmol/l	8,55 – 12,65	8,06 – 12,21
Hkt.	l/l	0,42 – 0,62	0,39 – 0,56
Retikulozytenzahl absolut	10 ⁹ /l	10,92 – 110,96	0 – 60
MCV	fL	62,7 – 74,56	62,61 – 73,50
RDW	%	12 – 13,5	10,76 – 12,80

Parameter	Einheit	Referenzbereich	
		ADVIA® 120	ADVIA® 2120
MCH (berechnet)	fmol/l	1,3 – 1,5	1,35 – 1,62
MCHC (berechnet)	mmol/l	19,6 – 21,3	20,82 – 23,53
PLT	10 ⁹ /l	173,05 – 486,50	150 – 500

Tabelle 6: Kliniksinterne hämatologische Referenzwerte des Hundes für den ADVIA® 120¹⁴⁴ sowie 2120 (Bauer, N., unveröffentlichte Daten)

3.1.2.2.2 Blutausstrich

Zur Beurteilung des Regenerationsgrades, zur Detektion von Sphärozyten, anderen morphologischen Abweichungen der Erythrozyten oder Blutparasiten sowie zur manuellen Korrektur der Leukozytenzahlen beim Vorliegen von Normoblasten oder bei Hinweisen auf eine Linksverschiebung wurde bei jedem Hund im Anschluss ein Blutausstrich angefertigt. Nach Lufttrocknung sowie Färbung nach May-Grünwald-Giemsa (Pappenheim-Färbung) erfolgte die Beurteilung mit Hilfe eines kommerziellen Lichtmikroskops unter 1000facher Vergrößerung im Ölimmersionsfeld.

Zur Erstellung des manuellen Differentialblutbildes wurden 100 Leukozyten ausgezählt. Die Anzahl an Normoblasten wurde pro 100 ausgezählter Leukozyten angegeben. Bei fehlender Indikation für eine manuelle Zelldifferenzierung (normales Scattergramm) erfolgte in Einzelfällen nach Evaluation des Blutausstriches lediglich eine semiquantitative Angabe der Normoblasten (vereinzelt, wenige, einige, zahlreiche).

Die Graduierung der vorliegenden Polychromasie, Anisozytose und Sphärozytose erfolgte ebenfalls semiquantitativ (+ bis ++++). Die zugrunde liegenden Grenzbereiche für die Bewertung der Sphärozytose sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

Um die Diagnose einer Immunhämolyse stellen zu können, musste eine mäßige bis hochgradige Sphärozytose vorliegen, d.h. der Grad der Sphärozytose musste mindestens 4 % (entspricht ++) betragen.²¹⁹

Bezüglich der Regeneration wurde eine Anämie mit einer Retikulozytenzahl $< 60 \times 10^9/l$ als aregenerativ eingestuft.²¹⁹

Grad der Sphärozytose	Sphärozyten pro Gesichtsfeld	Sphärozyten in %
+	5 – 10	2 – 4
++	11 – 50	4 – 20
+++	51 – 150	20 – 60
++++	> 150	> 60

Tabelle 7: Quantifizierung der Sphärozyten im Blutaussstrich²¹⁹

3.1.2.2.3 Autoagglutination

Zur Unterscheidung einer echten Autoagglutination von einer Zusammenlagerung von Erythrozyten im Sinne einer Rouleaux-Bildung wurden nach individuellem Ermessen des Untersuchers ein Objektträgeragglutinationstest und/oder ein dreimaliges Waschen der Erythrozyten durchgeführt.

Wie in der Literatur beschrieben wurde beim Objektträgeragglutinationstest ein Tropfen der EDTA-Blutprobe des erkrankten Hundes mit 1-3 Tropfen einer 0,9 %igen Kochsalzlösung auf dem Glasobjektträger vermischt.^{136,140,203,209} Die Erythrozytenwaschung erfolgte ebenfalls mit physiologischer Kochsalzlösung in drei verschiedenen Verdünnungsstufen (1:3, 1:4 und 1:5) mit anschließender Zentrifugation sowie Dekantieren des Überstandes.⁶²

Im Anschluss wurden die Blutproben sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch auf eine persistierende Agglutination untersucht.

3.1.2.2.4 Klinische Chemie

Die Bestimmung der blutchemischen Parameter erfolgte routinemäßig innerhalb von 24h mit Hilfe des Laborgerätes ABX Pentra 400® (Horiba ABX, Stuttgart, Deutschland) aus heparinisiertem Plasma bei nahezu allen Patienten. Ähnlich wie bei der hämatologischen Untersuchung erfolgte in wenigen Ausnahmefällen aufgrund des Vorliegens aktueller Blutwerte keine erneute blutchemische Untersuchung. In diesen Fällen wurden die vorhandenen Daten aus zumeist externen Labors (z.B. IDEXX Vet Med Labor GmbH, Ludwigsburg, Deutschland, synlab.vet, Leverkusen, Deutschland) zur Erstellung der Statistik verwendet.

In die statistische Auswertung flossen die prognostischen Faktoren Harnstoff, Kreatinin, Totalprotein, Albumin, Bilirubin, AP, ALT, CK, Natrium und Kalium ein. Bei Vorstellung im Notdienst wurde außerdem in den meisten Fällen eine Blutgasanalyse durchgeführt. Bei dem hierfür verwendeten Blutgasanalysegerät handelte es sich um den Roche Omni S® (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland).

Parameter	Einheit	Referenzbereich
Harnstoff	mmol/l	3,3 – 9,82
Kreatinin	µmol/l	53 – 122
Natrium ionisiert	mmol/l	141 – 146
Chlorid	mmol/l	104 – 112
Kalium ionisiert	mmol/l	3,35 – 4,37
Calcium ionisiert	mmol/l	1,23 – 1,43
Phosphat	mmol/l	0,79 – 2,1
Magnesium ionisiert	mmol/l	0,47 – 0,63
Gesamteiweiß	g/l	55,3 – 69,84

Parameter	Einheit	Referenzbereich
Albumin	g/l	29,6 – 37,01
Globulin	g/l	22,9 – 35,6
Glukose	mmol/l	3,3 – 6,53
Bilirubin gesamt	µmol/l	0 – 3,6
Cholesterin	mmol/l	3,3 – 8,6
Triglyceride	mmol/l	0,08 – 0,75
AP	U/l	0 – 130
ALT	U/l	0 – 85
GLDH	U/l	0 – 9,9
Creatinkinase	U/l	< 143

Tabelle 8: Klinikinterne blutchemische Referenzwerte des Hundes für den ABX Pentra 400®

3.1.2.2.5 Harnstatus

Eine vollständige Urinuntersuchung wurde in erster Linie bei den Hunden durchgeführt, welche vorberichtlich eine Pigmenturie und/oder eine Polyurie/Polydipsie aufwiesen.

Der mittels Katheterisierung oder Zystozentese gewonnene Urin wurde im Anschluss mit Hilfe eines Harnteststreifen (Combur⁹Test®, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) bzw. unter Verwendung des halbautomatischen Harnanalyse-Systems Clinitek Status® (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland) untersucht. Zur Bestimmung des spezifischen Harngewichts wurde ein Refraktometer verwendet. Darüber hinaus wurde in den meisten Fällen nach Zentrifugation des Urins und Dekantieren des Überstandes ein Harnsediment

angefertigt, welches mit Hilfe eines kommerziellen Lichtmikroskops bei 400facher Vergrößerung untersucht wurde.

Bei Vorliegen einer Proteinurie erfolgte im Einzelfall zusätzlich eine Bestimmung des Urin-Protein-Kreatinin-Quotienten anhand des ABX Pentra 400® (Horiba ABX, Stuttgart, Deutschland).

3.1.2.2.6 PT/aPTT

Bei klinischen Hinweisen auf eine vermehrte Blutungsneigung oder zur weiteren Abklärung einer möglichen DIC wurde zusätzlich die plasmatische Gerinnung getestet. Die Bestimmung von PT und aPTT sowie Fibrinogen erfolgte hierbei aus Citratplasma mit dem Koagulometer Amelung® (Amelung GmbH, Lemgo, Deutschland) bzw. dem Laborgerät STA Compact® (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) unter Verwendung kommerzieller Reagenzien. Bei Bestimmung der Gerinnungsparameter im Nacht- und Notdienst wurde außerdem der IDEXX Coag DX™ (IDEXX GmbH, Ludwigsburg, Deutschland) eingesetzt. Die Angabe der Gerinnungszeiten erfolgte bei allen Geräten in Sekunden. Die entsprechenden Referenzwerte der verschiedenen Geräte sind in Tabelle 9 dargestellt.

	PT (sec.)	aPTT (sec.)
Koagulometer Amelung®	7 – 10	9,5 – 10,5
STA Compact®	6,52 – 8,16	9,85 – 14,22
IDEXX Coag DX™	11 – 17	72 – 102

Tabelle 9: Gerätespezifische Referenzwerte für das Koagulometer Amelung®, den STA Compact® und den IDEXX Coag DX™

3.1.2.2.7 TEG

Als globaler Gerinnungstest zur Detektion hyper- und hypokoagulabler Zustände sowie zur Visualisierung der aktuellen Gerinnungssituation stand ab dem Jahr 2008 der Thrombelastograph TEG® 5000 (Haemonetics Corporation (formerly Haemoscope Corporation), Braintree, MA, USA) zur Verfügung. Die Messung erfolgte aus Citratplasma.

3.1.2.2.8 D-Dimere

Eine Bestimmung der D-Dimere zur weiteren Abklärung einer möglichen DIC war ab dem Jahr 2008 möglich und erfolgte im Einzelfall mit Hilfe des Cardiac reader® bzw. Cobas h 232 POC-System® (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) aus heparinisiertem Vollblut. Werte von $\geq 0,1 \mu\text{g/dl}$ wurden hierbei als erhöht angesehen.

3.1.2.2.9 Entzündungsparameter (Fibrinogen, Blutsenkung, CRP)

Zur Erfassung und Quantifizierung der bestehenden systemischen Entzündungsreaktion wurden bei wenigen Patienten zudem verschiedene Entzündungsparameter gemessen. Während der Fibrinogenwert aus Citratplasma unter Verwendung des Koagulometer Amelung® (Amelung GmbH, Lemgo, Deutschland) bzw. des STA Compact® (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) bestimmt wurde, erfolgte die Messung der Blutsenkung aus Natriumcitratblut anhand der Westergren-Methode (Makro-Schnellmethode mit um 60° geneigter Pipette). Eine zusätzliche Bestimmung des Akute-Phase-Proteins CRP aus heparinisiertem Plasma mittels ABX Pentra 400® (Horiba ABX, Stuttgart, Deutschland) war ab dem Jahr 2008 möglich. Die Referenzwerte der verschiedenen Parameter finden sich in Tabelle 10.

Parameter	Gerät/Messmethode	Referenzbereich
Fibrinogen	Koagulometer Amelung®	2,4 – 4,0 g/l
Fibrinogen	STA Compact®	1,21 – 3,03 g/l
Blutsenkung	Westergren-Methode	20 – 40 mm/30 min.
C-reaktives Protein	ABX Pentra 400®	0 – 13,33 mg/l

Tabelle 10: Gerätespezifische Referenzwerte für die Entzündungsparameter Fibrinogen, Blutsenkung und C-reaktives Protein

3.1.2.2.10 Coombs-Test

Zur Bestätigung der immunvermittelten Hämolyse kam neben dem Nachweis von Sphärozyten im Blutausschlag und/oder einer persistierenden Autoagglutination der Coombs-Test zur Anwendung. Die Durchführung des Tests erfolgte – soweit angefordert – durch die Arbeitsgruppe Immunologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Verwendet wurden 2ml EDTA-Blut. Jede eingesandte Blutprobe wurde auf das Vorliegen von Immunglobulin G und M sowie die Komplementkomponente C3b getestet. Während der Warmansatz bei 37°C standardmäßig erfolgte, wurde eine Untersuchung bei 4°C (Kälteansatz) nur in Einzelfällen bzw. auf expliziten Wunsch durchgeführt. Das Ergebnis der Untersuchung war hierbei lediglich qualitativer Natur, eine quantitative Beurteilung wurde nicht durchgeführt.

In einigen Fällen flossen außerdem die Untersuchungsergebnisse externer Labors (Alomed, Radolfzell; Biocontrol, Ingelheim; IDEXX Vet Med Labor GmbH, Ludwigsburg; Laboklin, Bad-Kissingen; synlab.vet, Leverkusen – alle Deutschland) in die statistische Auswertung mit ein.

3.1.2.2.11 Infektionserkrankungen

Die Abklärung möglicher zugrunde liegender Infektionserkrankungen (Babesiose, Ehrlichiose, Anaplasiose, Leishmaniose, Dirofilariose, Leptospirose) erfolgte in Abhängigkeit des Vorberichts (Zeckenbefall etc.), einer etwaigen Auslandsanamnese und der klinischen Symptomatik des Patienten nach Ermessen des behandelnden Tierarztes. Die PCR-Untersuchungen oder Antikörperbestimmungen wurden hierbei in verschiedenen Labors durchgeführt. In einigen Fällen waren entsprechende Tests bereits durch den Haustierarzt eingeleitet worden.

Während die von unserer Klinik angeforderten Untersuchungen zum Nachweis von Anaplasmen- und/oder Ehrlichien-DNA (TaqMan-PCR) am häufigsten vom veterinärmedizinischen Labor der Universität Zürich durchgeführt wurden, wurde das veterinärmedizinische Labor Biocontrol (Ingelheim, Deutschland) in der Mehrzahl der Fälle mit dem Nachweis der Babesien-PCR beauftragt. Generell wurden PCR-Untersuchungen im akuten Krankheitsstadium bevorzugt. Untersuchungen auf eine mögliche Leishmaniose oder Dirofilariose erfolgten hingegen größtenteils am Institut für Parasitologie der Universität Gießen. Ein weiteres Labor, das wiederholt mit der Untersuchung auf vektorübertragene Erkrankungen beauftragt wurde, war das IDEXX Vet-Med-Labor (Ludwigsburg, Deutschland).

3.1.2.2.12 Knochenmarkuntersuchung

Bei mangelhafter Regeneration trotz medikamentöser Therapie, weiteren Zytopenien oder fraglicher Ätiologie der bestehenden Anämie wurde im Einzelfall eine Knochenmarkentnahme mit anschließender zytologischer Untersuchung durchgeführt. Die Punktion erfolgte in Sedation sowie nach Lokalanästhesie und gründlicher Desinfektion am Tuberculum majus humeri oder der Spina iliaca dorsalis cranialis. Die entnommenen Proben wurden im Anschluss nach May-Grünwald-Giemsa (Pappenheim-Färbung) gefärbt und mikroskopisch beurteilt.

3.1.2.3 Bildgebung

Zur weiteren Abklärung potentieller Ursachen einer IMHA wurden von der Mehrzahl der Patienten mit Hilfe der Röntgenanlage Astar_x X-Star 14 (Comet, Liebefeld-Bern, Schweiz) unter Verwendung des digitalen Detektors Canon CXDI (Canon Europa N.V., Amstelveen, Niederlande) Röntgenbilder von Thorax und Abdomen in je zwei Ebenen (Thorax: laterolateral und dorsoventral, Abdomen: laterolateral und ventrodorsal) angefertigt.

Die ebenfalls häufig durchgeführte sonographische Untersuchung des Abdomens sowie die im Einzelfall indizierte Feinnadelaspiration sonographisch veränderter Organe erfolgten in der Abteilung Bildgebung der Klinik für Kleintiere, Chirurgie, der Justus-Liebig-Universität Gießen unter Anwendung des Toshiba PowerVision 8000 (Toshiba Medical Systems GmbH, Neuss, Deutschland) sowie des GE Logiq 9 (GE Healthcare, München, Deutschland).

3.1.2.4 Therapie

Die initiale Stabilisation der Patienten bestand – abhängig vom Hydratationsstatus des Patienten – in einer intravenösen Infusionstherapie mit Vollelektrolytlösungen (Sterofundin Vollelektrolytlösung®, Firma Braun) sowie bei klinisch relevanter Anämie in der Transfusion von Erythrozytenkonzentrat oder Vollblut. Im Fall einer DIC erhielten die betroffenen Hunde zusätzlich eine Plasmatransfusion.

Nach Diagnosestellung erfolgte bei Hunden mit pIMHA im Anschluss eine kausale, immunsuppressive Therapie mit Prednisolon (2 mg/kg/Tag i.v./p.o. in ausschleichender Dosierung). Bei fehlendem Ansprechen, Vorbehandlung mit Prednisolon oder besonders schwerem Krankheitsverlauf (z.B. bei intravasaler Hämolyse) wurden nach individuellem Ermessen des behandelnden Tierarztes zusätzlich Azathioprin (1x tgl. 2 mg/kg p.o.) oder Ciclosporin (1x tgl. 5 mg/kg p.o.) eingesetzt.

Die parallel durchgeführte symptomatische Therapie bestand in erster Linie in einer Magenschutztherapie. Zum Einsatz kamen Protonenpumpeninhibitoren, wie Pantoprazol, Omeprazol oder Lansoprazol (1x tgl. 0,5 - 1 mg/kg i.v./p.o.) sowie H₂-

Blocker (z.B. Ranitidin, 2 - 3x tgl. 0,5 - 2 mg/kg i.v./p.o. oder Cimetidin, 2 - 4x tgl. 5 - 10 mg/kg i.v./p.o.) und Schleimhautprotektiva (Sucralfat, 2 - 3x tgl. 40 mg/kg). Bei Übelkeit und Erbrechen wurden zusätzlich Antiemetika, wie z.B. Maropitant (1x tgl. 1 mg/kg s.c. oder 2 mg/kg p.o.) oder Metoclopramid (3x tgl. 0,2 - 0,4 mg/kg i.v./p.o.) eingesetzt.

Zur Prophylaxe möglicher thrombembolischer Komplikationen kamen neben Thrombozytenaggregationshemmern wie Aspirin (1x tgl. 0,5 mg/kg p.o.) oder Clopidogrel (Ladedosis 1x tgl. 10mg/kg, dann Erhaltungsdosis 1x tgl. 2 - 3 mg/kg p.o.) Antikoagulantien wie z.B. unfraktioniertes Heparin (3 - 4x tgl. 150 – 300 U/kg s.c.) oder Enoxaparin (2 - 3x tgl. 1 mg/kg s.c.) zur Anwendung.

Zur Prophylaxe möglicher Infektionen erhielten einige der erkrankten Hunde außerdem ein Antibiotikum (z.B. Amoxicillin-Clavulansäure, 2 - 3x tgl. 15 - 20 mg/kg i.v./p.o. oder Enrofloxacin 1x tgl. 5 - 10 mg/kg p.o./s.c.). Bis zum Erhalt der Testresultate auf mögliche Infektionserkrankungen, wie z.B. Ehrlichiose, Anaplasmosen oder Babesiose wurden außerdem viele Patienten mit Doxycyclin (1x tgl. 10 mg/kg p.o.) und/oder Imidocarb (zweimalig 5 mg/kg s.c. im Abstand von 14 Tagen) behandelt.

Bei Hunden mit diagnostizierter sIMHA erfolgte – wenn möglich – eine Therapie der Grunderkrankung. In einzelnen Fällen war zudem eine immunsuppressive Therapie notwendig. Die Erstversorgung sowie die symptomatische Therapie waren darüber hinaus identisch zu den Patienten mit pIMHA.

3.1.2.5 Verlauf und prognostische Faktoren

Abschließend erfolgte die Auswertung des Langzeitüberlebens der Studienpatienten. Hierfür wurden im Oktober 2013 alle Tierbesitzer bzw. die behandelnden Haustierärzte der unter Therapie entlassenen Hunde telefonisch kontaktiert. Darüber hinaus wurden verschiedene labordiagnostische sowie klinische und therapeutische Parameter mit der Mortalität der Tiere mit pIMHA korreliert, um eventuelle prognostische Parameter detektieren zu können. Zur Anwendung kamen hier unter anderem die bereits beschriebenen prognostischen Einflussfaktoren (siehe 2.7).

3.1.2.6 Histopathologische Untersuchung

Bei Hunden, die während des stationären Aufenthaltes verstarben oder euthanasiert wurden, wurde nach Möglichkeit eine histopathologische Untersuchung durch das Institut für Veterinär-Pathologie der Universität Gießen durchgeführt.

3.1.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte unter Verwendung des Statistikprogramms Stata 12.1 SE (Stata Corporation, Texas, USA).

Nach Überprüfung der Daten auf Normalverteilung mittels Shapiro-Wilk-W-Test wurden in der deskriptiven Statistik die Verteilungsbreite der kontinuierlichen Daten inklusive Median berechnet und angegeben.

Die Ermittlung statistischer Signifikanzen verschiedener Parameter zwischen den beiden Studienpopulationen erfolgte bei kontinuierlichen Daten mittels Mann-Whitney-U-Test, bei kategorischen Variablen mittels Chi-Square-Test. Ein p-Wert von $< 0,05$ wurde hierbei als statistisch signifikant angesehen.

Anhand der Bestimmung der Odds Ratio sowie des 95 % Konfidenzintervalls (KI) wurden außerdem Signifikanzen im Hinblick auf die Geschlechter- sowie Rasseverteilung erkrankter Hunde im Vergleich zur Klinikpopulation im selben Zeitraum bestimmt.

Zur Verifizierung von Korrelationen zwischen Mortalität und verschiedenen Variablen aus Signalement, Klinik und Labordiagnostik bei Patienten mit pIMHA wurde im ersten Schritt eine univariate Cox-Proportional-Hazard-Analyse durchgeführt. In die Analyse flossen lediglich Parameter ein, die für mindestens 90 % der Fälle vorlagen. Im Anschluss wurden sämtliche Resultate mit einem p-Wert $< 0,20$ gemeinsam einer multivariaten Analyse unterzogen. Einschlusskriterium war hierbei ein p-Wert $< 0,05$ im Likelihood-Ratio-Test („forward stepwise selection“).

Die vergleichende Darstellung des Langzeitüberlebens beider Gruppen erfolgte anhand einer Kaplan-Meier-Überlebenskurve. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden anhand des Log-Rank Tests ermittelt.

3.2 Ergebnisse

Nach eingehender Sichtung der Krankenakten der Jahre 2006 bis 2012 (n=10749 Hunde) sowie Überprüfung der oben angeführten Einschlusskriterien blieben von initial 192 anhand des programminternen Filtersystems bzw. Diagnosekatalogs ausgewählten Hunden 116 Patienten übrig. Gründe für das Ausscheiden von 76 Hunden waren fehlende Hinweise auf eine bestehende Immunhämolyse (n=33), eine zusätzlich bestehende Thrombopenie $< 50 \times 10^9/l$ (n=21), eine falsche Einordnung bzw. Fehldiagnose (n=15) sowie eine unvollständige Krankenakte (n=7).

Bei den verbliebenen 116 Hunden konnte bei 90 Hunden (78 %) eine pIMHA und bei 26 Hunden (22 %) eine sIMHA diagnostiziert werden. Die Einteilung in die sIMHA-Gruppe erfolgte neben entsprechenden klinischen Hinweisen auf eine zugrunde liegende Erkrankung in vier Fällen (15 %) anhand weiterführender bildgebender Diagnostik, bei zwölf Hunden (46 %) mit Hilfe labordiagnostischer Tests und/oder zytologischer Untersuchungen von Feinnadelaspiraten veränderter Organe, bei einem Hund (4 %) aufgrund der Resultate einer histopathologischen Untersuchung und bei vier Hunden (15 %) infolge einer vorherichtlich erwähnten Impfung innerhalb der letzten vier Wochen. Fünf Hündinnen (19 %) wurden außerdem aufgrund klinisch palpabler, potentiell maligner Mammatumoren als sIMHA-Patienten klassifiziert.

Während bei 50 % der sIMHA-Patienten (13/26) ursächlich eine Tumorerkrankung zugrunde lag, wiesen 23 % der Hunde (6/26) eine entzündlich-infektiöse Erkrankung, 15 % der Hunde eine impfinduzierte Genese (4/26) und 12 % (3/26) eine entzündliche Erkrankung auf. Die genauen Ursachen der sIMHA sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

	Easy-Vet-Nr.	Rasse	Alter (Jahre)	Geschlecht	Erkrankung
1	896	Bearded Collie	8,7	mk	Pankreatitis
2	1973	Schnauzer	10,2	w	Hochgradige Gastritis, Nephritis, (Diabetes mellitus)
3	2131	Mischling	4,3	m	Polytrauma, Wundinfektion
4	2471	Deutscher Schäferhund	7,6	m	Babesiose
5	3128	Dobermann	6,5	w	Mammatumor
6	5432	Husky	12,6	w	Mammatumor
7	9762	Mischling	9,1	w	Mammatumor
8	9878	Golden Retriever	1,6	m	Lymphom
9	10249	Flat Coated Retriever	5,2	m	Pneumonie, Sepsis, DIC
10	11112	Cairn Terrier	11,7	m	Prostatakarzinom
11	15653	Dackel	2,0	m	Babesiose
12	16128	Berner Sennenhund	4,3	m	Histiozytäres Sarkom
13	18794	Berner Sennenhund	11,6	w	Mammatumoren, Lebertumor
14	19673	Entlebucher Sennenhund	12,1	w	Mammatumor
15	20007	Berner Sennenhund	5,6	wk	Gallengangskarzinom, Polyarthritis

	Easy-Vet-Nr.	Rasse	Alter (Jahre)	Geschlecht	Erkrankung
16	27879	Appenzeller Sennenhund	10,4	m	Impfung
17	48606	Kromfohländer	5,9	w	Milztumor
18	55255	Border Collie	9,5	w	Milztumor
19	57532	Irish Setter	5,4	w	Impfung
20	73965	Berger de Picardie	8,9	w	Impfung
21	77902	Airedale Terrier	4,4	wk	Impfung
22	17458	Dackel	11,9	mk	Mastzelltumor
23	100213	Parson Russel Terrier	5,1	mk	Pankreatitis
24	101608	Entlebucher Sennenhund	11,0	wk	Leishmaniose
25	104630	Mischling	2,4	mk	Leishmaniose
26	106927	Deutscher Jagdterrier	6,9	mk	Milztumor

Tabelle 11: Grunderkrankungen bei Patienten mit sIMHA

3.2.1 Signalement

3.2.1.1 Alter

Das Alter der Hunde mit pIMHA lag zwischen 0,6 und 14,3 Jahren (Median: 7,0 Jahre), das der Hunde mit sIMHA zwischen 1,6 und 12,6 Jahren (Median: 7,3 Jahre). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen konnte hierbei nicht festgestellt werden ($p=0,5$).

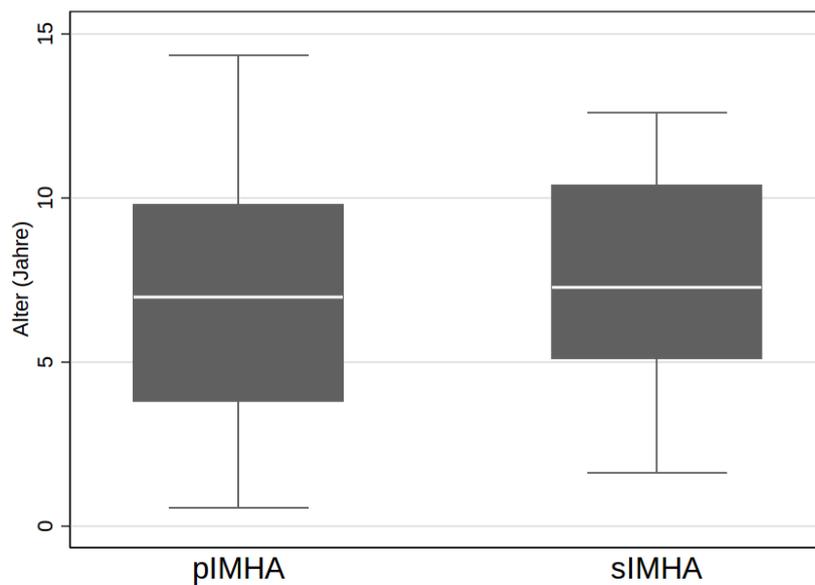


Abbildung 1: Altersverteilung

3.2.1.2 Geschlecht

Von den insgesamt 116 Hunden mit IMHA waren 67 (58 %) weiblich [davon 25 Hunde (22 %) weiblich-kastriert] und 49 (42 %) männlich [davon 23 Hunde (20 %) männlich-kastriert]. Die genaue Geschlechterverteilung innerhalb der verschiedenen Gruppen ist im Folgenden tabellarisch aufgeführt.

	pIMHA		sIMHA	
weiblich-intakt	31	53 (59 %)	11	14 (54 %)
weiblich-kastriert	22		3	
männlich-intakt	18	37 (41 %)	8	12 (46 %)
männlich-kastriert	19		4	

Tabelle 12: Geschlechterverteilung

In der gesamten Studienpopulation waren weibliche Hunde geringgradig überrepräsentiert ($67/116 = 58\%$). Eine statistisch signifikante Geschlechtsprädisposition für unkastrierte Hündinnen im Vergleich zur Klinikpopulation im selben Zeitraum konnte allerdings lediglich in der Gruppe der an pIMHA erkrankten Hunde festgestellt werden. Ein ähnliches Resultat ergab sich nach Zusammenfassung der kastrierten und unkastrierten Hündinnen (weiblich (gesamt)) in der pIMHA-Gruppe. Männlich-intakte Hunde erkrankten hingegen signifikant weniger häufig an einer pIMHA. Die Ergebnisse der statistischen Auswertung finden sich in Tabelle 13.

	pIMHA		sIMHA	
	Odds Ratio	95 %-Konfidenzintervall	Odds Ratio	95 %-Konfidenzintervall
weiblich-intakt	2,11	1,18 – 3,78	1,68	0,68 – 4,19
weiblich-kastriert	0,99	0,53 – 1,83	0,64	0,14 – 2,87
weiblich (gesamt)	1,53	1,01 – 2,34	1,25	0,58 – 2,70
männlich-intakt	0,47	0,26 – 0,85	0,59	0,24 – 1,48
männlich-kastriert	1,01	0,55 – 1,88	1,56	0,35 – 6,98
männlich (gesamt)	0,65	0,43 – 1,00	0,80	0,37 – 1,74

Tabelle 13: Geschlechtsprädispositionen

3.2.1.3 Gewicht

Die Gewichtsverteilung der Hunde mit pIMHA und sIMHA – kategorisiert in leichte (0 bis ≤ 15 kg), mittelschwere (> 15 bis ≤ 30 kg) und schwere (> 30 kg) Rassen – stellte sich wie folgt dar:

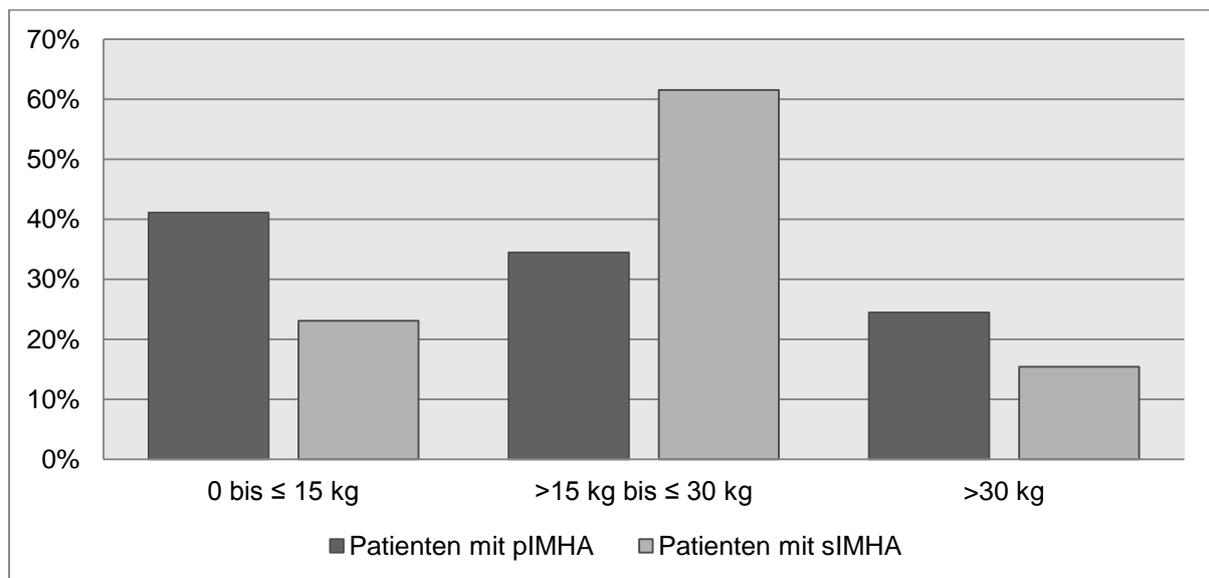


Abbildung 2: Gewichtsverteilung

Insgesamt lag das Körpergewicht der Hunde mit pIMHA zwischen 1,9 und 56 kg (Median: 19,9 kg), das der Hunde mit sIMHA zwischen 8 und 42 kg (Median: 24,1 kg). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bestand nicht ($p=0,17$).

Auffällig war allerdings, dass es sich bei mehr als der Hälfte der sIMHA-Patienten (16/26; 62 %) mit > 15 kg bis ≤ 30 kg um mittelschwere Rassen handelte, wohingegen die Gruppe der Hunde von 0 bis ≤ 15 kg zu 86 % (37/43) aus Hunden mit pIMHA bestand.

3.2.1.4 Rasse

In der gesamten Studienpopulation ($n=116$) waren neben dem am häufigsten vorkommenden Mischlingshund (32/116; 28 %) 50 verschiedene Rassen vertreten.

Während in der Gruppe der Hunde mit pIMHA der Rauhaardackel und der Jack-Russel-Terrier (je $n=4$), der Berner Sennenhund und der Irish Setter (je $n=3$) sowie mit jeweils zwei Vertretern der Airedale Terrier, der Cocker Spaniel, der Golden Retriever, der Labrador Retriever, der Langhaardackel, der Pudel, der Rottweiler, der West Highland White Terrier und der Yorkshire Terrier mehrfach vertreten waren,

kamen bei den Patienten mit sIMHA der Berner Sennenhund (n=3) sowie der Entlebucher Sennenhund und der Dackel (n=2) mehrmals vor. Die genaue Rasseverteilung innerhalb der zwei Studiengruppen sowie die Resultate des statistischen Vergleichs mit der Klinikpopulation im selben Zeitraum ist in den Tabellen 14 (pIMHA) und 15 (sIMHA) zusammengefasst.

Rasse	Anzahl der Hunde	Prozent	Odds Ratio	95 %-Konfidenzintervall
Mischling	29	32	1,57	1,00 – 2,44
Rauhaardackel	4	4	2,89	1,05 – 7,97
Jack Russel Terrier	4	4	1,94	0,70 – 5,32
Berner Sennenhund	3	3	1,68	0,53 – 5,34
Irish Setter	3	3	8,68	2,64 – 28,53
Airedale Terrier	2	2	5,00	1,20 – 20,91
Cocker Spaniel	2	2	1,80	0,44 – 7,41
Golden Retriever	2	2	0,59	0,14 – 2,40
Labrador Retriever	2	2	0,41	0,10 – 1,67
Langhaardackel	2	2	5,00	1,20 – 20,91
Pudel	2	2	1,75	0,43 – 7,18
Rottweiler	2	2	1,69	0,41 – 6,92
West Highland White Terrier	2	2	1,08	0,26 – 4,41
Yorkshire Terrier	2	2	0,85	0,21 – 3,46
Alaskan Malamute	1	1	9,93	1,28 – 77,18
Altdeutscher Hütehund	1	1	4,58	0,61 – 34,09
American Staffordshire Terrier	1	1	3,40	0,46 – 25,07
Appenzeller Sennenhund	1	1	5,17	0,69 – 38,74

Rasse	Anzahl der Hunde	Prozent	Odds Ratio	95 %- Konfidenzintervall
Border Collie	1	1	0,73	0,10 – 5,30
Beagle	1	1	0,52	0,07 – 3,74
Briard	1	1	3,40	0,46 – 25,07
Cairn Terrier	1	1	2,97	0,40 – 21,85
Coton de Tulear	1	1	9,16	1,19 – 70,81
Dackel	1	1	1,17	0,16 – 8,48
Deutscher Schäferhund	1	1	0,20	0,03 – 1,45
English Springer Spaniel	1	1	13,24	1,66 – 105,63
Fox Terrier	1	1	2,28	0,31 – 16,69
Holländischer Schäferhund	1	1	17,03	2,07 – 139,85
Husky	1	1	2,64	0,36 – 19,36
Italienisches Windspiel	1	1	17,03	2,07 – 139,85
Kleiner Münsterländer	1	1	1,98	0,27 – 14,42
Kromfohrländer	1	1	14,90	1,84 – 120,38
Lhasa Apso	1	1	13,24	1,66 – 105,63
Malteser	1	1	1,62	0,22 – 11,80
Mops	1	1	0,79	0,11 – 5,74
Old English Sheepdog	1	1	6,27	0,83 – 47,32
Pyrenäenberghund	1	1	10,83	1,38 – 84,80
Spitz	1	1	5,17	0,69 – 38,74
Vizsla	1	1	2,76	0,38 – 20,28
Wachtel	1	1	2,90	0,39 – 21,30
Weimaraner	1	1	2,01	0,28 – 14,67

Rasse	Anzahl der Hunde	Prozent	Odds Ratio	95 %- Konfidenzintervall
Weißer Schäferhund	1	1	2,16	0,30 – 15,76
Zwergschnauzer	1	1	1,69	0,23 – 12,32

Tabelle 14: Rassenspektrum der Hunde mit pIMHA (n=90)

Rasse	Anzahl der Hunde	Prozent	Odds Ratio	95 % Konfidenzintervall
Berner Sennenhund	3	12	1,68	0,53 – 5,34
Mischling	3	12	0,11	0,04 – 0,36
Dackel	2	8	2,39	0,58 – 9,84
Entlebucher Sennenhund	2	8	11,46	2,65 – 49,64
Airedale Terrier	1	4	2,42	0,33 – 17,74
Appenzeller Sennenhund	1	4	5,17	0,69 – 38,74
Bearded Collie	1	4	3,3	0,45 – 24,35
Berger de Picardie	1	4	29,81	3,3 – 269,36
Border Collie	1	4	0,73	0,1 – 5,3
Cairn Terrier	1	4	2,97	0,4 – 21,85
Deutscher Jagdterrier	1	4	4,1	0,55 – 30,44
Deutscher Schäferhund	1	4	0,2	0,03 – 1,45
Dobermann	1	4	1,03	0,14 – 7,43
Flat Coated Retriever	1	4	2,7	0,37 – 19,81
Golden Retriever	1	4	0,29	0,04 – 2,09
Husky	1	4	2,64	0,36 – 19,36
Irish Setter	1	4	2,7	0,37 – 19,81
Kromfohlländer	1	4	14,9	1,84 – 120,38

Rasse	Anzahl der Hunde	Prozent	Odds Ratio	95 % Konfidenzintervall
Parson Russel Terrier	1	4	3,05	0,41 – 22,42
Schnauzer	1	4	5,17	0,69 – 38,74

Tabelle 15: Rassenspektrum der Hunde mit SIMHA (n=26)

Eine statistisch signifikante Überrepräsentation im Vergleich zur Klinikpopulation konnte in der pIMHA-Gruppe für die Rassen Alaskan Malamute, Airedale Terrier, Coton de Tulear, English Springer Spaniel, Holländischer Schäferhund, Irish Setter, Italienisches Windspiel, Kromfohrländer, Langhaardackel, Lhasa Apso, Pyrenäenberghund und Rauhaardackel ermittelt werden.

Bei den Patienten mit SIMHA waren der Berger de Picardie, der Entlebucher Sennenhund sowie der Kromfohrländer überproportional häufig betroffen. Mischlingshunde erkrankten hingegen statistisch signifikant seltener an einer SIMHA.

3.2.2 Anamnese

3.2.2.1 Zeitpunkt der Vorstellung/Saisonalität

Um eine mögliche Saisonalität der Erkrankung sowie später einen Einfluss des Vorstellungszeitpunktes auf den klinischen Verlauf identifizieren zu können (s. Outcome), wurde außerdem die Anzahl der Hunde mit primärer und sekundärer IMHA zum jeweiligen Vorstellungszeitpunkt, welcher sich an den meteorologischen Jahreszeiten orientierte, herausgearbeitet. Die Daten finden sich in Tabelle 16.

Gruppe	Frühling (März-Mai)	Sommer (Juni-August)	Herbst (September- November)	Winter (Dezember - Februar)
pIMHA	29 (32 %)	21 (23 %)	21 (23 %)	19 (21 %)
	50 (56 %)		40 (44%)	
sIMHA	7 (27 %)	10 (38 %)	6 (23 %)	3 (12 %)
	17 (65 %)		9 (35 %)	

Tabelle 16: Saisonale Verteilung der Patienten

Auffällig ist, dass in beiden Gruppen, deutlicher aber in der Gruppe der Hunde mit sIMHA, mehr Hunde in den warmen Monaten (März bis August) vorgestellt wurden (67/116; 58 %). Mit einem p-Wert von 0,37 erwies sich diese Beobachtung allerdings als nicht statistisch signifikant. Ebenso verhielt es sich innerhalb der einzelnen Gruppen (pIMHA: $p=0,34$; sIMHA: $p=0,17$).

Betrachtet man die Anzahl der Hunde bezogen auf den jeweiligen Vorstellungsmonat (Abbildung 3), zeigt sich in beiden Studienpopulationen ein gehäuftes Auftreten von Neuerkrankungen im Mai. 35 % der Hunde mit sIMHA (9/26) wurden darüber hinaus in den Monaten Juli und August vorgestellt, wohingegen im Wintermonat Dezember keine Fälle von sIMHA diagnostiziert wurden.

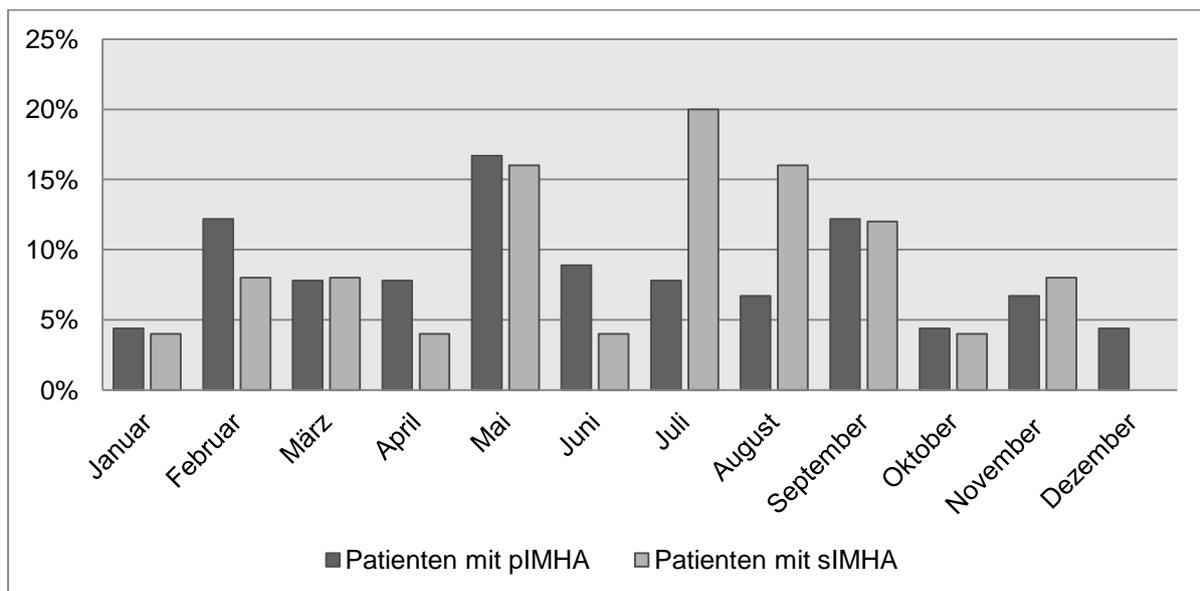


Abbildung 3: Monatliche Verteilung der Patienten

3.2.2.2 Vorstellungsgrund

Die durch den Besitzer oder im Rahmen einer bereits beim Haustierarzt erfolgten klinischen Untersuchung erfassten Symptome finden sich in Abbildung 4.

Zu den häufigsten Vorstellungsgründen, welche in beiden Gruppen bei jeweils > 60 % der Hunde vorlagen, gehörten unspezifische Symptome wie Inappetenz bis Anorexie und Apathie/Schwäche.

Die Symptome Ikterus und Tachypnoe traten mit einem p-Wert von 0,03 bzw. 0,003 statistisch signifikant häufiger in der Gruppe der an sIMHA erkrankten Hunde auf.

Bei den Tieren mit vorberichtlich beschriebener PU/PD (29/116; 25 %) waren in der Gruppe der Hunde mit pIMHA 13/21 (62 %) und in der Gruppe der Hunde mit sIMHA 3/8 (38 %) mit Glucocorticoiden vorbehandelt.

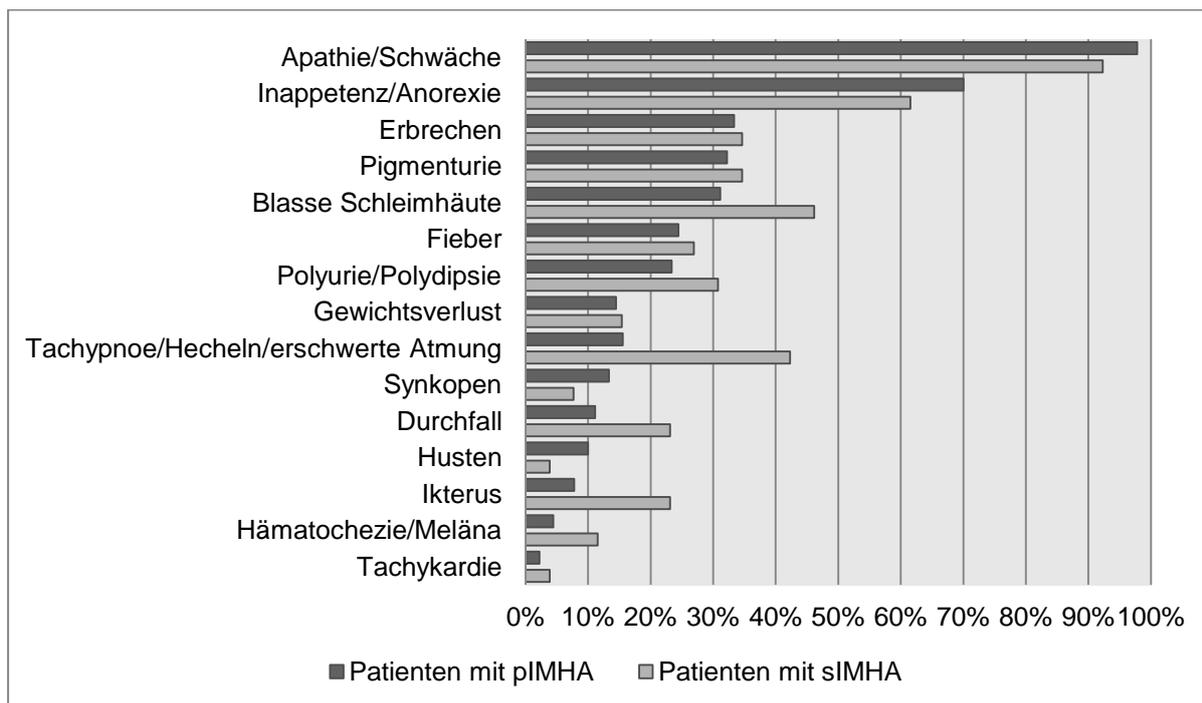


Abbildung 4: Vorstellungsgründe

3.2.2.3 Erkrankungsdauer

Die Dauer der Erkrankung bis zur Vorstellung in unserer Klinik betrug bei den Hunden mit pIMHA zwischen einem und 90 Tagen (Median: 4,5 Tage). Die Hunde mit sIMHA wurden einen bis 41 Tage (Median: 3,5 Tage) nach Auftreten der ersten Symptome zur weiteren Abklärung in unserer Klinik vorgestellt. Es konnte weder ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p=0,65$), noch eine Korrelation zwischen Erkrankungsdauer und Überlebenszeit festgestellt werden.

3.2.2.4 Vorbehandlung

Eine medikamentöse Vorbehandlung aufgrund der akuten Symptomatik oder einer länger bestehenden Vorerkrankung war in 80 % (93/116) der Fälle erfolgt.

Während in der Gruppe der Patienten mit pIMHA 52 Hunde (58 %) mit Antibiotika und 38 Hunde (42 %) mit Glucocorticoiden vorbehandelt waren, standen 20 Hunde mit sIMHA (77 %) zum Zeitpunkt der Vorstellung unter antibiotischer Therapie sowie acht Hunde (31 %) unter immunsuppressiver Therapie mit Glucocorticoiden. Weitere

Medikamente, welche bei mehreren Patienten im Vorfeld zum Einsatz kamen, finden sich in Abbildung 5.

Zusätzlich zu den gezeigten Präparaten wurde je ein Patient mit pIMHA vorberichtlich mit Ambroxol, Estriol, Phenylpropanolamin, Atenolol, Levothyroxin, Metoclopramid, Pankreasenzymen sowie Homöopathika behandelt, wohingegen ein Hund mit sIMHA Diazepam erhielt. Vier der Hunde mit pIMHA hatten im Rahmen der Initialbehandlung durch den Haustierarzt außerdem eine Spritze unbekanntes Inhaltes erhalten.

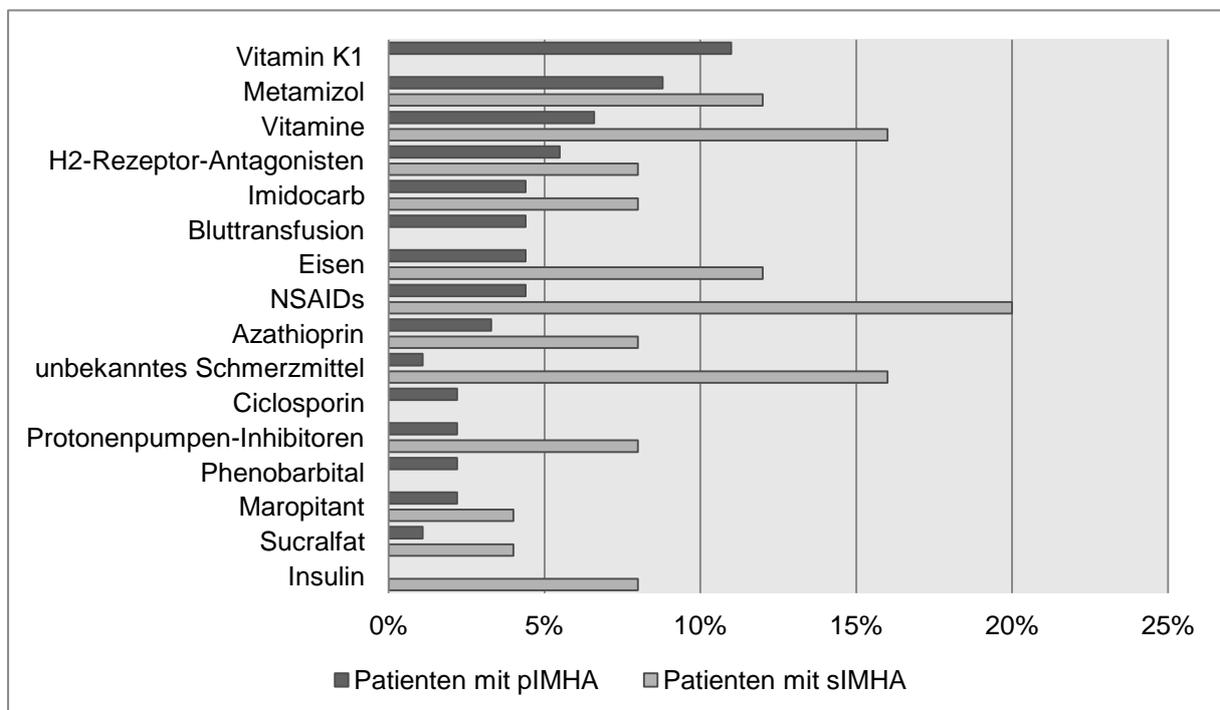


Abbildung 5: Vorbehandlung

3.2.2.5 Impfstatus

Die Erfassung des Impfstatus (n=113) ergab eine regelmäßige und vollständige Vakzinierung gemäß der alten Impfeempfehlungen (jährliche Wiederholungsimpfung) bei insgesamt 97 Hunden (86 %). Vier der erfassten Hunde mit IMHA (4 %) waren innerhalb der letzten vier Wochen vor Vorstellung geimpft worden. Sie wurden

aufgrund der Möglichkeit einer impfinduzierten IMHA gemäß der Einschlusskriterien der Studie der sIMHA-Gruppe zugeordnet.

3.2.2.6 Auslandsaufenthalt

Auslandsaufenthalte in Süd- oder Osteuropa bzw. den USA lagen anamnestisch bei 42 % der Hunde mit IMHA (46/109) vor. Bei fünf Hunden aus der pIMHA-Gruppe (6 %) sowie zwei Hunden der sIMHA-Gruppe (8 %) war diesbezüglich keine Angabe gemacht worden. Während in der Gruppe der Hunde mit pIMHA mit 39 % (33/85) etwas mehr als ein Drittel der Hunde im Ausland waren, betrug der Anteil an Patienten mit sIMHA 54 % (13/24).

3.2.3 Klinische Untersuchung

Die in der klinischen Untersuchung erfassten Vitalparameter sowie eine Graduierung des Allgemeinbefindens bei Erstvorstellung finden sich vergleichend für beide Studienpopulationen in Tabelle 17.

Im direkten Vergleich zeigten die Hunde mit pIMHA eine geringfügig höhere Pulsfrequenz. Während hier allerdings keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden konnte ($p=0,47$), ergab die Auswertung der Atemfrequenzen signifikant höhere Werte in der Gruppe der Hunde mit sIMHA ($p=0,007$).

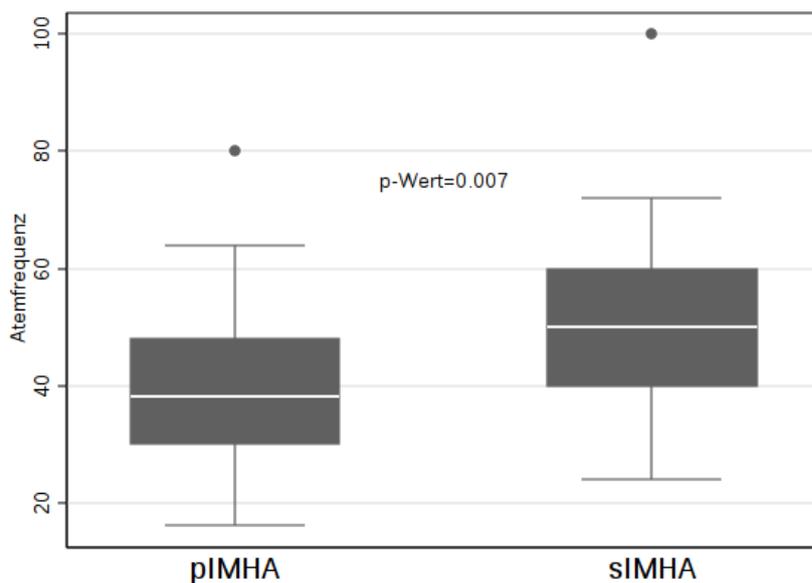


Abbildung 6: Atemfrequenz bei Erstvorstellung

Bezüglich der Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens durch die bestehende Grunderkrankung fiel auf, dass in der Gruppe der Hunde mit sIMHA knapp die Hälfte der Patienten (12/26; 46 %) mit ungestörtem Allgemeinbefinden vorgestellt wurde, während sich 70 % der Hunde mit pIMHA (63/90) von \geq geringgradig gestörtem Allgemeinbefinden präsentierten. In der statistischen Auswertung erwies sich das gehäufte Auftreten von Patienten mit ungestörtem Allgemeinbefinden in der sIMHA-Gruppe mit einem p-Wert von 0,13 allerdings als nicht statistisch signifikant.

	pIMHA	sIMHA
Pulsfrequenz (Schläge/min.)		
Min.-Max.	80 – 200	80 – 172
Mittelwert	137,3	131,9
Median	140	136

	pIMHA		sIMHA	
Atemfrequenz (Züge/min.)				
Min.-Max.	16 – 80		24 – 100	
Mittelwert	40		52,9	
Median	38		50	
Körperinnentemperatur (in °C)				
Min.-Max.	36,5 – 41,0		37,8 – 40,1	
Mittelwert	38,8		38,9	
Median	38,8		38,8	
Allgemeinbefinden	n	%	n	%
ungestört	27	30	12	46
geringgradig gestört	11	12	3	12
gering- bis mittelgradig gestört	5	6	1	4
mittelgradig gestört	24	27	6	23
mittel- bis hochgradig gestört	3	3	1	4
Allgemeinbefinden	n	%	n	%
hochgradig gestört	20	22	3	12

Tabelle 17: Vitalparameter

Die in der klinischen Untersuchung erhobenen Befunde (Tabelle 18) zeigten in beiden Gruppen eine sehr ähnliche Verteilung. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Populationen konnten nicht festgestellt werden.

Befund	pIMHA		sIMHA		p-Wert
	n	%	n	%	
Tachykardie	6	7	1	4	0,59

Befund	pIMHA		sIMHA		p-Wert
	n	%	n	%	
Husten	6	7	1	4	0,59
Splenomegalie	11	12	2	8	0,52
Hecheln	16	18	6	23	0,54
Lymphadenomegalie	23	26	8	31	0,60
Verschärfte Lungenauskultation	24	27	8	31	0,68
Herzgeräusch	27	30	3/24	13	0,08
Fieber/Hyperthermie	30	33	8	31	0,81
Ikterus	39	43	10	39	0,66
Dehydratation	53	59	10	39	0,07
Tachypnoe	53	59	18	69	0,08
Anämiepulss	61	68	16/23	70	0,87
Blasse Schleimhäute	77	86	22	85	0,90

Tabelle 18: Befunde der klinischen Untersuchung

Auskultatorisch fiel bei insgesamt 26 % der Patienten (30/114) ein Herzgeräusch auf, wobei Hunde mit pIMHA mit 30 % (27/90) mehr als doppelt so häufig betroffen waren wie Hunde mit sIMHA (3/24; 13 %). Die Herzgeräusche wurden hierbei ausnahmslos als systolische Geräusche klassifiziert. Eine Graduierung der Lautstärke des Herzgeräusches erfolgte in 83 % (25/30) der Fälle. 80 % der Hunde mit vollständig klassifiziertem Herzgeräusch (20/25) wiesen ein Systolikum Grad 1-3/6 auf, sodass in diesen Fällen ein funktionelles Herzgeräusch im Rahmen der bestehenden Anämie gut möglich ist.

3.2.4 Labordiagnostik

3.2.4.1 Hämatologie

Die Ergebnisse der hämatologischen Untersuchung finden sich vergleichend für beide Gruppen in Tabelle 19. Bei Vorliegen eines manuellen Differentialblutbildes flossen die daraus resultierten korrigierten Zahlen in die Auswertung mit ein.

Statistisch signifikante Unterschiede (p-Wert < 0,05) zwischen den beiden Gruppen konnten für die Anzahl an Lymphozyten und Erythrozyten, den Hämatokrit sowie den gemessenen Hämoglobingehalt festgestellt werden. So wiesen Hunde mit pIMHA höhere Lymphozytenzahlen, eine geringere Anzahl an Erythrozyten, einen niedrigeren Hämatokrit und einen niedrigeren gemessenen Hämoglobinwert auf.

Parameter	pIMHA	sIMHA	p-Wert
	Min.-Max. (Median)	Min.-Max. (Median)	
WBC ($10^9/l$)	3,7 – 99,8 (24,1)	8,9 – 146,7 (25,3)	0,99
Neutrophile absolut ($10^9/l$)	1,5 – 74,9 (17,6)	5,9 – 50,1 (19,5)	0,66
Stabkernige absolut ($10^9/l$)	n=51 (57%) 0 – 15,3 (1,7)	n=17 (65%) 0 – 11,0 (1,1)	0,52
Lymphozyten ($10^9/l$)	0,3 – 26,0 (2,2)	0,6 – 4,4 (1,5)	0,02
Monozyten ($10^9/l$)	0 – 16,0 (1,4)	0,3 – 5,8 (1,0)	0,23
Eosinophile ($10^9/l$)	n=89 (99%) 0 – 5,6 (0,1)	0 – 1,4 (0,1)	0,84
Basophile ($10^9/l$)	n=89 (99%) 0 – 0,6 (0)	0 – 0,04 (0)	0,20
RBC ($10^{12}/l$)	0,1 – 3,7 (2,0)	1,0 – 4,5 (2,5)	0,01

Parameter	pIMHA	sIMHA	p-Wert
	Min.-Max. (Median)	Min.-Max. (Median)	
Hämoglobingehalt (mmol/l)	1,3 – 8,7 (3,5)	1,4 – 8,7 (4,8)	0,003
Hämoglobingehalt berechnet (mmol/l)	n=55 (61%) 1,3 – 6,9 (3,1)	n=18 (69%) 1,1 – 6,7 (3,9)	0,11
Hkt. (l/l)	0,01 – 0,3 (0,15)	0,1 – 0,3 (0,19)	0,02
Retikulozytenzahl absolut ($10^9/l$)	n=87 (97%) 2,3 – 802,3 (194)	16,5 – 484,9 (176,2)	0,63
MCV (fL)	59,7 – 99,4 (75,1)	56,6 – 88,5 (74,7)	0,83
RDW (%)	n=89 (99%) 11,6 – 40,1 (19,0)	12,4 – 40,8 (18,5)	0,83
MCH (fmol/l)	n=89 (99%) 1,1 – 18,9 (1,8)	1,3 – 6,2 (1,8)	0,69
MCH berechnet (fmol/l)	n=54 (60%) 1,1 – 9,6 (1,5)	n=17 (65%) 1,1 – 5,0 (1,5)	0,74
MCHC (mmol/l)	16,5 – 260,6 (24,1)	19,0 – 69,6 (24,7)	0,39
MCHC berechnet (mmol/l)	n=55 (61%) 16,0 – 212,5 (20,1)	n=18 (69%) 17,2 – 56,0 (20,0)	0,88
PLT ($10^9/l$)	56 – 842 (282,0)	52 – 813 (193,0)	0,07

Tabelle 19: Hämatologie

Eine Leukozytose mit Neutrophilie wiesen 77 % (69/90) der Hunde mit pIMHA und 73 % (19/26) der Hunde mit sIMHA auf. Eine zusätzliche Linksverschiebung lag in 46 % (41/90 pIMHA) bzw. 58 % (15/26 sIMHA) der Fälle vor. Eine Thrombopenie von

< $150 \times 10^9/l$ konnte in der initialen Blutuntersuchung bei 23% (21/90) der pIMHA-Patienten sowie bei 27 % (7/26) der sIMHA-Patienten festgestellt werden.

Der Schweregrad der bestehenden Anämie eingeteilt nach Tvedten²⁰⁶ ist für beide Studienpopulationen in Abbildung 7 dargestellt. Während 77% der Hunde mit pIMHA (69/90) eine schwere bis sehr schwere Anämie aufwiesen, waren es in der sIMHA-Gruppe lediglich 58 % (15/26).

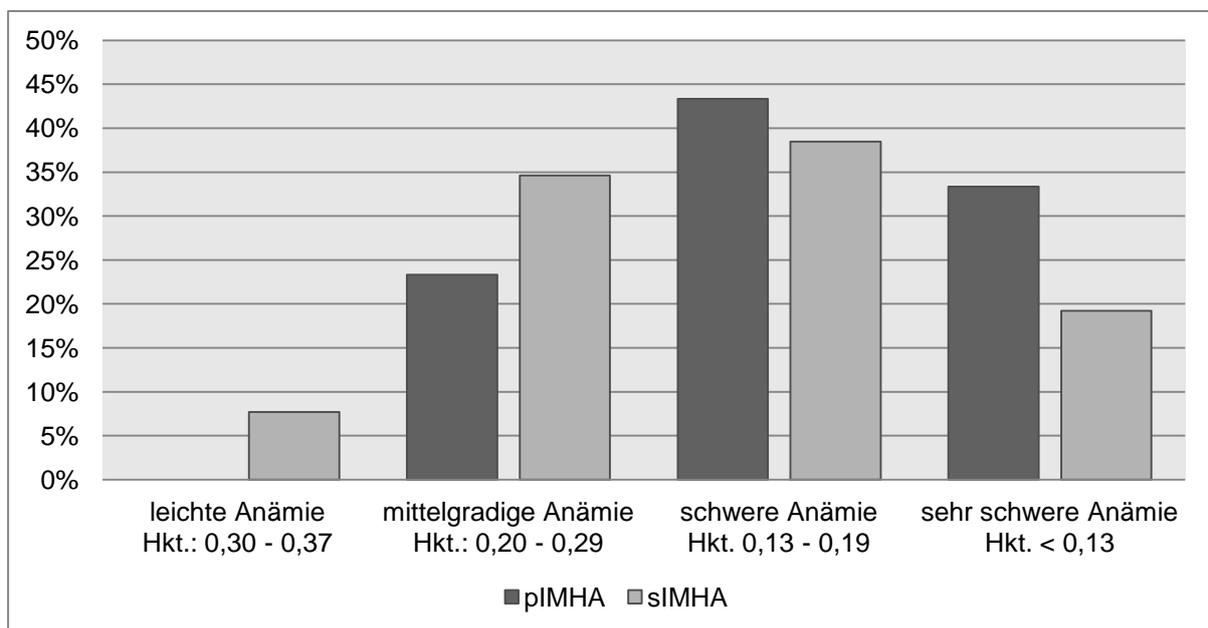


Abbildung 7: Klassifikation der Anämie nach ihrem Schweregrad²⁰⁶

Eine regenerative Anämie mit einer Retikulozytenzahl $> 60 \times 10^9/l$ lag initial bei 86 % der Hunde mit pIMHA (75/87) sowie bei 85% der Hunde mit sIMHA (22/26) vor. Bei drei Hunden mit pIMHA war initial keine Retikulozytenzählung erfolgt. Eine ausgeprägte Retikulozytose von $> 500 \times 10^9/l$ ²¹⁹ wiesen lediglich acht Hunde mit pIMHA (9 %) auf.

Die Klassifikation der bestehenden Anämie anhand der Erythrozytenindices MCV und MCHC findet sich vergleichend für beide Gruppen in Abbildung 8. Mit einem Anteil von insgesamt 34 % (40/116) stellte die makrozytär-hypochrome Anämie den Großteil der diagnostizierten Anämien dar.

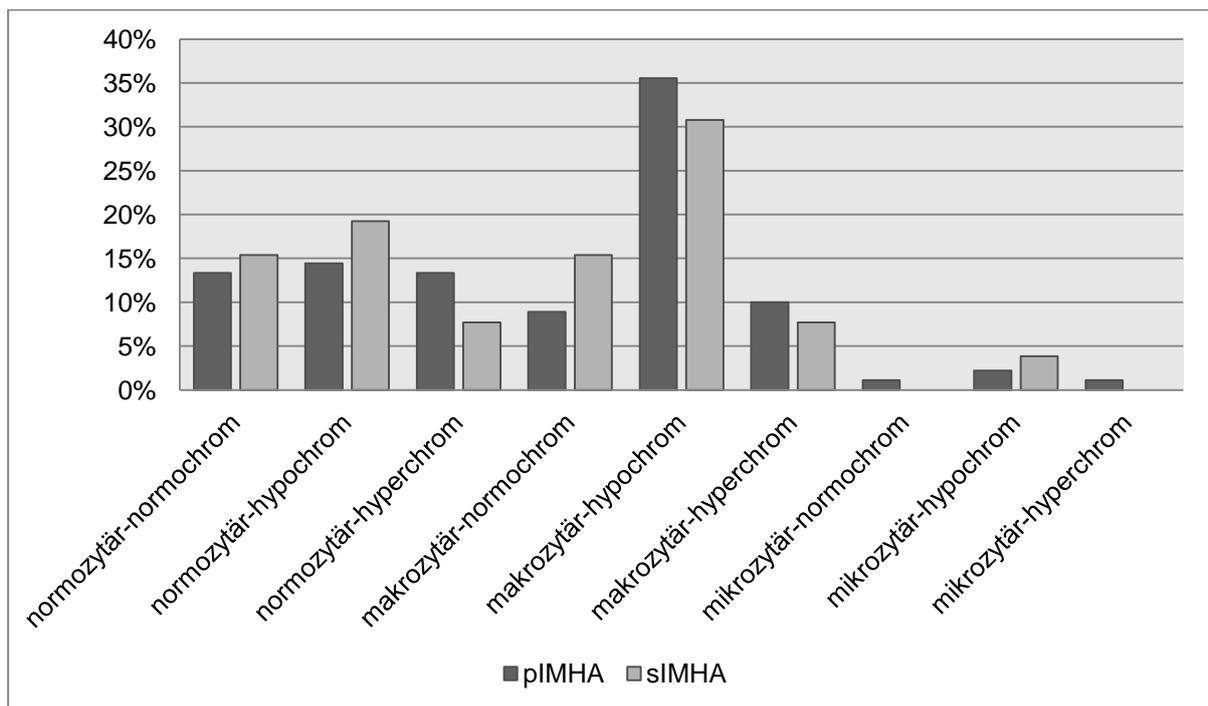


Abbildung 8: Klassifikation der Anämie anhand der Erythrozytenindices MCV und MCHC

3.2.4.2 Blutausstrich

Die mikroskopische Untersuchung eines Blutausstriches ergab eine gering- bis hochgradige Anisozytose bei 98 % (88/90; pIMHA) bzw. 100 % (sIMHA) der Hunde.

Ein vermehrtes Vorliegen (> 1 %) makrozytärer, hypochromer Erythrozyten (Polychromasie) als Ausdruck einer gesteigerten Erythropoese²¹⁹ konnte bei 94 % der Hunde mit pIMHA (85/90) sowie bei 96 % der an sIMHA erkrankten Hunde (25/26) festgestellt werden. Fünf Hunde mit pIMHA zeigten im Blutausstrich keine (n=2) bzw. lediglich vereinzelt polychromatische Erythrozyten (n=3). Retrospektiv erscheint bei zwei Hunden eine fehlende Regeneration im akuten Krankheitsstadium (< 5 Tage erkrankt) wahrscheinlich. Eine immunvermittelte Zerstörung auf Vorläuferebene konnte bei zwei weiteren Hunden anhand einer Knochenmarkuntersuchung bestätigt werden. Bei einem anderen Hund mit pIMHA wurde sie aufgrund einer nach elf Tagen weiterhin ausbleibenden Regeneration vermutet. Eine zytologische Untersuchung von Knochenmarkaspiraten wurde in diesem Fall nicht durchgeführt.

Lediglich ein Hund mit sIMHA wies im Blutausstrich weniger als 1 % Polychromatophile auf. Auch hier wurde die ungenügende Regeneration auf das Frühstadium der Erkrankung (zwei Tage) zurückgeführt.

Kernhaltige Erythrozyten (Normoblasten) fanden sich in der pIMHA-Gruppe bei 66 % (59/90), in der sIMHA-Gruppe bei 46 % der Hunde (12/26). Eine quantitative Angabe (Anzahl an Normoblasten pro 100 ausgezählter Leukozyten) lag in 57 % (51/90; pIMHA) bzw. 65 % (17/26; sIMHA) der Fälle vor. Die genauen Angaben sind in Tabelle 20 zusammengefasst. Im Vergleich beider Studienpopulationen zeigten Hunde mit pIMHA eine statistisch signifikant höhere Anzahl an Normoblasten. Darüber hinaus konnten bei 14 Hunden mit pIMHA (in jeweils drei Fällen vereinzelt, wenige sowie einige, in fünf Fällen zahlreiche Normoblasten) sowie bei einem Hund mit sIMHA (einige Normoblasten) in der Untersuchung von Blutausstrichen ohne Durchführung einer manuellen Zelldifferenzierung ebenfalls Normoblasten gefunden werden.

Parameter	pIMHA Min.-Max. (Median)	sIMHA Min.-Max. (Median)	p-Wert
Anzahl an Normoblasten pro 100 Leukozyten	n=51 0 – 176 (13)	n=17 0 – 17 (6)	0,01

Tabelle 20: Anzahl an Normoblasten

Eine Sphärozytose von mehr als 4 % (++) konnte im Blutausstrich bei insgesamt 78 % der Hunde (90/116; pIMHA: 78 %; sIMHA: 77%) detektiert werden. Die genauen Angaben finden sich in Tabelle 21. In Bezug auf den Grad der Sphärozytose ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p=0,77$). Dies galt auch für das Vorliegen von Sphärozyten allgemein ($p=0,54$).

Sphärozyten	keine		+		++		+++		++++		nicht auswertbar	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
pIMHA	10	11	6	7	11	12	24	27	35	39	4	4
sIMHA	4	15	2	8	4	15	9	35	7	27	0	0

Tabelle 21: Ausprägungsgrad der Sphärozytose

Bei fehlender oder ungenügender Sphärozytose ($\leq +$) bzw. unklarem Befund erfolgte die Diagnose der bestehenden Immunhämolyse anhand einer persistierenden Autoagglutination und/oder mit Hilfe eines positiven Coombs-Testes.

Weitere, seltener auftretende morphologische Erythrozytenveränderungen sind in Tabelle 22 zusammengefasst.

Morphologische Abweichungen	Skizze	Ursachen ⁷⁹	pIMHA			sIMHA		
			Grad	n	%	Grad	n	%
Echinozyten		<ul style="list-style-type: none"> - Artefakt - Schlangengiftintoxikation - Urämie - Glomerulonephritis - Neoplasien 	+	3	3	++	1	4
			++	5	6	+++	2	8
Akanthozyten		<ul style="list-style-type: none"> - Lebererkrankungen - Hämangiosarkom - DIC - Glomerulonephritis 	+	2	2	Keine		

Morphologische Abweichungen	Skizze	Ursachen ⁷⁹	pIMHA			sIMHA		
			Grad	n	%	Grad	n	%
Keratozyten		<ul style="list-style-type: none"> - Eisenmangelanämie - Lebererkrankungen - myelodysplastisches Syndrom 	<ul style="list-style-type: none"> + ++ +++ 	<ul style="list-style-type: none"> 3 2 2 	<ul style="list-style-type: none"> 3 2 2 	<ul style="list-style-type: none"> ++ 	<ul style="list-style-type: none"> 1 	<ul style="list-style-type: none"> 4
Stomatozyten		<ul style="list-style-type: none"> - Artefakt -hereditäre Stomatozytose 	<ul style="list-style-type: none"> + ++ +++ ++++ 	<ul style="list-style-type: none"> 2 2 1 1 	<ul style="list-style-type: none"> 2 2 1 1 	Keine		
Schistozyten (Fragmentozyten)		<ul style="list-style-type: none"> - DIC - schwere Eisenmangelanämie - Myelofibrose - Herzversagen - Glomerulonephritis - Hämolytisch-urämisches Syndrom - histiozytäre Erkrankungen - Hämangiosarkom - Vena-cava-Syndrom (Dirofilariose) - Dyserythropoese 	<ul style="list-style-type: none"> + ++ +++ 	<ul style="list-style-type: none"> 7 4 2 	<ul style="list-style-type: none"> 8 4 2 	<ul style="list-style-type: none"> + ++ 	<ul style="list-style-type: none"> 3 1 	<ul style="list-style-type: none"> 12 4
Knizozyten*		<ul style="list-style-type: none"> - regenerative Anämie - Eisenmangelanämie - Lebererkrankungen 	<ul style="list-style-type: none"> ++ 	<ul style="list-style-type: none"> 3 	<ul style="list-style-type: none"> 3 	<ul style="list-style-type: none"> + 	<ul style="list-style-type: none"> 1 	<ul style="list-style-type: none"> 4

Morphologische Abweichungen	Skizze	Ursachen ⁷⁹	pIMHA			sIMHA		
			Grad	n	%	Grad	n	%
Kodozyten (Targetzellen)*		<ul style="list-style-type: none"> - regenerative Anämie - Eisenmangelanämie - Lebererkrankungen - kongenitale Dyserythropoese 	+	6	7	++	4	15
			+++	10	11	+++	3	12
Exzentrozyten		<ul style="list-style-type: none"> - diabetische Ketoazidose - Entzündungen - Neoplasien (Lymphom) - Babesiose - oxidative Schäden (Zwiebeln, Knoblauch NSAIDs etc.) 	+	1	1	+	1	4
			++	5	6			
			+++	1	1			
			++++	1	1	++++	1	4
Pyknozyten		<ul style="list-style-type: none"> - oxidative Schäden (s. Exzentrozyten) 	+	1	1	Keine		
Elliptozyten (Ovalozyten)		<ul style="list-style-type: none"> - Myelofibrose - myelodysplastisches Syndrom - Glomerulonephritis 	+	1	1	Keine		
			++	1	1			
Dakryozyten		<ul style="list-style-type: none"> - Myelofibrose - Myeloische Neoplasien - Glomerulonephritis - Hypersplenismus 	+	1	1	Keine		
			++	1	1			

Morphologische Abweichungen	Skizze	Ursachen ⁷⁹	pIMHA			sIMHA		
			Grad	n	%	Grad	n	%
Ghosts		- intravaskuläre Hämolyse - Hämolyse in vitro	+	5	6			
			++	0	0			
			+++	3	3	+++	1	4
			++++	3	3			
Anulozyten		- Hypochromasie, z.B. infolge Eisenmangelanämie	+	1	1	+	1	4
			++	2	2			
			+++	1	1			
Howell-Jolly-Körperchen		- regenerative Anämie - Splenektomie - Glucocorticoid-Therapie - Chemotherapeutika	+	13	14	+	5	19
			++	27	30	++	8	31
			+++	10	11	+++	2	8
			++++	1	1			

Tabelle 22: Veränderungen der Erythrozytenmorphologie (*=Leptozyten)⁷⁹

3.2.4.3 Autoagglutination

Eine persistierende Autoagglutination konnte mittels Objektträgeragglutinationstest bei 57 % der Hunde mit pIMHA (51/90) sowie bei 42 % der Hunde mit sIMHA (11/26) nachgewiesen werden. Die Beobachtung erwies sich allerdings als nicht statistisch signifikant ($p=0,20$).

3.2.4.4 Klinische Chemie

Eine blutchemische Untersuchung wurde bei insgesamt 98 % der Patienten durchgeführt (114/116). Während bei einem Hund mit pIMHA auf Besitzerwunsch zum Zeitpunkt der Erstvorstellung auf eine klinische Chemie verzichtet wurde, konnte bei dem zweiten Hund (ebenfalls mit pIMHA) aufgrund der Vorstellung im Notdienst

mit progressiver Verschlechterung und Euthanasie am Folgetag keine blutchemische Untersuchung durchgeführt werden.

Die Resultate der blutchemischen Untersuchung sind in Tabelle 23 aufgeführt. Statistisch signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) ergaben sich lediglich für die Leberenzymwerte ALT und GLDH, welche bei den Hunden mit sIMHA jeweils höhere Werte aufwiesen.

Parameter	pIMHA	sIMHA	p-Wert
	Min.-Max. (Median)	Min.-Max. (Median)	
Harnstoff (mmol/l)	3,4 – 46,9 (7,8)	4,6 – 32,6 (9,1)	0,17
erhöht	67 %	46 %	
normal	33 %	54 %	
erniedrigt	0 %	0 %	
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	n=88 (98 %) 16 – 198 (53,5)	24 – 182 (58,0)	0,16
erhöht	3 %	8 %	
normal	49 %	58 %	
erniedrigt	48 %	35 %	
Natrium ionisiert (mmol/l)	n=89 (99 %) 135 – 159 (149,0)	138 – 155 (147,0)	0,24
erhöht	64 %	54 %	
normal	26 %	38 %	
erniedrigt	10 %	8 %	

Parameter	pIMHA Min.-Max. (Median)	sIMHA Min.-Max. (Median)	p-Wert
Chlorid (mmol/l)	n=85 (94 %) 100 – 133 (113,0)	n=25 (96 %) 99 – 127 (113,0)	0,77
erhöht	53 %	60 %	
normal	42 %	24 %	
erniedrigt	5 %	16 %	
Kalium ionisiert (mmol/l)	n=89 (99 %) 2,5 – 5,4 (3,6)	2,6 – 5,0 (3,6)	0,88
erhöht	17 %	23 %	
normal	48 %	54 %	
erniedrigt	35 %	23 %	
Calcium ionisiert (mmol/l)	n=83 (92 %) 1,0 – 1,5 (1,3)	n=25 (96 %) 1,1 – 1,5 (1,3)	0,43
erhöht	5 %	12 %	
normal	78 %	72 %	
erniedrigt	17 %	16 %	
Phosphat (mmol/l)	n=88 (98 %) 0,7 – 6,6 (1,5)	1,0 – 3,7 (1,6)	0,07
erhöht	7 %	19 %	
normal	92 %	81 %	
erniedrigt	1 %	0 %	

Parameter	pIMHA Min.-Max. (Median)	sIMHA Min.-Max. (Median)	p-Wert
Magnesium ionisiert (mmol/l)	n=20 (22 %) 0,4 – 0,6 (0,5)	n=10 (38 %) 0,4 – 0,7 (0,5)	0,29
erhöht	0 %	30 %	
normal	75 %	40 %	
erniedrigt	25 %	30 %	
Gesamteiweiß (g/l)	n=86 (96 %) 40,3 – 132,1 (68,9)	50,6 – 90,3 (67,4)	0,60
erhöht	51 %	38 %	
normal	45 %	50 %	
erniedrigt	5 %	12 %	
Albumin (g/l)	n=88 (98 %) 16,9 – 50,6 (28,2)	19,1 – 35,8 (27,7)	0,36
erhöht	5 %	0 %	
normal	28 %	31 %	
erniedrigt	67 %	69 %	
Globulin (g/l)	n=86 (96 %) 20,4 – 94,2 (38,9)	25,9 – 56,7 (38,3)	0,73
erhöht	72 %	69 %	
normal	27 %	31 %	
erniedrigt	1 %	0 %	

Parameter	pIMHA Min.-Max. (Median)	sIMHA Min.-Max. (Median)	p-Wert
Glukose (mmol/l)	n=85 (94 %) 0,1 – 9,1 (5,5)	n=25 (96 %) 1,0 – 34,4 (5,3)	0,82
erhöht	22 %	28 %	
normal	65 %	56 %	
erniedrigt	13 %	16 %	
Bilirubin gesamt (µmol/l)	n=89 (99 %) 1,0 – 969,4 (15,7)	1,6 – 790,6 (17,5)	0,60
erhöht	87 %	85 %	
normal	13 %	15 %	
erniedrigt	0 %	0 %	
Cholesterin (mmol/l)	n=87 (97 %) 2,8 – 11,8 (6,5)	3,7 – 12,9 (6,6)	0,91
erhöht	23 %	19 %	
normal	76 %	81 %	
erniedrigt	1 %	0 %	
Triglyceride (mmol/l)	n=85 (94 %) 0,3 – 13,0 (0,9)	0,3 – 6,4 (1,3)	0,15
erhöht	62 %	69 %	
normal	38 %	31 %	
erniedrigt	0 %	0 %	

Parameter	pIMHA Min.-Max. (Median)	sIMHA Min.-Max. (Median)	p-Wert
AP (U/l)	n=87 (97 %) 26 – 1459 (165,0)	47 – 5732 (266,0)	0,05
erhöht	67 %	73 %	
normal	33 %	27 %	
erniedrigt	0 %	0 %	
ALT (U/l)	n=86 (96 %) 1 – 5825 (49,0)	22 – 1054 (83,5)	0,02
erhöht	32 %	46 %	
normal	68 %	54 %	
erniedrigt	0 %	0 %	
GLDH (U/l)	n=86 (96 %) 0 – 356 (4,0)	0 – 160 (6,5)	0,04
erhöht	22 %	46 %	
normal	78 %	54 %	
erniedrigt	0 %	0 %	
Creatinkinase	n=23 (26 %) 35 – 4659 (132,0)	n=12 (46 %) 41 – 8550 (180,0)	0,49
erhöht	48 %	67 %	
normal	52 %	33 %	
erniedrigt	0 %	0 %	

Parameter	pIMHA	sIMHA	p-Wert
	Min.-Max. (Median)	Min.-Max. (Median)	
Laktat (mmol/l)	n= 40 (44 %)	n=11 (42 %)	0,56
	0,7 – 12,6 (2,9)	0,8 – 6,2 (3,4)	
erhöht	58 %	55 %	
normal	43 %	45 %	
erniedrigt	0 %	0 %	

Tabelle 23: Klinische Chemie

3.2.4.5 Harnstatus

Eine Urinuntersuchung aufgrund einer vorberichtlich beschriebenen Verfärbung des Urins bzw. einer bestehenden Polyurie/Polydipsie wurde bei 42 % (38/90) der Hunde mit pIMHA sowie bei 38 % der Hunde mit sIMHA (10/26) eingeleitet.

Das spezifische Harngewicht lag hierbei zwischen 1003 und ≥ 1050 (Median: 1030; pIMHA) bzw. zwischen 1008 und ≥ 1050 (Median: 1025; sIMHA). Die genaue Verteilung der Patienten sowie eine eventuell ursächlich zugrunde liegende Vorbehandlung mit Glucocorticoiden zeigt Tabelle 24.

Im Fall der mit einem spezifischen Harngewicht von 1003 bestehenden Hyposthenurie bei einem Hund mit pIMHA lag ursächlich neben einer Vorbehandlung mit Glucocorticoiden eine juvenile Vaginitis zugrunde.

Spezifisches Gewicht ¹²	> 1030		Hypersthenurie 1013-1029		Isosthenurie 1008-1012		Hyposthenurie ≤ 1007	
	n	%	n	%	n	%	n	%
pIMHA	20	53	11	29	6	16	1	3
vorberichtlich Glucocorticoide	0	0	7	64	3	50	1	100
sIMHA	4	40	5	50	1	10	0	0
vorberichtlich Glucocorticoide	0	0	0	0	1	100	0	0

Tabelle 24: Spezifisches Harngewicht sowie eventuelle Vorbehandlung mit Glucocorticoiden

Eine ausgeprägte (mittel- bis hochgradige) Bilirubinurie infolge der bestehenden Hämolyse konnte mittels Harnteststreifen bei 63 % (24/38; pIMHA) bzw. 60 % (6/10; sIMHA) der Hunde festgestellt werden. Darüber hinaus zeigten 61 % (23/38; pIMHA) bzw. 70 % (7/10; sIMHA) eine positive Blut-/ Hämoglobinreaktion.

Die mikroskopische Evaluation eines Harnsediments u.a. zur Differenzierung einer Hämoglobinurie von einer möglichen Hämaturie erfolgte im Anschluss bei 79 % (30/38) der Hunde mit pIMHA und bei 80 % (8/10) der sIMHA-Patienten. Hinweise auf eine Hämoglobinurie (positive Blut-/Hämoglobinreaktion im Harnteststreifen, keine Erythrozyten in der Sedimentuntersuchung) ergaben sich bei 11/30 Hunden mit pIMHA (37 %), sowie bei 3/10 Hunden mit sIMHA (30 %). Bei 7/23 Hunden mit pIMHA (30 %) sowie 2/7 Hunden mit sIMHA (29 %) mit positiver Blut-/Hämoglobinreaktion im Harnteststreifen wurde allerdings keine Sedimentuntersuchung durchgeführt. Eine Hämaturie mit mehr als fünf Erythrozyten pro Hauptgesichtsfeld konnte lediglich bei jeweils zwei Hunden mit pIMHA (7 %) bzw. sIMHA (25 %) festgestellt werden.

Eine mittel- bis hochgradige Proteinurie ohne gleichzeitig bestehende Hämaturie lag bei 16 Hunden mit pIMHA (42 %) bzw. fünf Hunden mit sIMHA (50 %) vor. Zur

genauen Quantifizierung einer detektierten Proteinurie wurde lediglich bei drei Hunden mit pIMHA (8 %) sowie bei zwei Hunden mit sIMHA (20 %) ein Urin-Protein-Kreatinin-Quotient bestimmt. Dieser lag bei zwei Hunden mit pIMHA mit 0,7 und 1 über dem oberen Referenzbereich von 0,2. Allerdings handelt es sich hierbei um einmalige Messungen. Die gemessenen UPC-Werte der sIMHA-Patienten waren mit 0,9 und 6,7 ebenfalls gering- bzw. hochgradig erhöht. Während bei dem ersten Patienten ursächlich eine Leishmanieninfektion diagnostiziert wurde, wurde bei dem zweiten Patienten, einem Berner Sennenhund mit Gallengangskarzinom und Polyarthrit, eine immunmedierte Glomerulonephritis diskutiert.

Eine zusätzliche bakteriologische Urinuntersuchung wurde lediglich bei zwölf Hunden mit pIMHA (13 %) sowie drei Hunden mit sIMHA (12 %) durchgeführt und verlief in allen Fällen negativ.

3.2.4.6 PT/aPTT

Eine Bestimmung der Prothrombinzeit (PT) sowie der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) zum Ausschluss einer blutungsbedingten Anämie infolge einer Gerinnungsstörung bzw. zur weiteren Abklärung einer möglichen DIC erfolgte bei 27 Hunden mit pIMHA (30 %) sowie bei elf Hunden mit sIMHA (42 %). Die Patienten, bei denen Abweichungen vom Referenzwert gefunden wurden, sind in Tabelle 25 zusammengefasst. Signifikant verlängerte Blutgerinnungszeiten mit einer Verlängerung von mehr als 25 % des oberen Referenzwertes¹⁹² wiesen insgesamt acht Hunde mit pIMHA (30 %) und drei Hunde mit sIMHA (27 %) auf. Während bei 7/11 Hunden eine reine aPTT-Verlängerung auffiel, zeigten je 2/11 Hunden eine singular verlängerte PT bzw. eine gleichzeitige Verlängerung von PT und aPTT. Bei beiden Hunden mit verlängerter PT und aPTT konnte eine pIMHA diagnostiziert werden. Während einer der Hunde bereits am Abend des Vorstellungstages in Agonie euthanasiert werden musste (Nr. 72), wurde der zweite Hund am Folgetag eingeschläfert (Nr. 85). In der anschließenden Obduktion von Hund Nr. 72 konnten multiple Thromben in verschiedenen Organen (Leber, Herz, Lymphknoten, Niere und Gehirn) nachgewiesen werden.

Eine geringgradig verkürzte Prothrombinzeit konnte bei insgesamt acht Hunden (22 %) festgestellt werden (je vier Hunde pro Gruppe), wobei dies in 7/8 Fällen (88%) unter Verwendung des Koagulometer Amelung® geschah.

pIMHA			
Pat.-Nr.	PT (sec.)	aPTT (sec.)	Gerät
3	6,2	11,6	Amelung
4	6,9	11,9	Amelung
8	7,7	10,6	Amelung
20	7,9	15,2	Amelung
29	6,8	10,6	Amelung
34	6,5	13,4	Amelung
36	5,3	11,3	Amelung
37	6,3	11,2	Amelung
42	7,6	13,6	Amelung
49	7,6	14,3	Amelung
52	5,6	11,1	Amelung
53	10,7	13	STA
63	13,5	8,9	STA
64	8,7	13,1	STA
69	14	120	Coag Dx
72	16,5	22,9	STA

sIMHA			
Pat.-Nr.	PT (sec)	aPTT (sec.)	Gerät
1	7,7	16,4/16,6	Amelung
2	7	12,1	Amelung
3	5,1	9,3	Amelung
6	5,5	12	Amelung
7	8	14,4	Amelung
12	6,2	15	Amelung
14	8,3	11,8	STA
21	8,9	14,5	STA
24	9	103	Coag Dx

pIMHA			
Pat.-Nr.	PT (sec.)	aPTT (sec.)	Gerät
85	11,2	26,1	STA
86	14	107	Coag Dx

Tabelle 25: Abweichende Blutgerinnungszeiten (PT, aPTT) (Amelung = Koagulometer Amelung®, STA = STA Compact®, CoagDx= IDEXX Coag DX™)

3.2.4.7 TEG

Ein Thrombelastogramm (TEG) als globaler Gerinnungstest wurde bei fünf Hunden mit pIMHA (6 %) sowie bei drei Hunden mit sIMHA (12 %) durchgeführt. Insgesamt wiesen 6/8 der angefertigten TEGs eine erhöhte Maximalamplitude als Anzeichen einer gesteigerten Blutgerinnung auf. Ein Hund mit sIMHA zeigte zusätzlich Veränderungen im Sinne einer gesteigerten Fibrinolyse. Eine verlängerte Reaktionszeit als Hinweis auf eine Hypokoagulabilität war bei einem pIMHA-Patienten im TEG ablesbar. Ein Normalbefund konnte lediglich bei einem Hund mit sIMHA erhoben werden.

3.2.4.8 D-Dimere

Zur Verifizierung einer möglichen DIC wurden ab dem Jahr 2008 im Einzelfall zusätzlich D-Dimere aus heparinisiertem Vollblut bestimmt. In der Gruppe der Hunde mit sIMHA wurden drei Hunde getestet (12 %). Zwei Hunde (67 %) zeigten einen Wert oberhalb des Referenzbereiches, bei einem Hund war der Test aufgrund der ausgeprägten Hämolyse nicht durchführbar. Von vier getesteten Hunden mit pIMHA (4 %) wiesen zwei Hunde deutlich erhöhte D-Dimere auf. Bei einem der Patienten war eine Bestimmung der D-Dimere aufgrund der ausgeprägten Hämolyse ebenfalls nicht möglich.

pIMHA		sIMHA	
Patienten-Nr.	D-Dimere (µg/dl)	Patienten-Nr.	D-Dimere (µg/dl)
53	1,1	19	0,3
55	< 0,1	21	nicht messbar
85	nicht messbar	22	0,79
87	0,76		

Tabelle 26: D-Dimere

3.2.4.9 Entzündungsparameter (Fibrinogen, Blutsenkung, CRP)

Die Bestimmung des Fibrinogenwertes aus Citratplasma erfolgte in der Gruppe der pIMHA-Patienten bei 6/90 Hunden und in der Gruppe der sIMHA-Patienten bei 2/26 Hunden. Der Befund einer Hyperfibrinogenämie als Ausdruck der systemischen Entzündungsreaktion oder im Rahmen einer bestehenden Dehydratation¹⁹³ konnte bei 6/8 Hunden erhoben werden (75 %). Erniedrigte Fibrinogenwerte traten bei keinem der gemessenen Patienten auf.

Die Blutsenkung wurde bei insgesamt 5/116 Hunden, der CRP-Wert bei 8/116 Hunden gemessen. Während 80% der getesteten Hunde (4/5) eine erhöhte Blutsenkung aufwiesen, lag ein CRP-Wert über dem Referenzbereich bei 63 % (5/8) der Hunde vor. Die exakten Werte der gemessenen Entzündungsparameter sind in Tabelle 27 zusammengefasst.

Parameter	pIMHA		sIMHA	
	Patienten-Nr.	Messwert	Patienten-Nr.	Messwert
1) Fibrinogen (g/l)	29	4,75 ^{a)}	14	8,45 ^{b)}
	32	2,7 ^{a)}		

Parameter	pIMHA		sIMHA	
	46	2,6 ^{a)}	22	3,53 ^{b)}
	58	6,93 ^{b)}		
	64	8,02 ^{b)}		
	72	3,76 ^{b)}		
2) Blutsenkung (mm/30 min.)	29	40	14	erhöht (nicht eindeutig ablesbar)
	32	> 130		
	53	> 130		
	64	> 130		
3) C-reaktives Protein (mg/l)	61	24,6	14	3,9
	64	41,7	19	57,5
	82	41,7	20	53,6
	83	9,1	23	0,1

Tabelle 27: Entzündungsparameter (^{a)} Koagulometer Amelung®, ^{b)} STA Compact®, CoagDx= IDEXX Coag DX™)

3.2.4.10 Coombs-Test

Ein direkter Coombs-Test wurde in insgesamt 21 % der Fälle durchgeführt (24/116). In der Gruppe der Hunde mit pIMHA wurden 18 % (16/90), in der Gruppe der sIMHA-Patienten 31 % (8/26) der Tiere auf das Vorliegen antierythrozytärer Antikörper getestet. Die Testergebnisse finden sich in Abbildung 9.

Ein auswertbares Testergebnis lag bei 96 % (23/24) der Hunde vor. Bei einem Hund konnte der Coombs-Test aufgrund einer Kompletthämolyse der Blutprobe nicht durchgeführt werden. Die Diagnose einer bestehenden Immnhämolyse wurde in

diesem Fall anhand einer persistierenden Objektträgeragglutination sowie einer auffälligen Sphärozytose (ca. 60 %) gestellt.

Bei einem als positiv klassifizierten Coombs-Test erfolgte keine weitere Differenzierung der nachgewiesenen antierythrozytären Antikörper durch das jeweilige Labor.

Insgesamt verlief der Coombs-Test in 70 % (16/23) der untersuchten und auswertbaren Fälle positiv. Ein negatives Ergebnis, welches anhand der weiterführenden Untersuchungen als falsch-negativ eingestuft werden muss, lag in 30 % der Fälle vor (7/23).

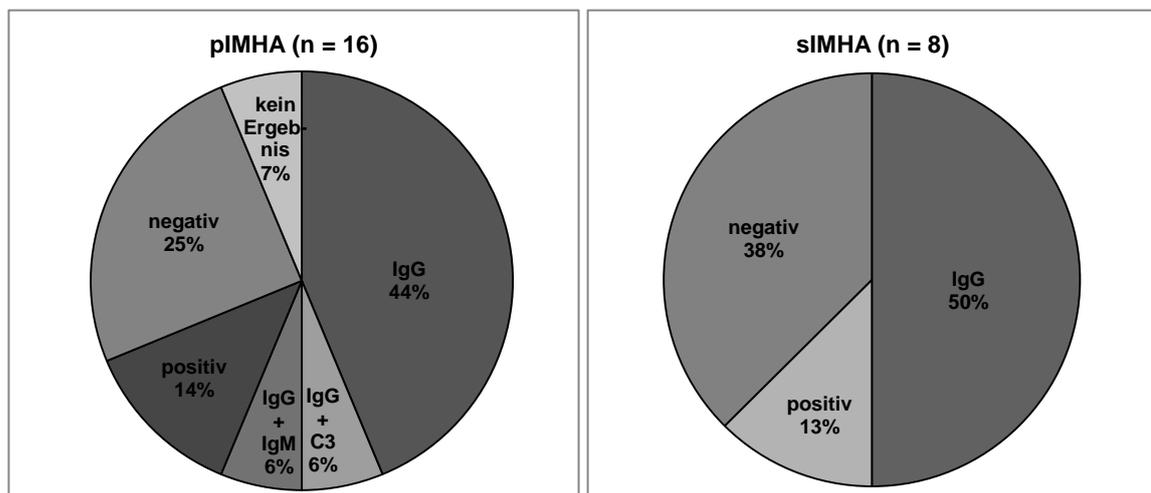


Abbildung 9: Coombs-Test-Resultate

3.2.4.11 Infektionserkrankungen

Da verschiedene Infektionserkrankungen als Ursache einer IMHA in Frage kommen, wurden in Abhängigkeit von Anamnese (Auslandsaufenthalt, Zeckenbefall etc.) und klinischer Symptomatik in einer Vielzahl von Fällen Tests auf in Frage kommende Infektionserreger durchgeführt. Die Resultate dieser Untersuchungen finden sich in den Tabellen 28 und 29.

pIMHA	getestet		positiv		negativ	
	n	%	n	%	n	%
Anaplasmen-AK	8	9	3	38	5	63
Anaplasmen-PCR	32	36	0	0	32	100
Babesien-AK	15	17	0	0	15	100
Babesien-PCR	55	61	0	0	55	100
Dirofilarien-Ag	2	2	0	0	2	100
Mikrofilarien-Ag (Knott-Test)	1	1	0	0	1	100
Ehrlichien-AK	10	11	0	0	10	100
Ehrlichien-PCR	14	16	0	0	14	100
Leishmanien-AK	9	10	0	0	9	100
Leishmanien-PCR	1	1	0	0	1	100
Leptospiren-AK	9	10	1	11	8	89
Leptospiren-PCR	4	4	0	0	4	100

Tabelle 28: Resultate der Untersuchungen auf Infektionserreger bei Hunden mit pIMHA (AK = Antikörper-Titer, Ag = Antigen-Nachweis, PCR = DNA-Nachweis mittels Polymerase-Kettenreaktion)

Bezüglich der drei Patienten mit pIMHA und positivem Anaplasmen-AK-Titer ist anzumerken, dass bei zwei Hunden die im Anschluss durchgeführte PCR negativ verlief, weshalb eine akute Infektion ausgeschlossen werden konnte. Der dritte Patient wies lediglich einen geringgradig erhöhten Antikörper-Titer von 1:80 auf. Aus diesem Grund und unter Berücksichtigung der relativ hohen Seroprävalenz der Erkrankung in Deutschland von bis zu 50,1 %¹³ auch bei klinisch unauffälligen Tieren⁹¹ erschien eine Anaplasmosen als auslösende Ursache der IMHA im konkreten

Fall unwahrscheinlich. Bei einem der getesteten Hunde ergab sich außerdem ein positiver Antikörper-Titer gegen *Leptospira icterohaemorrhagiae* im Mikroagglutinationstest (1:400). Da der Hund jedoch drei Monate zuvor geimpft worden war, wurde der positive Befund in diesem Fall auf die Impfung zurückgeführt.

sIMHA	getestet		positiv		negativ	
	n	%	n	%	n	%
Anaplasmen-AK	5	19	2	40	3	60
Anaplasmen-PCR	10	38	0	0	10	100
Babesien-AK	7	27	1	14	6	86
Babesien-PCR	12	46	0	0	12	100
Borrelien-AK	3	12	0	0	3	100
Dirofilarien-Ag	4	15	0	0	4	100
Ehrlichien-AK	8	31	0	0	8	100
Ehrlichien-PCR	6	23	0	0	6	100
Leishmanien-AK	6	23	2	33	4	67
Leptospiren-AK	2	8	0	0	2	100
<i>Mycoplasma-haemocanis</i> -PCR	1	4	0	0	1	100

Tabelle 29: Resultate der Untersuchungen auf Infektionserreger bei Hunden mit sIMHA (AK = Antikörper-Titer, Ag = Antigen-Nachweis, PCR = DNA-Nachweis mittels Polymerase-Kettenreaktion)

Im Fall der Hunde mit sIMHA und positivem Anaplasmen-Antikörper-Titer verlief die ebenfalls eingeleitete PCR-Untersuchung in beiden Fällen negativ. Ein akutes

Infektionsgeschehen als auslösende Ursache der bestehenden IMHA erschien somit unwahrscheinlich.

Eine IMHA infolge einer Infektion mit *Babesia canis* konnte bei insgesamt zwei Hunden diagnostiziert werden. Während ein Hund einen positiven Antikörper-Titer aufwies, konnten in einem anderen Fall die Erreger bereits im Blutaussstrich nachgewiesen werden.

Bei zwei weiteren Hunden mit entsprechender Auslandsanamnese konnte außerdem eine Leishmanieninfektion als potentiell auslösende Ursache gefunden werden. Beide Hunde zeigten einen entsprechend positiven Leishmanien-Antikörper-Titer.

3.2.4.12 Knochenmarkuntersuchung

Zur weiteren Abklärung einer zugrunde liegenden Knochenmarkerkrankung sowie zum Nachweis einer aregenerativen immunvermittelten Anämie auf Knochenmarkebene erfolgte bei 13 Hunden mit pIMHA (14 %) und bei zwei Hunden mit sIMHA (8 %) eine zytologische Knochenmarkuntersuchung. Der häufigste Befund war eine erythroide Hyperplasie, welche bei 9/13 Hunden mit pIMHA sowie bei 2/2 untersuchten Hunden mit sIMHA diagnostiziert werden konnte. Alle weiteren Untersuchungsergebnisse finden sich in Abbildung 10.

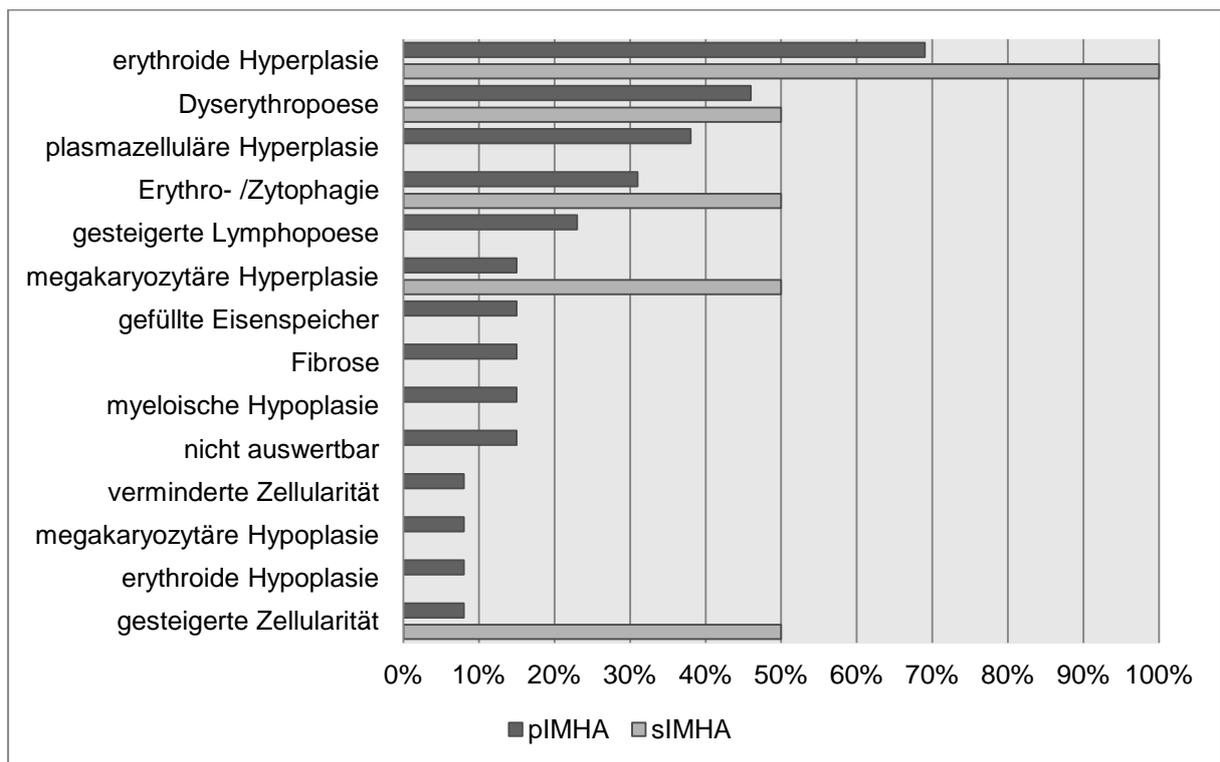


Abbildung 10: Befunde der Knochenmarkuntersuchung

3.2.5 Bildgebung

Röntgenaufnahmen des Thorax wurden in der Gruppe der Hunde mit pIMHA in 76 % (68/90), in der sIMHA-Gruppe in 81 % (21/26) der Fälle angefertigt. Während bei den Hunden mit sIMHA eine röntgenologische Untersuchung des Thorax zur Diagnosestellung nicht immer notwendig war, waren häufige Gründe für fehlende Thoraxaufnahmen bei Patienten mit pIMHA neben einer fehlenden klinischen Indikation der finanzielle Aspekt, die Besitzercompliance oder das Allgemeinbefinden des Patienten bei Erstvorstellung. So zeigten sich 60 % (13/22) der Hunde mit pIMHA, bei denen keine röntgenologische Untersuchung des Thorax durchgeführt wurde, initial von \geq mittelgradig gestörtem Allgemeinbefinden, weshalb zunächst eine Stabilisation der Patienten erfolgte. 41 % (9/22) dieser Tiere verstarben, z.T. nach kurzer Zeit während des stationären Aufenthaltes. Bei ungestörtem bis geringgradig gestörtem Allgemeinbefinden und gutem Ansprechen auf die begonnene medikamentöse Therapie wurde nach individuellem Ermessen des behandelnden Tierarztes häufig ebenfalls keine Röntgenaufnahme des Brustkorbes durchgeführt.

Der häufigste Befund der röntgenologischen Untersuchung des Brustkorbes war eine Verdichtung der Lunge im Sinne einer vermehrt (broncho-)interstitiellen Lungenzeichnung. Sie lag bei insgesamt 73 % der Hunde (65/89) vor. 65 % der Hunde mit pIMHA (31/48) und 41 % der Hunde mit sIMHA (7/17) wiesen allerdings lediglich ein geringgradig vermehrt (broncho-)interstitielles Lungenmuster auf, welches in Abhängigkeit von Alter, Atemphase, Ernährungszustand etc. physiologisch sein kann.⁸¹ Darüber hinaus zeigten 37 % (pIMHA) bzw. 24 % (sIMHA) eine veränderte Herzkontur im Sinne einer milden Kardiomegalie und 22 % (pIMHA) bzw. 14 % (sIMHA) eine schmale Herzsilhouette und/oder schmale Gefäße im Rahmen einer bestehenden Hypovolämie.

Röntgenaufnahmen des Bauchraumes wurden in der pIMHA-Gruppe bei 51 % (46/90) und in der sIMHA-Gruppe bei 54 % der Hunde (14/26) angefertigt. Die häufigsten Veränderungen hier waren eine Hepatomegalie bei 70 % (pIMHA) bzw. 50 % (sIMHA) der Hunde gefolgt von einer Splenomegalie in 61 % (pIMHA) bzw. 29 % (sIMHA) der Fälle.

Im Rahmen der weiterführenden Diagnostik wurde im Anschluss bei 71 Hunden mit pIMHA (79 %) und bei 22 der sIMHA-Patienten (85 %) eine sonographische Untersuchung des Abdomens durchgeführt. Ein Normalbefund konnte hier bei 20 % (pIMHA) bzw. 5 % (sIMHA) der Hunde erhoben werden.

Zu den häufigsten Resultaten des Abdomenultraschalls zählten bei den Hunden mit pIMHA strukturelle Veränderungen von Leber (23/71; 32 %) und Milz (22/71; 31 %) im Sinne einer veränderten Echotextur und/oder Inhomogenität des jeweiligen Organs. Ähnliche Veränderungen waren in der sIMHA-Gruppe bei jeweils 50 % (je 11/22) der Hunde auffällig.

25 % der an pIMHA erkrankten Hunde (18/71) sowie 32 % der Hunde mit sIMHA (7/22) zeigten außerdem Auffälligkeiten im Bereich der Gallenblase (Gallenblasenwandödem, Gallenblasenschlick). Geringe bis mittlere Mengen an Aszites fanden sich bei 20 % (pIMHA) bzw. 23 % (sIMHA) der Patienten.

Bei den Hunden mit sIMHA trug der Abdomenultraschall – häufig in Kombination mit einer Entnahme zytologischer Proben – in 32 % der Fälle (7/22) zur kausalen

Diagnosestellung bei (Prostatakarzinom, Pankreatitis, Histiocytäres Sarkom, Gallengangskarzinom (je n=1), Neoplasie Milz (n=3)).

3.2.6 Therapie

Die zur Therapie der bestehenden Immunhämolyse eingesetzten Medikamente sowie die Häufigkeit ihrer Anwendung finden sich vergleichend für beide Gruppen in Abbildung 11.

Während in der Gruppe der an pIMHA erkrankten Hunde alle Tiere mit mindestens einem Immunsuppressivum behandelt wurden, gab es bei den Patienten mit sIMHA vier Hunde (15 %), die keine zusätzliche immunsuppressive Therapie erhielten. Bei einem dieser Hunde war die Behandlung der zugrunde liegenden Erkrankung (Pankreatitis) ausreichend. Drei weitere Hunde erlitten kurze Zeit nach Vorstellung ihrer Grunderkrankung (Lymphom Grad V, Pneumonie mit Sepsis und DIC, hochgradige chronische Gastritis, interstitielle Nephritis sowie Diabestes mellitus) bzw. wurden euthanasiert.

Insgesamt 16 Hunde mit pIMHA (18 %) erhielten initial als immunsuppressive Therapie ausschließlich eine Monotherapie mit Glucocorticoiden. 9/16 Hunden (56 %) zeigten ein gutes Ansprechen und konnten unter der begonnenen Therapie entlassen werden, wobei zwei Tiere im Verlauf der Erkrankung aufgrund eines Rezidivs zusätzlich mit Azathioprin behandelt wurden. Sieben Hunde (44 %) verstarben vor Einsatz eines weiteren Immunsuppressivum nach kurzem stationärem Aufenthalt oder wurden aufgrund ausbleibender Besserung euthanasiert.

Eine signifikante Korrelation zwischen medikamenteller Therapie und Überleben von Hunden mit IMHA konnte lediglich für Glucocorticoide nachgewiesen werden ($p=0,02$).

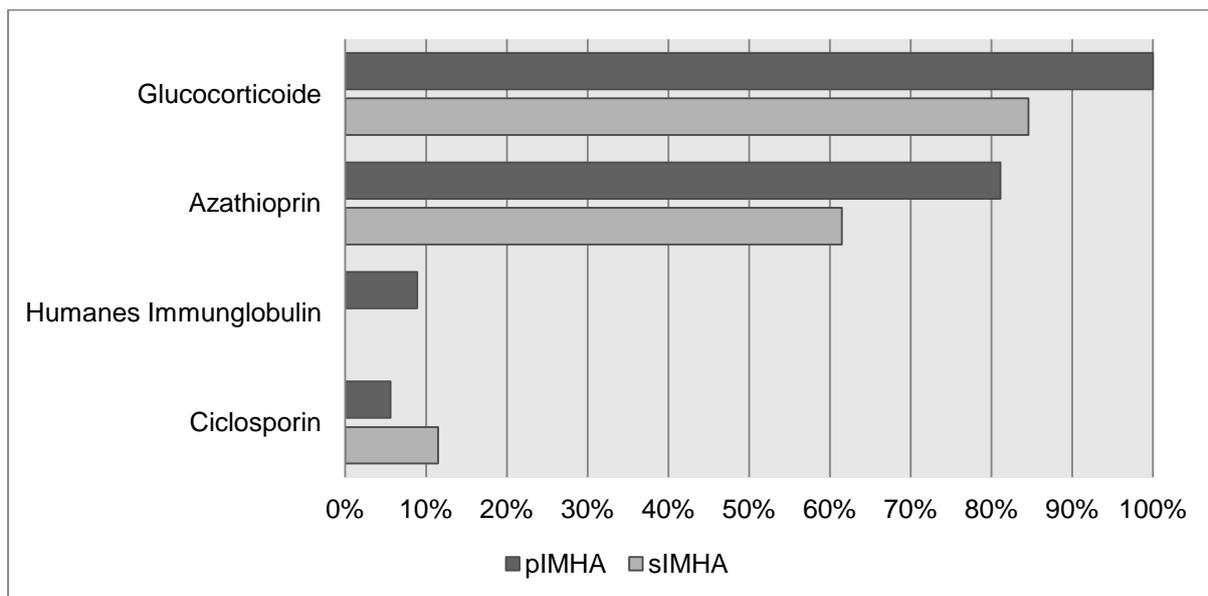


Abbildung 11: Medikamente zur Therapie der bestehenden Immunhämolyse

Einen Überblick über parallel verabreichte Präparate zur Thromboseprophylaxe gibt Abbildung 12. Je vier Hunde aus der Gruppe der an pIMHA (4 %) und sIMHA (15 %) erkrankten Tiere erhielten keine antithrombotische Therapie. Von diesen acht Hunden verstarben sechs Hunde (75 %) z.T. nach kurzer Zeit bzw. wurden euthanasiert. Allerdings wurde lediglich bei einer Hündin aufgrund einer akuten Lungenblutung der Verdacht einer DIC mit möglichen Thrombembolien geäußert. Eine histopathologische Untersuchung wurde in diesem Fall jedoch nicht durchgeführt.

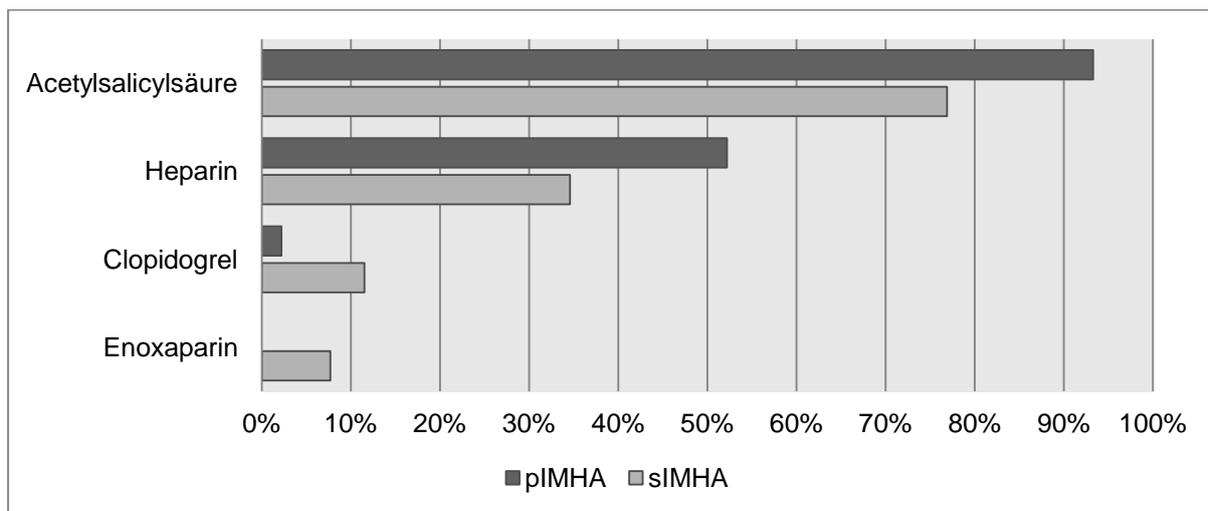


Abbildung 12: Medikamente zur Thromboseprophylaxe

Die Daten der zur Stabilisation der Patienten eingesetzten Blutprodukte sind in den Abbildungen 13 und 14 zusammengefasst. Während in der Gruppe der an pIMHA erkrankten Hunde 79 % (71/90) mindestens eine Transfusion (Blut und/oder Plasma) benötigten, waren es in der sIMHA-Gruppe 65 % (17/26). Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte diesbezüglich nicht festgestellt werden ($p=0,06$). Die Korrelation zwischen Überleben der Hunde und Anzahl der verabreichten Blutprodukte verlief für beide Gruppen positiv, erwies sich allerdings als nicht statistisch signifikant ($p=0,90$).

Insgesamt wurden in der pIMHA-Gruppe 100 Blutprodukte, in der sIMHA-Gruppe 31 Blutprodukte verabreicht. Auch diese Beobachtung stellte sich im Vergleich als nicht statistisch signifikant heraus ($p=0,72$).

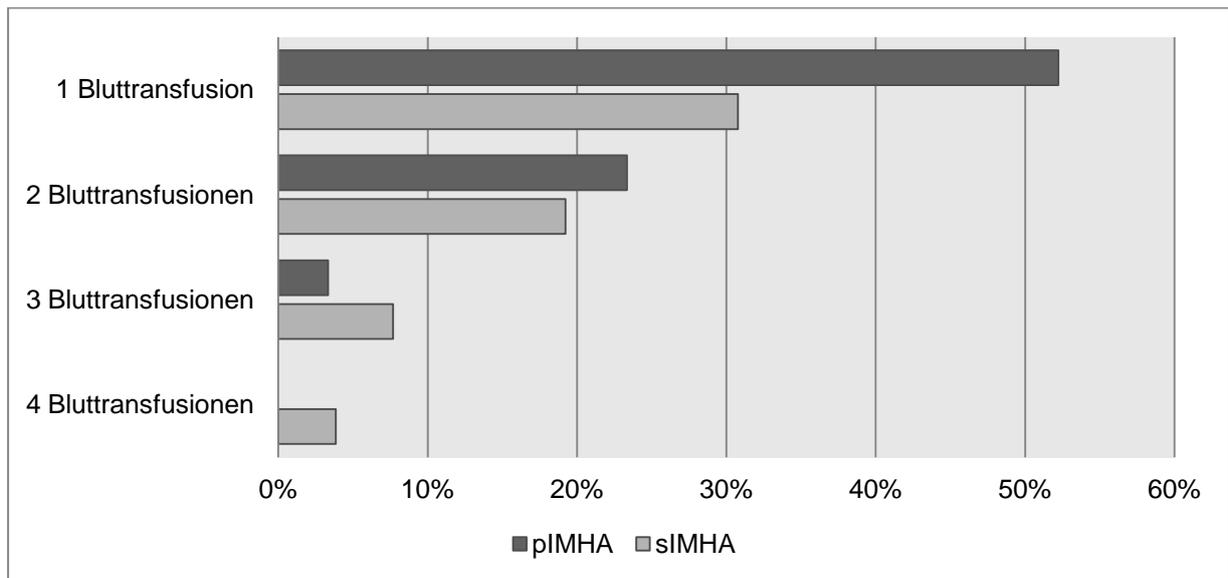


Abbildung 13: Anzahl der Bluttransfusionen

Das am häufigsten verwendete Blutprodukt war in beiden Gruppen Erythrozytenkonzentrat. Eine Plasmatransfusion wurde in der Gruppe der pIMHA-Patienten bei zwei (2 %), in der Gruppe der sIMHA-Patienten bei drei Hunden (12 %) durchgeführt. Der Unterschied zwischen den Gruppen erwies sich hierbei als statistisch signifikant ($p=0,04$). Während bei beiden Hunden mit pIMHA die Übertragung von Frischplasma aufgrund des Verdachts einer DIC erfolgte, war bei zwei Hunden mit sIMHA die Indikation eine bestehende Pankreatitis (in einem Fall sekundär zu einer bestehenden Babesiose) sowie bei einem Hund eine DIC sowie Pankreatitis in Kombination.

Zwei Hunde mit pIMHA erhielten zur Stabilisation außerdem Oxyglobin®.

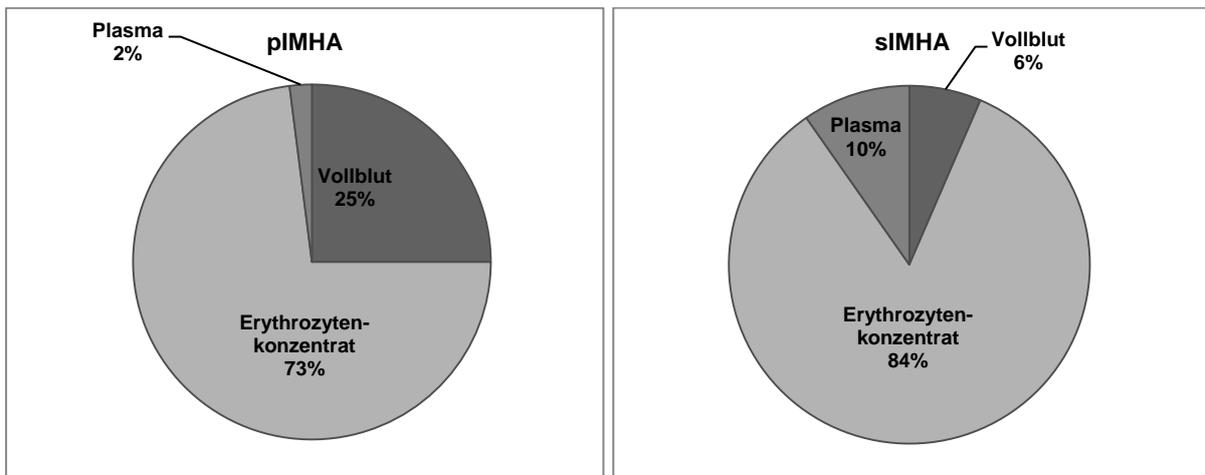


Abbildung 14: Häufigkeit der verwendeten Blutprodukte bei Hunden mit pIMHA (insgesamt 100 Transfusionen) und sIMHA (insgesamt 31 Transfusionen)

Weitere Medikamente wie Antibiotika, Magenschutzpräparate oder Imidocarb zur Therapie einer potentiellen Babesiose oder Anaplasiose sind in Abbildung 15 aufgeführt.

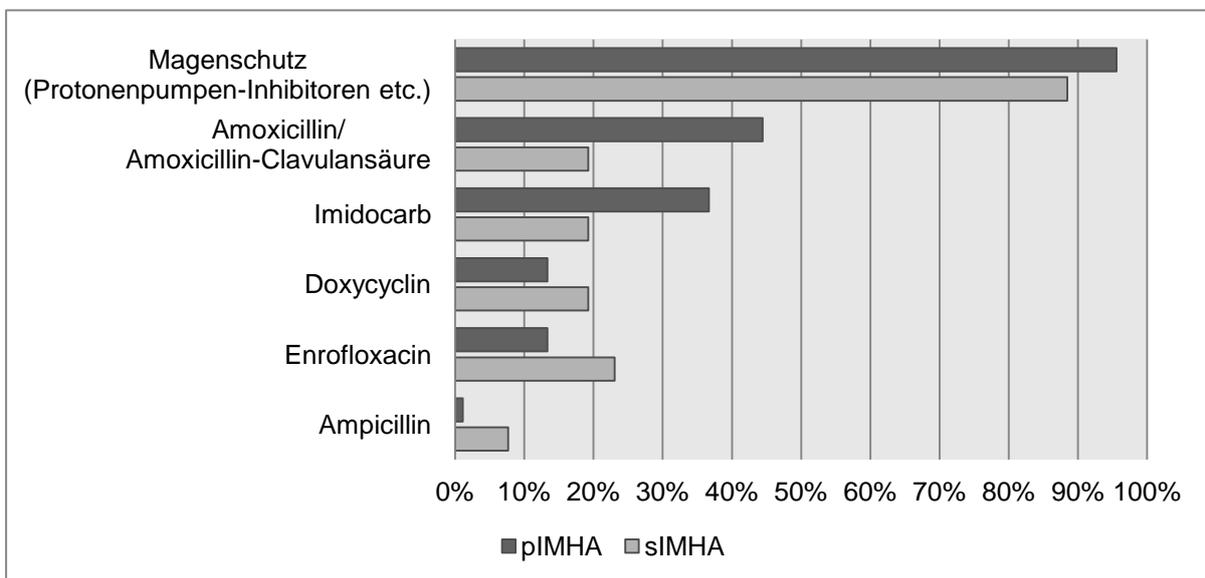


Abbildung 15: Begleitende medikamentöse Therapie

3.2.7 Verlauf und prognostische Faktoren

Von den insgesamt 116 Studienpatienten konnte das Langzeitüberleben bei 115 Hunden (99 %) ermittelt werden. Der Krankheitsverlauf eines Hundes mit pIMHA war retrospektiv nicht mehr nachzuvollziehen. Die Gesamtmortalität lag bei 54 % (62/115). 42 % der Hunde (26/62) verstarben bereits während des stationären Aufenthaltes bzw. wurden euthanasiert. Eine Entlassung aus der Klinik war bei 79 % der Hunde mit pIMHA (70/89) sowie bei 77 % der Hunde mit sIMHA (20/26) möglich. 33 Hunde (29 %) überlebten bis zum Ende der Studie (Oktober 2013).

Die genauen Überlebenszeiten im Gruppenvergleich sind in Abbildung 16 dargestellt. Hunde mit pIMHA überlebten im Median 222 Tage (0-2858 Tage), Hunde mit sIMHA 311 Tage (1-2776 Tage). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Studienpopulationen konnte nicht festgestellt werden ($p=0,73$).

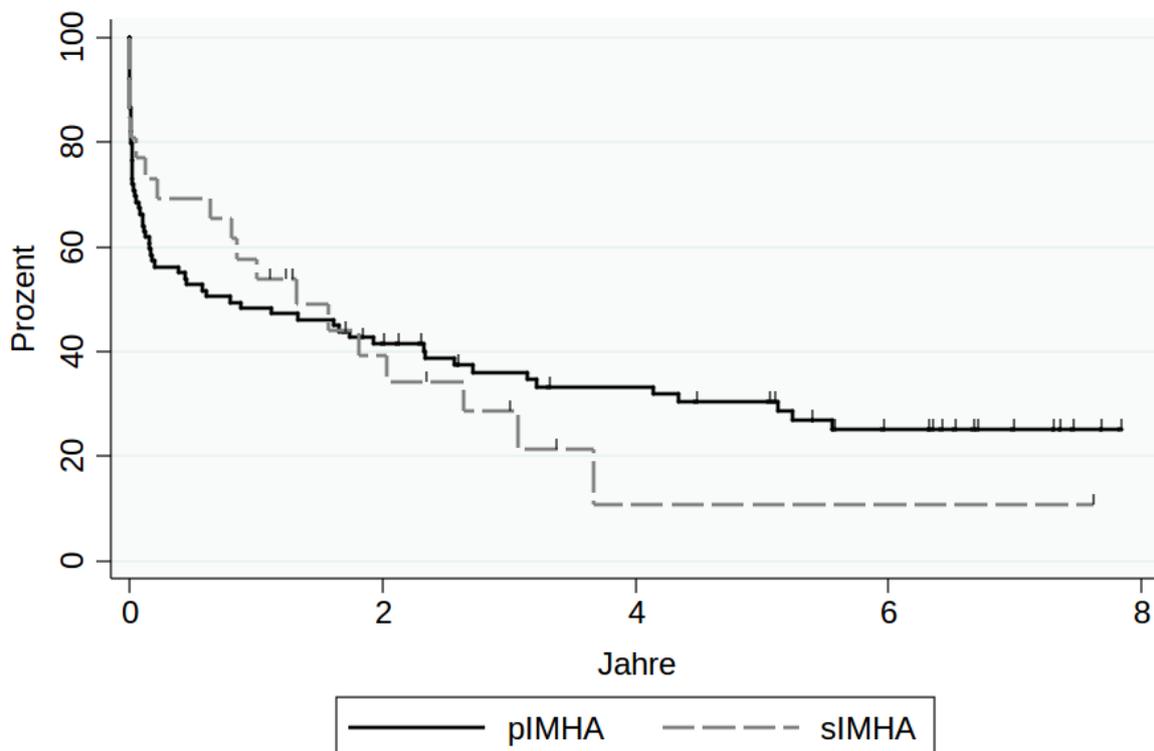


Abbildung 16: Kaplan-Meier-Überlebenskurve (I= Überleben bis Studienende)

Die bestehende IMHA bzw. eine damit einhergehende Verschlechterung des Allgemeinbefindens wurde als Todesursache bei 51 Hunden mit pIMHA (57 %) angegeben. Neben der Schwere der zugrunde liegenden Erkrankung spielte die Ausprägung der IMHA bei 11 Hunden mit sIMHA (42 %) eine entscheidende Rolle bei der Entscheidung zur Euthanasie bzw. trug zum Tod der Tiere bei.

Die Ergebnisse der durchgeführten uni- sowie multivariaten Regressionsanalyse (Cox-Proportional-Hazard-Analyse) zur Detektion prognostischer Faktoren bei Hunden mit pIMHA (n=89, da bei einem Hund Langzeitüberleben nicht bekannt) sind in den Tabellen 30 – 32 zusammengefasst. Aufgeführt sind die in der Literatur beschriebenen prognostischen Faktoren (siehe 2.7) sowie darüber hinaus erfasste statistisch signifikante Parameter der eigenen Studie.

Aufgrund der eingeschränkten Anzahl an Beobachtungen bzw. fehlender Verlaufskontrollen wurde auf eine Auswertung folgender Parameter verzichtet: PT, aPTT, TEG, Entzündungsparameter (Fibrinogen, Blutsenkung, C-reaktives Protein), D-Dimere, Kreatinkinase sowie Resultate der Blutgasanalyse (Bicarbonat, Laktat etc.).

Variable	n	Korrelationskoeffizient	p-Wert
Geschlecht	89	-0,0288	0,91
Gewicht	89	0,0279	0,01
Alter	89	0,1028	0,004
Ikterus	89	-0,0288	0,91
Tachypnoe/Hecheln	89	0,5243	0,12
Fieber	89	0,1414	0,59
Saisonalität (April-September)	89	0,1187	0,64

Variable	n	Korrelationskoeffizient	p-Wert
Anzahl an Bluttransfusionen	89	0,0150	0,93
Autoagglutination	89	0,1059	0,68
Hkt.	89	-1,6937	0,51
Retikulozyten	86	-0,0002	0,78
Thrombozyten	89	-0,0009	0,26
Leukozyten	89	0,0104	0,18
Linksverschiebung	50	0,0001	1,00
Lymphozyten	89	0,0655	0,10
Monozyten	89	0,0856	0,05
Totalprotein	85	0,0188	0,10
Albumin	87	0,0270	0,39
Harnstoff	89	0,0573	0,004
Kreatinin	87	0,0117	0,01
Bilirubin	88	0,0045	< 0,001
Natrium	88	0,0096	0,69
Kalium	88	-0,1018	0,64
AP	86	0,0019	< 0,001
ALT	86	0,0001	0,25

Variable	n	Korrelationskoeffizient	p-Wert
NEU:			
Eosinophile	88	0,2817	0,04
Phosphat	87	0,4168	0,01
Triglyceride	84	0,2450	0,003

Tabelle 30: Resultate der univariaten Regressionsanalyse (Cox-Proportional-Hazard-Analyse) zu prognostischen Parametern bei Hunden mit pIMHA

Variable	n	Korrelationskoeffizient	p-Wert
Gewicht	89	0,0279	0,01
Alter	89	0,1028	0,004
Tachypnoe/Hecheln	89	0,5243	0,12
Leukozyten	89	0,0104	0,18
Lymphozyten	89	0,0655	0,10
Monozyten	89	0,0856	0,05
Totalprotein	85	0,0188	0,10
Harnstoff	89	0,0573	0,004
Kreatinin	87	0,0117	0,01
Bilirubin	88	0,0045	< 0,001
AP	86	0,0019	< 0,001
Eosinophile	88	0,2817	0,04
Phosphat	87	0,4168	0,01

Variable	n	Korrelationskoeffizient	p-Wert
Triglyceride	84	0,2450	0,003

Tabelle 31: Verbleibende Parameter (p-Wert < 0,20) nach Durchführung der univariaten Regressionsanalyse (Cox-Proportional-Hazard-Analyse)

Variable	n	Korrelationskoeffizient	p-Wert
Gewicht	89	0,0341	0,003
Alter	89	0,1469	<0,001
Bilirubin	88	0,0055	<0,001
Eosinophile	88	0,3667	0,009

Tabelle 32: Resultate der multivariaten Regressionsanalyse (Cox-Proportional-Hazard-Analyse; Einschlusskriterium: p-Wert < 0,05 gemäß Likelihood-Ratio Test („forward stepwise selection“))

Als negative prognostische Parameter konnten folgende, bereits beschriebene Variablen bestätigt werden: Gewicht und Alter der Patienten sowie der Laborparameter Bilirubin. Ein Anstieg der genannten Variablen korrelierte hierbei mit der Mortalität der Hunde, was am positiven Korrelationskoeffizienten zu erkennen ist.

Darüber hinaus stellte sich die Anzahl an eosinophilen Granulozyten als statistisch signifikanter, negativer prognostischer Faktor heraus.

3.2.8 Histopathologische Untersuchung

Eine vollständige histopathologische Untersuchung erfolgte in der Gruppe der pIMHA-Patienten bei 7/90 Hunden, in der Gruppe der sIMHA-Patienten bei lediglich einem Hund. Die Hauptbefunde der Obduktion sind in Tabelle 33 zusammengefasst. Veränderungen, die mit hoher Wahrscheinlichkeit auf eine vorangegangene Euthanasie zurückgeführt werden konnten, wurden nicht berücksichtigt.

Pat.-Nr.	Ikterus	Organnekrosen	Thrombembolien	Extra-medulläre Hämatopoese (Milz/Leber)	Sonstiges
1) pIMHA					
19	nein	Leber	nein	nein	mittelgradige Hämosiderose in Milz und Leber, herdförmige interstitielle sklerosierende Nephritis
31	ja	nein	nein	nein	pulpöse Milzhyperplasie, ggr. Hämothorax und Hämaskos
42	nein	Tierkörper stark verwest	nein	nein	Tierkörper stark verwest
69	ja	nein	Milz, Leber	ja	Chromoproteinämische und cholämische Nephrose, fibrinreicher Aszites
72	ja	Leber	Leber, Herz, Lymphknoten, Niere und Gehirn	nein	Erythrophagie in der Milz, subendokardiale Blutungen, alveoläre Blutungen in der Lunge

Pat.-Nr.	Ikterus	Organnekrosen	Thrombembolien	Extra-medulläre Hämatoopoese (Milz/Leber)	Sonstiges
74	nein	nein	nein	nein	Milz entspeichert, hochgradige chronische Synovialitis beidseits
78	ja	Lunge	nein	nein	mittelgradige Hämosiderose in der Milz
2) SIMHA					
2	nein	nein	nein	ja	chronische Gastritis, interstitielle Nephritis

Tabelle 33: Befunde der histopathologischen Untersuchung

4 Diskussion

4.1 Patientenauswahl

Während zahlreiche Studien zur pIMHA des Hundes existieren, gibt es nur wenige Publikationen, die sich mit der sIMHA des Hundes beschäftigen. Vergleichende Arbeiten zur primären und sekundären IMHA sind ebenfalls rar.

In der Studie von Engelbrecht et al. wurden 30 Hunde mit primärer und sekundärer IMHA unter besonderer Berücksichtigung von Klinik, Diagnostik und Therapiemöglichkeiten sowie Behandlungserfolg retrospektiv ausgewertet.⁵⁰ Anders als in der vorliegenden Arbeit wurden hier allerdings auch Hunde mit einer zusätzlichen Thrombozytopenie von $< 40 \times 10^9/l$ (9 Hunde der pIMHA-Gruppe) inkludiert, was den Vergleich beider Studien v.a. im Hinblick auf die Mortalität limitiert. Insgesamt konnte bei 23/30 Hunden (77 %) die Diagnose einer pIMHA gestellt werden, wohingegen bei 7/30 Hunden (23 %) im Rahmen der weiterführenden diagnostischen Aufarbeitung eine sIMHA diagnostiziert wurde.⁵⁰ Eine ähnliche Verteilung ergab sich in der Studie von Wang et al.²¹⁰ Hier wurden 71 von 93 Hunden (76 %) als pIMHA und 22 Hunde (24 %) als sIMHA klassifiziert. Beide Ergebnisse decken sich nahezu mit den Resultaten der eigenen Studie. Hier betrug der Anteil der an pIMHA erkrankten Hunden 78 % (90/116), der an sIMHA erkrankten Hunde 22 % (26/116).

Eine andere Verteilung findet sich in zwei weiteren Studien zur IMHA des Hundes,^{52,95} in denen lediglich 43 % (15/35) bzw. 44 % (25/57) der Hunde als primäre und 57 % (20/35) bzw. 56 % (32/57) der Hunde als sekundäre IMHA klassifiziert wurden. Ähnlich wie bei Engelbrecht et al.⁵⁰ stellte auch in der Arbeit von Feldman et al.⁵² eine Thrombozytopenie ($< 60 \times 10^9/l$) kein Ausschlusskriterium dar, was wiederum die Vergleichbarkeit mit dem eigenen Datensatz beschränkt.

Insgesamt lag der prozentuale Anteil der an pIMHA erkrankten Hunde im eigenen Patientengut – auch im Vergleich zu anderen Literaturangaben zur Inzidenz der pIMHA (60 – 75 %)^{43,89,131} – geringgradig höher. Ursächlich sind einerseits die

Methodik der Patientenauswahl sowie andererseits die im Vorfeld festgelegten Einschlusskriterien der Studie zu diskutieren. So ist zu vermuten, dass gerade bei dezent ausgeprägten immunhämolytischen Anämien infolge einer schweren Grunderkrankung die Diagnose einer sIMHA nicht immer gestellt, bzw. in den aufgeführten Diagnosen, auf welchen letztlich die Patientenauswahl basiert, nicht immer erwähnt wurde. Betroffene Tiere wurden somit möglicherweise verpasst. Dies trifft insbesondere bei Hunden mit einer diagnostizierten Babesiose und folglich Immunhämolyse zu, da hier möglicherweise eine sIMHA als eigenständige Diagnose keine Erwähnung fand.

Da auch Hunde mit einer Thrombozytenzahl $< 50 \times 10^9/l$ ausgeschlossen wurden, ist außerdem davon auszugehen, dass vor allem Hunde mit einer Ehrlichiose-bedingten sIMHA ebenfalls unterrepräsentiert sind ($n=0$), da diese häufig schwere Thrombopenien aufweisen, welche in experimentellen Studien zwischen $20-52 \times 10^9/l$ lagen.⁷⁵

Aufgrund des retrospektiven Charakters der Studie und der somit fehlenden Standardisierung der Vorgehensweise auch im Hinblick auf die Abklärung möglicher zugrunde liegender Infektionserkrankungen ist nicht auszuschließen, dass bei Hunden mit pIMHA im Einzelfall eine vektorübertragene Erkrankung als Auslöser verpasst, und das betroffene Tier somit falsch klassifiziert wurde.

Insgesamt erfolgte die Einteilung in die Gruppe der Hunde mit sIMHA nach sehr strengen Kriterien. Da prinzipiell jede Tumorerkrankung sowie jede schwere (systemische) Entzündungsreaktion als potentieller Auslöser einer IMHA in Frage kommt, wurden bereits Hunde mit entsprechender Verdachtsdiagnose der sIMHA-Gruppe zugeordnet. So wurden beispielsweise fünf Hündinnen mit palpablen Mammatumoren aufgrund einer potentiell malignen Neoplasie trotz fehlender histopathologischer Diagnose als sIMHA klassifiziert. Gestützt wird diese Entscheidung von den Resultaten verschiedener retrospektiver Studien zu Mammatumoren der Hündin. Hier konnten bei bis zu 86,7 % der histopathologisch untersuchten Mammatumoren maligne Neoplasien diagnostiziert werden.^{96,118,177,182} Ähnlich verhält es sich mit den Hunden, bei denen sonographisch eine Target-Lesion (noduläre Zubildung mit hypoechogenem Randsaum und hyperechogenem bis

isoechogenem Zentrum) in der Milz gefunden wurde. Sie wurden als sIMHA klassifiziert, da Target Lesions in Milz oder Leber mit einer Wahrscheinlichkeit von 74 % maligne Zubildungen darstellen.³⁴

Neben Patienten mit Tumorverdacht wurden auch Hunde mit schweren inflammatorischen Erkrankungen (Pankreatitis (n=2), hochgradige Gastritis sowie Nephritis, Pneumonie mit folglich Sepsis und DIC, Polytrauma mit Wundinfektion nach Autounfall (je n=1)) in die Gruppe der sIMHA-Patienten eingeordnet. Obwohl Pankreatitiden als Auslöser einer IMHA beschrieben sind,^{62,71,140,213} können diese auch sekundär infolge der anämiebedingten Hypoxie sowie Hypoperfusion auftreten.³⁵ Gleiches gilt für die histopathologisch bestätigte hochgradige Gastritis bei einem Patienten. Eine genaue Differenzierung von Ursache und Folge war daher schwierig. Da die betroffenen Tiere allerdings bereits zum Zeitpunkt der Diagnosestellung der IMHA entsprechende, z.T. sehr stark ausgeprägte Symptome der Grunderkrankung aufwiesen, erschien eine sIMHA wahrscheinlich. Aufgrund der Möglichkeit einer impfinduzierten Genese⁴⁸ wurden außerdem Hunde, die im Zeitraum von 4 Wochen vor Erkrankungsbeginn geimpft worden waren, ebenfalls als sIMHA klassifiziert.

Insgesamt überwogen in der eigenen Studienpopulation Neoplasien mit 50 % (13/26) als Auslöser der sIMHA, gefolgt von entzündlich-infektiösen Erkrankungen mit 23 % (6/26), einer möglichen impfinduzierten Genese mit 15 % (4/26) und entzündlichen Erkrankungen mit 12 % (3/26). Die prozentuale Verteilung der zugrunde liegenden Ätiologien der anderen Studien im Vergleich mit den eigenen Daten ist in Abbildung 17 dargestellt. Ursächlich für die Unterschiede in der Verteilung der verschiedenen Auslöser sind neben den verschiedenen Zeitpunkten der Studien und den damit in Zusammenhang stehenden diagnostischen Möglichkeiten der variable Studienaufbau inklusive Ein- und Ausschlusskriterien sowie mögliche regionale Unterschiede (z.B. im Hinblick auf mögliche Infektionserkrankungen) anzuführen.

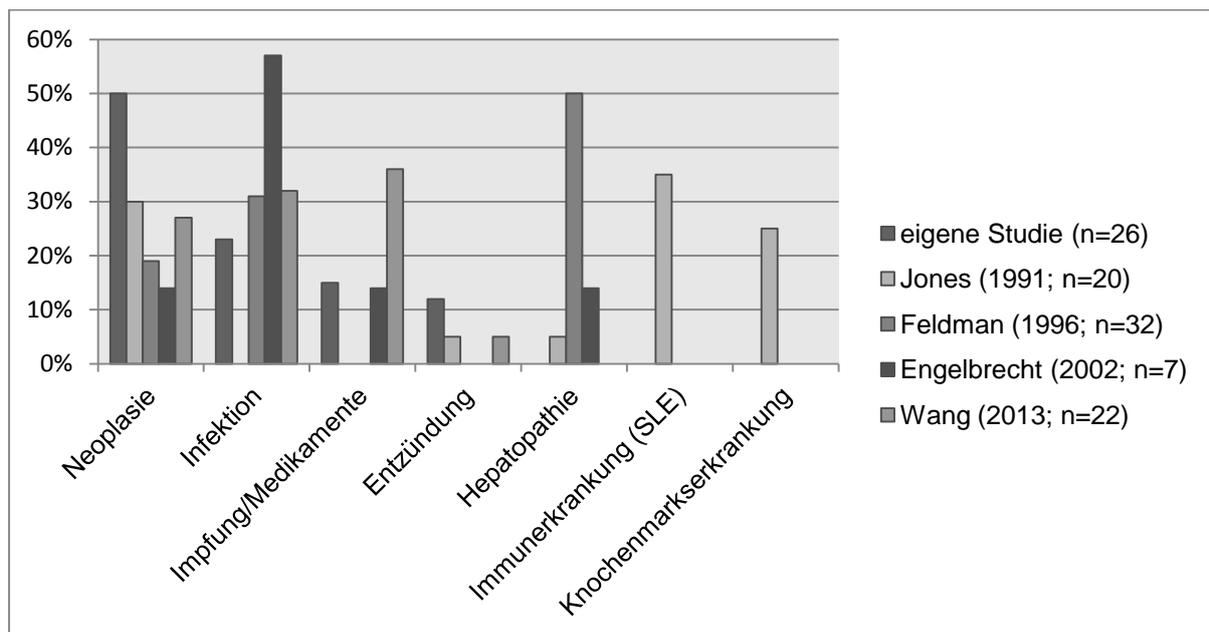


Abbildung 17: Ursachen der SIMHA im Studienvergleich (n=Anzahl der Hunde mit SIMHA)

4.2 Signalement

4.2.1 Alter

Bezüglich des Signalements waren in beiden Studienpopulationen mit einem medianen Alter von 7,0 (pIMHA) bzw. 7,3 Jahren (SIMHA) dominierend mittelalte, adulte Hunde erkrankt. Dies deckt sich weitestgehend mit den Literaturangaben zur pIMHA des Hundes, in denen ein medianes Alter von 5-7 Jahren beschrieben wird.^{4,21-23,25,50,60,68,74,88,105,107,124,129,162,171,181,215}

4.2.2 Geschlecht

Wie bereits in zahlreichen Publikationen zuvor^{21,22,25,64,74,89,99,105,124,138,171,215} konnte auch im eigenen Patientengut eine Geschlechtsprädisposition für unkastrierte Hündinnen in der Gruppe der an pIMHA erkrankten Hunde ermittelt werden. Weiblich-unkastrierte und kastrierte Tiere in Kombination waren im Vergleich zur Klinikpopulation im selben Zeitraum ebenfalls statistisch signifikant häufiger von einer pIMHA betroffen. Männlich-intakte Hunde erkrankten hingegen signifikant weniger

häufig an einer pIMHA. Darüber hinaus ergaben sich keine Geschlechtsprädispositionen. Ein hormoneller Einfluss auf die Ätiologie der pIMHA ist somit nicht ausgeschlossen. Während Dodds et al. ursächlich einen negativen Effekt von Östrogenen diskutierten,⁴³ postulierten Weinkle et al. eine protektive Wirkung von Androgenen.²¹⁵ Auch in der Humanmedizin handelt es sich bei 80 % aller Patienten mit Autoimmunerkrankungen um Frauen.² Daher werden ursächlich Effekte ausgehend von Geschlechtschromosomen, Geschlechtshormonen und die geschlechtsspezifische Genregulation in Abhängigkeit interner und externer Stimuli diskutiert und erforscht.² Eine protektive Wirkung von Androgenen mit einem Rückgang der Antikörperproduktion bzw. einer Modulation der Immunantwort sowie längeren Überlebenszeiten konnte außerdem in der Vergangenheit im Mäusemodell zur Lupus-Erkrankung (systemischer Lupus erythematoses) des Menschen gezeigt werden.^{120,175}

4.2.3 Gewicht

Die Auswertung des Körpergewichts ergab in keiner der Gruppen statistisch signifikante Abweichungen.

4.2.4 Rasse

Die in Bezug auf die pIMHA beschriebene Rasseprädisposition für den Airedale Terrier,¹²⁹ den English Springer Spaniel^{4,107,129,171,173,213} und den Irish Setter⁴³ konnte anhand der vorliegenden Daten bestätigt werden. Während andere Autoren den Dackel im Allgemeinen als prädisponiert betrachten,^{74,162} waren im eigenen Patientengut Lang- und Rauhaardackel statistisch signifikant häufiger betroffen. Dies deckt sich teilweise mit den Ergebnissen der Studie von Griebisch, in der ein auffallend hoher Anteil an Rauhaardackeln mit pIMHA festgestellt werden konnte.⁶⁷

Neben den genannten Rassen ergab sich eine signifikante Überrepräsentation der Rassen Alaskan Malamute, Coton de Tulear, Holländischer Schäferhund, Italienisches Windspiel, Kromfohländer, Lhasa Apso und Pyrenäenberghund im

Vergleich zur Klinikpopulation. Da es sich hier allerdings größtenteils um eher seltene Hunderassen handelt, sind die Resultate der statistischen Auswertung unter Vorbehalt zu interpretieren. Andererseits ist zu diskutieren, ob das vermehrte Auftreten der Erkrankung bei den ermittelten Rassen mit kleinem Genpool beispielsweise wie von Kennedy et al. beschrieben durch ein gehäuftes Auftreten bestimmter DLA-Klasse-II-Haplotypen infolge exzessiver Selektionsmaßnahmen auf den gewünschten Phänotyp sowie Inzucht begünstigt wird.¹⁰¹

Aufgrund der zahlreichen, variablen Ursachen einer SIMHA sowie fehlender Studien ist keine Rasseprädisposition für diese Erkrankung beschrieben. Ein statistisch signifikant gehäuftes Auftreten ergab sich bei der Auswertung der eigenen Daten für die Rassen Berger de Picardie, Entlebucher Sennenhund sowie Kromfohrländer. Auch diese Resultate sind vor allem im Hinblick auf die in unserer Region eher exotischen Rassen (Berger de Picardie, Kromfohrländer) sowie die geringe Fallzahl der SIMHA-Gruppe nur eingeschränkt zu bewerten. Betrachtet man hingegen die absoluten Zahlen, so war in der SIMHA-Gruppe neben dem Mischlingshund der Berner Sennenhund mit drei erkrankten Tieren am häufigsten betroffen. Ursächlich konnte bei allen drei Hunden eine Neoplasie (Histiocytäres Sarkom, Leber- und Mammatumoren, Gallengangskarzinom) diagnostiziert werden, was aufgrund einer bekannten Prädisposition dieser Rasse für neoplastische Erkrankungen und insbesondere das Histiocytäre Sarkom nicht ungewöhnlich ist.^{51,55,76,151} Alle drei Hunde starben nach 19, 79 bzw. 119 Tagen oder wurden euthanasiert.

Im Vergleich zur gesamten Klinikpopulation erkrankten Mischlingshunde signifikant weniger häufig an einer SIMHA. Ein geringeres Auftreten verschiedener erblicher Erkrankungen¹⁵ sowie eine höhere Lebenserwartung des Mischlingshundes im Vergleich zur Gesamtpopulation reinrassiger Hunde^{158,166} konnte bereits in verschiedenen Studien aufgezeigt werden. Als Ursache wird hier primär die ausgeprägtere genetische Diversität des Mischlingshundes diskutiert. Switzer et al. konnten eine per se geringere Krankheitsanfälligkeit beim Mischling jedoch nicht bestätigen. Sie betonen, dass die Disposition für eine Erkrankung beim Mischlingshund sehr stark von der Erkrankungsgefährdung der beteiligten Rassen abhängt.¹⁹⁹

4.3 Anamnese

4.3.1 Zeitpunkt der Vorstellung/Saisonalität

Die beschriebene Saisonalität der pIMHA mit einem vermehrten Auftreten der Erkrankung in den wärmeren Jahreszeiten^{104,107,215} konnte anhand der vorliegenden Daten nicht bestätigt werden. Ursächlich werden ein saisonal gehäuftes Auftreten (unentdeckter) vektorübertragener oder viraler Erkrankungen,^{104,107} eine direkte, klimaabhängige Beeinträchtigung der Immuntoleranz¹⁰⁴ oder ein gehäuftes Patientenaufkommen in den wärmeren Monaten zur Durchführung von Routineuntersuchungen und Impfungen²¹⁵ vermutet. Nicht diagnostizierte vektorübertragene oder virale Erkrankungen können aufgrund des retrospektiven Charakters der Studie mit fehlender Standardisierung der Herangehensweise bei der Aufarbeitung der Patienten nicht ausgeschlossen werden. Da es sich bei unserer Klinik primär um eine Überweisungsklinik handelt, an der Routineuntersuchungen sowie Impfungen nur eingeschränkt bzw. gar nicht durchgeführt werden, kann ein erhöhtes Patientenaufkommen in den Frühlings- und Sommermonaten unter Berücksichtigung der Patientenzahlen nicht bestätigt werden.

Auch in der Gruppe der sIMHA-Patienten ergab sich keine statistisch signifikante Saisonalität der Erkrankung. Die Anzahl an zeckenübertragenen Erkrankungen als Auslöser der bestehenden sIMHA ist mit insgesamt zwei Fällen (8 %; zwei Hunde mit *Babesia canis*-Infektion) jedoch auch als gering einzustufen. Während einer der betroffenen Hunde im April und somit im Frühling vorgestellt wurde, wurde der zweite Fall einer Babesiose im Februar diagnostiziert. Dies ist nicht ungewöhnlich, da der in diesem Fall potentielle Vektor *Dermacentor reticulatus* (Auwaldzecke) kältetolerant und nahezu ganzjährig aktiv ist (Februar/März bis Mai/Juni sowie August/September bis November/Dezember).⁸²

4.3.2 Vorstellungsgrund

Unspezifische Symptome wie Inappetenz/Anorexie (62 % (sIMHA) – 70 % (pIMHA)) sowie Apathie/Schwäche (92 % (sIMHA) – 98 % (pIMHA)) stellten in beiden Studienpopulationen die häufigsten Vorstellungsgründe dar. Diese Beobachtung

deckt sich mit den Angaben zur pIMHA in der Literatur. Hier zeigten 65-99% der erkrankten Hunde vorberichtlich Inappetenz bis Anorexie,^{68,107,124,162,164,171,210} 70 – 99 % Lethargie^{22,68,107,124,162,171,210} und 46 – 67 % der Patienten Leistungsschwäche.^{107,171}

Eine ähnliche Verteilung wie in vorangegangenen Publikationen ergab sich auch im Hinblick auf gastrointestinale Symptome. Während in anderen Fallserien zur pIMHA des Hundes 22 – 33 % der Patienten wegen Erbrechen und 11 – 18 % der Tiere wegen Durchfall vorgestellt wurden,^{16,65,68,124,162,164} zeigten im eigenen Patientengut 33 % (pIMHA) bzw. 35 % (sIMHA) der Hunde vorberichtlich Erbrechen und 11 % (pIMHA) bzw. 23 % (sIMHA) Durchfall.

Darüber hinaus wurden anamnestisch Symptome wie Tachkardie, Hämatochezie/Meläna, Ikterus, Husten, Synkopen, Gewichtsverlust, Polyurie/Polydipsie, Fieber, Tachypnoe/Hecheln/erschwerzte Atmung, blasse Schleimhäuten und Pigmenturie beschrieben.

Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte lediglich im Hinblick auf die Vorstellungsgründe Ikterus und Tachypnoe/Hecheln/erschwerzte Atmung festgestellt werden, welche häufiger in der Gruppe der sIMHA-Patienten beobachtet wurden. Insgesamt wurde in 23 % (6/26) der Fälle mit sIMHA anamnestisch ein Ikterus erwähnt. Dieser konnte in der klinischen Untersuchung bei Erstvorstellung allerdings nur bei $\frac{2}{3}$ (4/6) der Hunde nachvollzogen werden. Beide Hunde ohne klinisch sichtbaren Ikterus waren zum Zeitpunkt der Vorstellung jedoch bereits mit Glucocorticoiden vorbehandelt. Ein Einfluss auf die bestehende Immunhämolyse mit Remission des Ikterus ist somit nicht auszuschließen. Darüber hinaus handelt es sich bei der klinischen Detektion eines Ikterus um eine subjektive Einschätzung, die untersucherabhängig und somit fehleranfällig ist.

Als Ursachen der bestehenden sIMHA lagen bei den sechs Hunden mit vorberichtlich beschriebenem Ikterus in zwei Fällen eine Babesieninfektion, bei einem Hund eine Leishmanieninfektion und in drei Fällen eine Neoplasie (Lymphom Grad V, Gallengangskarzinom, Milztumor) zugrunde.

Im Fall einer Babesieninfektion kommen ursächlich für einen Ikterus neben der erregerbedingten Hämolyse auch eine zusätzlich bestehende Hepatopathie oder sIMHA (komplizierte Babesiose) in Frage. In einer Studie von Máthé et al. zeigten 28 % der Hunde mit unkomplizierter Babesiose vorberichtlich bzw. klinisch einen Ikterus. In der Gruppe der Hunde mit kompliziertem Krankheitsverlauf waren 48% ikterisch: 32 % aufgrund einer zusätzlichen Hepatopathie, 16 % alleine infolge der bestehenden Hämolyse. Eine sIMHA aufgrund der bestehenden Babesieninfektion konnte bei insgesamt 10 % der Hunde nachgewiesen werden.¹²⁵

In einer weiteren Publikation über das Auftreten einer akuten Pankreatitis in Zusammenhang mit einer Babesieninfektion zeigten sogar 65 % der Hunde einen klinisch detektierbaren Ikterus.¹⁴³ Die genaue Ätiologie des Ikterus bleibt hier allerdings unklar, da auch eine Pankreatitis bedingt durch eine Cholestase einen posthepatischen Ikterus bewirken kann. Insgesamt wiesen 30 % der Hunde zusätzlich eine sIMHA auf.¹⁴³

Anhand der eigenen Daten ergaben sich bei beiden Hunden mit Babesieninfektion und sIMHA anhand der durchgeführten Untersuchungen (Blutuntersuchungen, Sonographie Abdomen) keine Hinweise auf eine zugrunde liegende, schwere Hepatopathie als Ursache des beschriebenen Ikterus. Allerdings zeigten beide Patienten eine ausgeprägte Pigmenturie mit in einem Fall bewiesener hochgradiger Hämoglobinurie, weshalb die bestehende (Immun-)Hämolyse als primärer Auslöser des Ikterus angeführt werden kann. Bei einem Hund wurde außerdem zusätzlich eine Pankreatitis diagnostiziert (komplizierte Babesiose). Ein möglicher posthepatischer Ikterus aufgrund einer bestehenden Cholestase konnte anhand der sonographischen Untersuchung des Bauchraumes allerdings nicht bestätigt werden.

Auch bei dem Hund mit sIMHA infolge einer bestehenden Leishmanieninfektion konnte der vorberichtlich beschriebene Ikterus als prähepatischer Ikterus infolge der Immunhämolyse klassifiziert werden. Hinweise auf eine andere Genese fanden sich nicht.

Im Fall der drei Hunde mit zugrunde liegender Neoplasie (Lymphom Grad V, Gallengangskarzinom, Milztumor) kommt ursächlich für den Ikterus neben einer

tumorbedingten IMHA auch eine mikroangiopathische hämolytische Anämie in Betracht. Diese ist unter anderem beim Lymphom²⁰⁹ oder dem Hämangiosarkom beschrieben.^{79,170} Darüber hinaus lag bei dem Hund mit Gallengangskarzinom eine schwere Hepatopathie vor, weshalb ein zusätzlicher intrahepatischer Ikterus hochwahrscheinlich ist. Auch eine Cholestase muss als Ursache des Ikterus diskutiert werden.

Zusammenfassend können als mögliche Erklärung für das statistisch signifikant gehäufte Auftreten eines Ikterus bei den Patienten mit SIMHA die beschriebenen Grunderkrankungen angeführt werden, welche über eine Kombination verschiedener Pathomechanismen (Hämolyse, Immunhämolyse, Hepatopathie) zur Ausprägung eines für den Besitzer detektierbaren Ikterus geführt haben. Eine Ausnahme stellt der Patient mit Leishmaniose dar. Hier konnte als Ursache des vorberichtlich erwähnten Ikterus lediglich die bestehende Immunhämolyse gefunden werden.

Neben dem bereits diskutierten Ikterus wurde außerdem der Symptomenkomplex Tachypnoe/Hecheln/erschwerzte Atmung statistisch signifikant häufiger von Besitzern der an SIMHA erkrankten Hunde beobachtet. Insgesamt zeigten 42 % der Hunde mit SIMHA (11/26) vorberichtlich eine auffällig erhöhte Atemfrequenz bzw. Hecheln. Hierbei handelte es sich allerdings in den meisten Fällen um einen subjektiven Eindruck des Besitzers. Objektive Zahlen zur Atemfrequenz zu Hause oder im Rahmen einer Voruntersuchung beim Haustierarzt existieren nicht. Bei 10/11 Hunden konnte jedoch auch in der klinischen Untersuchung bei Erstvorstellung in unserer Klinik eine Tachypnoe bzw. Hecheln festgestellt werden.

Im Allgemeinen kommen ursächlich für die geschilderten Befunde neben Aufregung, Angst, Fieber und Schmerzen, metabolische, kardiovaskuläre oder endokrine Erkrankungen sowie eine Hypertension in Frage. Darüber hinaus stellt Hecheln beim Hund den wichtigsten Mechanismus zur Thermoregulation dar.⁵⁸

Die wahrscheinlichste Ursache einer Tachypnoe bei Patienten mit IMHA ist die bestehende Anämie. Allerdings war diese bei den Hunden mit pIMHA signifikant stärker ausgeprägt (siehe 3.2.4 Labordiagnostik/Hämatologie), was einer

Überrepräsentation an vorberichtlich tachypnoeischen Hunden in der SIMHA-Gruppe widerspricht.

Als Ursachen der bestehenden SIMHA konnten bei den entsprechenden elf Hunden in je vier Fällen eine vorangegangene Impfung bzw. eine Neoplasie (Mammatumoren, Histiocytäres Sarkom, zwei Hunde mit Milztumor), bei zwei Hunden eine entzündlich-infektiöse Erkrankung (Leishmaniose, Polytrauma) und bei einem Hund eine entzündliche Erkrankung (Pankreatitis) diagnostiziert werden. Röntgenologische Veränderungen der Lunge, die die Symptome Tachypnoe/Hecheln/erschwerzte Atmung im Einzelfall erklären könnten, fanden sich nicht. Auch ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen konnte diesbezüglich nicht festgestellt werden ($p=0,24$).

Fieber als mögliche Ursache der beschriebenen erhöhten Atemfrequenz wiesen vorberichtlich vier Hunde auf (Pankreatitis, Milztumor, zwei Hunde mit vorangegangener Impfung). Ein Hund mit Mammatumoren zeigte außerdem im akuten Krankheitsstadium auch Mastitisanzeichen, was eine schmerzinduzierte Tachypnoe erklären kann. Auch bei dem Patient mit Polytrauma nach Autounfall lässt sich die beschriebene Tachypnoe am ehesten auf eine Schmerzsymptomatik zurückführen. Vier Hunde, darunter zwei der Patienten mit vorberichtlich erwähntem Fieber, waren außerdem mit Glucocorticoiden vorbehandelt, was ebenfalls zu einer erhöhten Atemfrequenz bzw. Hecheln führen kann. Bei den restlichen drei Hunden bleibt die genaue Ursache der vom Besitzer beschriebenen respiratorischen Symptomatik unklar. Ähnlich wie bei dem Symptom des Ikterus lässt sich auch im Fall der Symptome Tachypnoe/Hecheln/erschwerzte Atmung ein statistisch signifikant gehäuftes Auftreten bei Hunden mit SIMHA am ehesten auf die bestehende, schwere Grunderkrankung in Kombination mit der Anämie zurückführen. Auch hier erscheint ein additiver Effekt der verschiedenen Erkrankungen und ihrer Pathomechanismen wahrscheinlich.

4.3.3 Erkrankungsdauer

Hinsichtlich der Dauer der Erkrankung bis zur Vorstellung in unserer Klinik ergaben sich im Vergleich beider Gruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede.

4.3.4 Vorbehandlung

Eine medikamentöse Vorbehandlung war zum Zeitpunkt der Vorstellung in 80 % der Fälle (93/116) erfolgt. Antibiotika kamen bei 58 % (52 Hunde mit pIMHA) bzw. 77 % (20 Hunde mit sIMHA) der Patienten zum Einsatz. Penicilline, welche als Auslöser einer sIMHA beschrieben sind,^{62,203} wurden bei insgesamt 35 Hunden (30 %) – darunter 23 Hunde mit pIMHA (26 %) – angewandt. Eine mögliche sIMHA infolge der Penicillintherapie erscheint jedoch unwahrscheinlich, da die Medikamente erst dann eingesetzt worden waren, als die betreffenden Hunde bereits Symptome der Grunderkrankung (IMHA) aufwiesen. Eine Klassifikation als sIMHA alleine aufgrund der antibiotischen Prämedikation erfolgte somit nicht.

Ähnlich verhielt es sich mit zwei Hunden der pIMHA-Gruppe, die vorberichtlich aufgrund einer als orthopädisches Problem fehldiagnostizierten Schwächesymptomatik seit vier bzw. sieben Tagen mit Carprofen vorbehandelt worden waren. Auch bei diesen Patienten bestand die tatsächlich anämiebedingte Symptomatik (blasse Schleimhäute, Schwäche) bereits vor Einsatz des NSAIDs, weshalb auch diese Hunde nicht als sIMHA klassifiziert wurden. Darüber hinaus existiert lediglich ein Fallbericht, in dem eine idiosynkratische Medikamentenreaktion mit dem Auftreten einer neutrophilen Dermatitis sowie immunmedierten Thrombopenie und Anämie nach Verabreichung von Carprofen postuliert wurde.¹³⁵ Der Beweis eines direkten Zusammenhangs war hier nicht möglich.

In zwei weiteren Publikationen wurden außerdem insgesamt drei Hunde aufgrund einer bestehenden Therapie mit Phenobarbital als sIMHA klassifiziert.^{50,210} Auch im eigenen Patientengut stand ein Hund (sechs Jahre alter Labrador, weiblich-kastriert) zum Zeitpunkt der Vorstellung seit vier Monaten aufgrund einer idiopathischen Epilepsie unter Therapie mit Phenobarbital. Verschiedene Parameter sprachen allerdings auch in diesem Fall für eine pIMHA als auslösende Ursache der Anämie.

Einerseits wies die Hündin mit einem Hämatokrit von 0,1 l/l initial eine sehr schwere Anämie auf, während lediglich milde bis moderate, meist klinisch asymptomatische Anämien im Rahmen einer Therapie mit Phenobarbital beschrieben sind.^{50,72,102,109} Andererseits ergab sich nach Absetzen des Medikamentes keine Besserung, sodass letztendlich sogar zwei Immunsuppressiva (Prednisolon, Azathioprin) zur Kontrolle der Erkrankung notwendig waren. Aufgrund eines Rezidivs unter Therapie wurde die Hündin nach 43 Tagen beim Haustierarzt euthanasiert. In der Packungsbeilage des verwendeten Medikaments (Luminal®, Desitin Arzneimittel GmbH, Hamburg) sind Knochenmarkschäden als gelegentliche Nebenwirkungen beim Menschen aufgelistet. Eine tatsächliche medikamenteninduzierte Immunhämolyse ist im Detail nicht beschrieben.

Alle weiteren in der pIMHA-Gruppe vorberichtlich angewandten Arzneimittel finden in Zusammenhang mit dem Auftreten von immunhämolytischen Anämien bis dato ebenfalls keine Erwähnung.

Bis auf die vier Hunde mit vorangegangener Impfung wurden in der eigenen Studie somit keine Hunde als medikamentenassoziierte IMHA und somit sIMHA klassifiziert. Potentiell besteht allerdings bei jedem Medikament die Gefahr einer Immunreaktion, was die Unterscheidung in sIMHA und pIMHA bei Hunden unter medikamentöser Therapie vor allem aufgrund fehlender Möglichkeiten des Nachweises erschwert. Eine Klassifizierung aller vorbehandelten Hunde als sIMHA hätte mit einem Verhältnis von 17 % (pIMHA) zu 83 % (sIMHA) allerdings zu einer deutlichen Verzerrung der Daten geführt.

4.3.5 Impfstatus

Aufgrund der Möglichkeit einer impfinduzierten IMHA⁴⁸ wurden insgesamt vier Hunde, welche innerhalb des letzten Monats (3-28 Tage) vor Vorstellung geimpft worden waren, als sIMHA klassifiziert. Eine impfinduzierte IMHA wurde somit bei insgesamt 4 % aller IMHA-Patienten (Impfstatus von 113 Hunden bekannt) bzw. bei 15 % der Hunde mit sIMHA vermutet. Bei allen vier Hunden kamen Kombinationsimpfstoffe verschiedener Hersteller gegen Staupe, Canines Adenovirus

2 (CAV-2), Parvovirose, Parainfluenza sowie Leptospirose zum Einsatz. Zwei Hunde waren außerdem zusätzlich gegen Tollwut geimpft worden.

In der Studie von Duval et al. zur Untersuchung der impfinduzierten hämolytischen Anämie beim Hund waren insgesamt 26 % der Hunde mit IMHA (15/58) innerhalb der letzten vier Wochen geimpft worden.⁴⁸ Der zeitliche Zusammenhang zwischen dem Auftreten der Erkrankung und der innerhalb des letzten Monats erfolgten Impfung stellte sich im Vergleich zur Kontrollgruppe (70 Hunde mit anderen Erkrankungen) mit einem p-Wert von 0,0001 statistisch hoch signifikant dar. Bei den verabreichten Impfstoffen handelte es sich – ähnlich wie im eigenen Patientengut - bei allen Hunden um Kombinationsimpfstoffe gegen Staupe, CAV-2, Parvovirose, Parainfluenza und Leptospirose. Einzelne Patienten hatten außerdem zusätzlich eine Vakzinierung gegen Tollwut, Bordetellen, Canines Coronavirus sowie Borrelien erhalten. Ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer IMHA und der Verabreichung eines bestimmten Impfstoffes konnte hierbei nicht festgestellt werden. Auffällig war allerdings eine statistisch signifikant niedrigere Anzahl an Thrombozyten bei den kürzlich geimpften Tieren im Vergleich zu den Hunden ohne vorangegangene Impfung. Diese Beobachtung kann anhand der Daten der eigenen Studie nicht bestätigt werden. Hier zeigte lediglich einer der vorberichtlich geimpften Hunde (vier Jahre alter Airedale Terrier, weiblich-kastriert) initial eine gering- bis mittelgradige Thrombopenie von $106 \times 10^9/l$. Ursächlich für die Thrombopenie konnte bei der betreffenden Hündin anhand der klinischen Befunde (zunehmende Dyspnoe) sowie der Resultate der echokardiographischen Untersuchung (mittelgradiger pulmonaler Hochdruck, thrombusverdächtiges Material in der rechten Pulmonalarterie) die Diagnose einer Pulmonalarterienthrombose gestellt werden.

Auffällig ist allerdings, dass zwei der vorberichtlich geimpften Hunde einer in Bezug auf das Auftreten einer pIMHA prädisponierten Rasse angehörten. Neben der bereits erwähnten Airedale Terrier-Hündin war außerdem ein Irish Setter betroffen. Daher ist zu diskutieren, ob die Gefahr einer impfinduzierten IMHA vor allem bei prädisponierten Rassen besteht bzw. ob die Impfung ein Auftreten der Erkrankung begünstigt.

Insgesamt existieren verschiedene veterinärmedizinische Publikationen, die einen möglichen zeitlichen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von immunmedierten Erkrankungen (z.B. immunhämolytische Anämie,⁴⁸ immunvermittelte Thrombopenie^{130,165} oder immunmedierte Polyarthrit¹¹⁰) und einer vorangegangenen Impfung thematisieren. Tatsächliche Beweise im Sinne immunologischer Tests existieren allerdings nicht, sodass sich der jeweilige Verdacht lediglich aus dem zeitlichen Kontext ergibt.

Das Erheben einer vollständigen Impfanamnese ist bei Hunden mit den genannten Erkrankungen dennoch obligat, um einen möglichen Zusammenhang erkennen, und das Impfregime in Zukunft entsprechend anpassen zu können. So sollte man bei Hunden mit (überstandenen) immunmedierten Erkrankungen oder genetischer Prädisposition für Immunerkrankungen ein individuelles (minimales) Impfschema entwickeln.⁴⁴ Unnötige Impfungen, zu viele Impfungen zum gleichen Zeitpunkt und das Impfen geschwächter, sehr alter oder febriler Tiere sollten vermieden werden. Zur Überprüfung des Impfschutzes besteht alternativ zur Impfauffrischung außerdem die Möglichkeit der Bestimmung eines Antikörpertiters.⁴⁴

4.3.6 Auslandsaufenthalt

Im Vergleich beider Studiengruppen lag der Anteil an Hunden mit Auslandsanamnese in der sIMHA-Gruppe mit 54 % (13/24) geringgradig höher als in der pIMHA-Gruppe mit 39 % (33/85). Mit einem p-Wert von 0,18 erwies sich diese Beobachtung allerdings als nicht statistisch signifikant. Alle vier Hunde mit sIMHA infolge einer Infektion mit Blutparasiten (je zwei Hunde mit Babesiose bzw. Leishmaniose) waren vorberichtlich im Ausland gewesen bzw. stammten aus dem Ausland. Darüber hinaus konnten keine auffälligen Befunde erhoben werden.

4.4 Klinische Untersuchung

Der mit 86 % (pIMHA) bzw. 85 % (sIMHA) häufigste Befund der klinischen Untersuchung waren blasse Schleimhäute als Ausdruck der bestehenden Anämie.

Diese Beobachtung entspricht den Angaben in der Literatur. Hier wiesen 76 – 98 % der Hunde mit IMHA blasse bis blass-ikterische Schleimhäute auf.^{22,68,105,107,162,164,171} Weitere, in einer Vielzahl der Fälle (> 50 % der Patienten) erhobene Befunde, waren eine veränderte Pulsqualität im Sinne eines Anämiepulses sowie eine erhöhte Atemfrequenz. Daneben konnten außerdem bei einigen Hunden Dehydratationsanzeichen wie pappige Schleimhäute oder ein reduzierter Hautturgor, ein Ikterus, eine erhöhte Körperinnentemperatur, ein Herzgeräusch, palpatorisch detektierbare Organomegalien (Splenomegalie, Lymphadenomegalie), respiratorische Symptome (Hecheln, verschärfte Lungenauskultation, Husten) oder eine Tachykardie festgestellt werden. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Gruppen ergaben sich im Hinblick auf die genannten Parameter nicht.

Die einzige statistisch signifikante Beobachtung nach Auswertung der numerisch erfassbaren Vitalparameter waren höhere Atemfrequenzen in der Gruppe der Hunde mit sIMHA (Abbildung 6). Insgesamt zeigten 69 % der sIMHA-Patienten (18/26) eine Tachypnoe mit > 30 Zügen pro Minute.¹⁴ Darüber hinaus fielen 23 % (6/26) der Hunde mit permanentem Hecheln auf. Lediglich bei 8 % (2/26) der Hunde befand sich die Atemfrequenz im Normbereich.

Eine tatsächlich primäre Lungenerkrankung (Pneumonie) lag lediglich bei einem Hund vor. Eine pulmonale Thrombembolie (PTE) wurde aufgrund einer plötzlichen klinischen Verschlechterung mit dem Auftreten akuter Dyspnoe bei 3/26 Hunden (12 %) vermutet. Alle der betroffenen Hunde fielen initial bereits mit Hecheln bzw. einer Tachypnoe auf. Die Diagnose eines Thrombus in der Pulmonalarterie konnte mit Hilfe weiterführender Untersuchungen (Röntgen, Echokardiographie) bei insgesamt zwei Hunden mit sIMHA (8 %) gestellt werden. Im Vergleich hierzu wurde in der pIMHA-Gruppe bei insgesamt vier Hunden (4 %) eine PTE vermutet bzw. diagnostiziert. Ein statistisch signifikanter Unterschied bezüglich des Auftretens pulmonaler Thrombembolien konnte im direkten Vergleich beider Studienpopulationen nicht festgestellt werden ($p=0,18$).

Als Ursache der in der klinischen Untersuchung bei Erstvorstellung erfassten höheren Atemfrequenzen bei Hunden mit sIMHA erscheint – wie bereits unter 4.3 (Anamnese/Vorstellungsgrund) diskutiert – die Kombination aus vorliegender

Grunderkrankung sowie sIMHA mit folgender Kombination verschiedener Pathomechanismen wahrscheinlich.

4.5 Labordiagnostik

4.5.1 Hämatologie

Der auffälligste Befund nach Auswertung der hämatologischen Parameter war eine im Vergleich stärker ausgeprägte Anämie bei Patienten mit pIMHA. So zeigten Hunde mit pIMHA einen statistisch signifikant niedrigeren Hämatokrit sowie gemessenen Hämoglobinwert (Gesamthämoglobin) und eine geringere Anzahl an Erythrozyten.

Während 77 % (69/90) der Hunde mit pIMHA mit einem Hämatokrit von < 20 % eine hochgradige bis höchstgradige Anämie aufwiesen, waren es in der sIMHA-Gruppe lediglich 58 % der Hunde (15/26). Vergleichend dazu zeigten in der Studie von Engelbrecht et al (2002) lediglich 58 % (14/24) der Hunde mit pIMHA und keiner der Hunde mit sIMHA einen Hämatokrit < 20 %.⁵⁰ In anderen Publikationen zur pIMHA des Hundes lag der Anteil der Hunde mit schwerer Anämie – ähnlich wie im eigenen Patientengut – zwischen 78 % und 88 %.^{23,68,107,129,132}

Neben Alter und Rasse des Tieres hat auch der Hydratationsstatus einen Einfluss auf den Hämatokrit.²⁰⁶ Einen aussagekräftigen Hämatokrit erhält man daher nur bei Messung im hydrierten Zustand. Betrachtet man die Resultate der klinischen Untersuchung zur Evaluation des Hydratationsstatus so fällt auf, dass Dehydratationsanzeichen (pappige Schleimhäute, verminderter Hautturgor) häufiger in der pIMHA-Gruppe (59 %) als in der sIMHA-Gruppe (39 %) erfasst wurden. Die gemessenen Hämatokritwerte der pIMHA-Patienten wurden somit eventuell (noch stärker als in der sIMHA-Gruppe) überschätzt, d.h. die Unterschiede zwischen den Gruppen im Hinblick auf den Schweregrad der Anämie wären nach Rehydratation der Patienten womöglich noch größer. Andererseits kann es auch durch eine persistierende Autoagglutination zu einer Beeinträchtigung des gemessenen Hämatokrits (sowie der Erythrozytenzahl) mit falsch-niedrigen Messresultaten

kommen.⁷⁸ Um dies zu verhindern, sollte man daher bei persistierender Autoagglutination den Mikrohämatokrit bestimmen. Obwohl eine persistierende Autoagglutination in der vorliegenden Studie bei 57 % der Hunde mit pIMHA (51/90) und bei 42 % der Hunde mit sIMHA (11/26) diagnostiziert werden konnte, erfolgte eine Mikrohämatokrit-Messung nur bei 6/51 (12 %) pIMHA-Patienten sowie bei 2/11 (18 %) sIMHA-Patienten, was im Hinblick auf die in die Auswertung eingegangenen Hämatokritwerte kritisch zu bewerten ist. Die Messdifferenz zwischen maschinell bestimmtem Hämatokrit und Zentrifugen-Hämatokrit bei Hunden mit persistierender Autoagglutination betrug hierbei zwischen 5 % und 29 % des Mikrohämatokrits.

Jones et al. konnten in ihrer Studie zeigen, dass Hunde mit pIMHA einen signifikant niedrigeren Hämoglobinwert und somit eine deutlich stärker ausgeprägte Anämie aufwiesen als Hunde mit sIMHA.⁹⁵ Diese Beobachtung deckt sich mit den Resultaten der eigenen Studie.

Ein Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Anämie und der Mortalität der Hunde, wie ihn Ishihara et al. in ihrer Studie demonstrierten,⁸⁸ konnte anhand der eigenen Daten allerdings nicht bestätigt werden.

Zur vollständigen Klassifizierung der vorliegenden Anämie wurden außerdem die Parameter MCV und MCHC ausgewertet. Während im Fall einer Hämolyse initial meist eine normozytär-normochrome Anämie vorliegt, entwickelt sich nach Eintritt der Regeneration eine makrozytäre Anämie, welche hypo- oder normochrom sein kann.⁷⁹ Die beschriebenen Anämietypen konnten nach Evaluation der eigenen Daten bei insgesamt 59 % der Hunde (16/116 normozytär-normochrom, 12/116 makrozytär-normochrom, 40/116 makrozytär-hypochrom) diagnostiziert werden. Eine Makrozytose infolge einer lagerungsbedingten Schwellung der Erythrozyten²¹⁹ ist aufgrund der zeitnahen Messung nach Blutentnahme weitestgehend auszuschließen.

Eine mikrozytäre Anämie konnte bei insgesamt vier Hunden mit pIMHA (4 %) und bei einem Hund mit sIMHA (4 %) diagnostiziert werden. Hinweise auf einen Eisenmangel (reduzierter MCH (durchschnittlicher Hämoglobingehalt des Erythrozyten) und/oder reduzierter CHr (Hämoglobingehalt der Retikulozyten)) ergaben sich bei 4/5 Tieren.

Einer der vier Hunde hatte außerdem bereits beim Haustierarzt eine Bluttransfusion erhalten.

22 % der untersuchten Hunde zeigten außerdem eine hyperchrome Anämie (14/116 normozytär-hyperchrom, 11/116 makrozytär-hyperchrom, 1/116 mikrozytär-hyperchrom). Hierbei handelt es sich um einen Artefakt.⁷⁹ Physiologischerweise ist ein erhöhter Hämoglobingehalt im Erythrozyten nicht möglich, da die Hämoglobinsynthese im Erythrozytenvorläufer persistiert, wenn eine optimale Hämoglobinkonzentration erreicht ist.¹⁹¹ Ursachen eines falsch-hohen MCHC-Wertes sind eine Hämoglobinämie (der gemessene Hämoglobinwert, der zur Berechnung des MCHC-Wertes herangezogen wird enthält intra- und extrazelluläres Hämoglobin), eine vorangegangene Therapie mit Oxyglobin (wird bei der Hämoglobinbestimmung mitgemessen), eine in-vitro Hämolyse oder spektrale Interferenzen bei Hyperlipidämie, ikterischem Probenmaterial, einer massiven Leukozytose mit dem Vorliegen von intakten Leukozyten oder Leukozytenkernen, Heinzkörperchen oder Immunglobulinpräzipitaten.^{79,191} Darüber hinaus existieren humanmedizinische Studien zum Vorliegen von Sphärozyten als Ursache hyperchrom klassifizierter Erythrozyten.¹¹¹ Zur Verifizierung eines falsch-hohen MCHC-Wertes kann bei Evaluation der Erythrozyten mit Hilfe des vollautomatischen Hämatologiesystems ADVIA® der CHCM-Wert herangezogen werden. Ist dieser nicht ebenfalls erhöht, kommen ursächlich für die MCHC-Erhöhung eine Hämoglobinämie oder spektrale Interferenzen wie oben angeführt in Frage.¹⁹¹

Eine vergleichende Betrachtung von MCHC und CHCM bei Patienten mit erhöhten MCHC-Werten war bei 9/22 (41 %) Hunden mit pIMHA und bei 2/4 (50 %) Hunden mit sIMHA möglich. Bei insgesamt 15/26 (58 %) Hunden mit als hyperchrom klassifizierter Anämie lag der CHCM-Wert nicht vor. In allen Fällen mit gemessenem CHCM-Wert befand sich dieser unterhalb des Normbereiches, weshalb eine Hämoglobinämie oder spektrale Interferenzen als Ursachen des falsch-hohen MCHC wahrscheinlich erscheinen. Eine Untersuchung auf das Vorliegen von Heinzkörperchen (Brilliantkresylblau-Färbung) als mögliche Differentialdiagnose normozytär-hyperchromer Erythrozyten im Scattergramm²⁰⁷ wurde nicht standardmäßig durchgeführt. Eine Sphärozytose von > 4 % lag bei 18/26 (69 %)

Hunden mit hyperchromen Erythrozyten vor, wobei 14/18 Tieren (alle mit pIMHA) eine hochgradige Sphärozytose (> 60 %) zeigten.

Eine Regeneration mit Retikulozytenzahlen $> 60 \times 10^9/l$ wiesen initial 86 % der Hunde mit pIMHA (75/87) und 85 % der Hunde mit sIMHA (22/26) auf. Insgesamt lag der Anteil regenerativer Anämien in beiden Gruppen geringgradig höher als in anderen Publikationen zur IMHA des Hundes. Hier konnte bei rund 63 % (40 – 84 %) der Patienten initial eine Regeneration nachgewiesen werden.^{22,29,60,68,86,107,124,132,180,181,212,215,218} Ursächlich für diese geringgradige Diskrepanz kann einerseits die Erkrankungsdauer angeführt werden. Da es sich bei unserer Klinik um eine Überweisungsklinik handelt, werden Patienten häufig nicht im akuten Krankheitsstadium vorgestellt. Somit war der Zeitraum für eine adäquate Regeneration (maximale Knochenmarkantwort nach 4-7 Tagen)¹⁴⁰ zum Zeitpunkt der Vorstellung in den meisten Fällen bereits verstrichen. Darüber hinaus stellte – anders als in einigen der vorangegangenen Publikationen – in der eigenen Studie eine Vorbehandlung mit Glucocorticoiden oder anderen Immunsuppressiva kein Ausschlusskriterium dar. Neben der Dauer der Erkrankung (akut vs. chronisch), dem Grad und der Ursache der Anämie sowie der Konstitution des Patienten²⁰⁹ hat auch eine Vorbehandlung mit Glucocorticoiden oder anderen Immunsuppressiva einen Einfluss auf die Regeneration, da diese Medikamente beispielsweise über eine Hemmung der bestehenden Entzündungsreaktion eine Knochenmarkantwort begünstigen. Ein positiver Einfluss der im Einzelfall erfolgten medikamentösen Vorbehandlung auf den Regenerationsgrad ist in der vorliegenden Studie somit nicht auszuschließen.

Ein Zusammenhang zwischen initial gemessener Retikulozytenzahl und Mortalität wie in der Studie von Klag et al.¹⁰⁷ konnte mit Hilfe der multivariaten Regressionsanalyse (Cox-Proportional-Hazard-Analyse) in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden.

Eine Leukozytose mit Neutrophilie, wie sie bei 67 – 99 % der Hunde mit IMHA beschrieben ist,^{22,64,86,124,129,162,171,180,181,202,218} konnte im eigenen Patientengut bei 69/90 Hunden mit pIMHA (77 %) sowie 19/26 Hunden mit sIMHA (73 %) diagnostiziert werden. Eine zusätzliche Linksverschiebung zeigten 46 % (pIMHA:

41/90) bzw. 58 % (sIMHA: 15/26) der Hunde. Im Vergleich hierzu konnte in anderen Publikationen zur IMHA des Hundes bei 63 – 80 % eine Linksverschiebung diagnostiziert werden.

Ursächlich werden die Veränderungen des Leukogramms auf die bestehende systemische Entzündungsreaktion sowie die unspezifische Knochenmarkstimulation infolge der Immunhämolyse zurückgeführt. Infolge von hypoxisch oder thrombembolisch bedingten Gewebsnekrosen sowie der Freisetzung proinflammatorischer Zytokine, wie Interleukin-1, Interleukin-6 und TNF- α aus aktivierten Makrophagen kommt es zur Knochenmarkstimulation mit vermehrter Freisetzung von neutrophilen Granulozyten.^{40,132} Darüber hinaus ist die Migration neutrophiler Granulozyten aus dem Blutgefäßsystem in schlecht durchblutete, nekrotische Gewebe vermindert.¹³² Auch die medikamentelle Therapie mit Glucocorticoiden beeinflusst die Leukozytenzahl. Über eine Steigerung der Demarginalisation neutrophiler Granulozyten kommt es ebenfalls zur Neutrophilie. Da der Einfluss auf den mitotischen Pool im Knochenmark allerdings sehr gering ist, bewirken Glucocorticoide maximal eine Verdopplung der Leukozytenzahl.¹⁴⁸ Dennoch ist ein möglicher Einfluss von Steroiden bei der Interpretation des Leukogramms von Hunden mit IMHA unter Glucocorticoid-Therapie stets zu berücksichtigen.⁶⁹ Eine Vorbehandlung mit Glucocorticoiden war in der eigenen Studienpopulation bei 30/69 Hunden mit pIMHA (43 %) sowie bei 7/19 Hunden mit sIMHA (39 %) und Leukozytose erfolgt.

Eine Leukopenie, welche bei Hunden mit IMHA selten auftritt und differentialdiagnostisch auf eine Myelosuppression mit folglich gestörter Granulopoese, einen erhöhten Verbrauch im Rahmen eines septischen Prozesses oder eine ebenfalls immunmedierte Zerstörung dieser Zellreihe zurückzuführen sein kann,¹³⁶ zeigten lediglich zwei Hunde mit pIMHA (2 %). In einem Fall (Nr. 61) wurde eine Knochenmarkuntersuchung durchgeführt. Diese ergab neben einer hochgradig gesteigerten Erythropoese mit mittelgradiger Dysplasie und Linksverschiebung eine ausgeprägte myeloische Hypoplasie weshalb zusätzlich der Verdacht einer immunmedierten Neutropenie geäußert wurde. Beide Hunde wurden nach 43 (Nr. 61) bzw. 1914 (Nr. 53) Tagen aufgrund eines Rezidivs unter Therapie euthanasiert.

Ein weiterer Befund der hämatologischen Blutuntersuchung war eine statistisch signifikant höhere Anzahl an Lymphozyten in der pIMHA-Gruppe. Die wahrscheinlichste Ursache hierfür ist eine Fehlmessung aufgrund eines vermehrten Vorliegens von Normoblasten. So zeigten Hunde mit pIMHA im Vergleich der Resultate der quantitativen Normoblastenbestimmung statistisch signifikant höhere Normoblastenzahlen. Obwohl bei allen Hunden ein Blutaussstrich evaluiert wurde, erfolgte nicht in jedem Fall eine manuelle Zelldifferenzierung. Insgesamt wiesen 29/90 Hunden mit pIMHA (32 %) und 6/26 Hunden mit sIMHA (23 %) eine Lymphozytose auf. Während bei allen Hunden mit sIMHA und Lymphozytose eine manuelle Auszählung der Zellen durchgeführt wurde, wurde ein Hand-Differentialblutbild nur bei $\frac{3}{4}$ (22/29) der Patienten mit pIMHA erstellt. Bei allen sieben Hunden mit maschinell gemessener Lymphozytose und fehlender manueller Differenzierung konnten allerdings Normoblasten im Blutaussstrich gefunden werden. Die semiquantitative Bestimmung ergab hierbei in vier Fällen zahlreiche, in zwei Fällen einige und bei einem Patienten wenige Normoblasten. Der erhöhte Lymphozytenwert basiert daher höchstwahrscheinlich auf einer Fehlklassifizierung der Normoblasten. Eine tatsächliche Lymphozytose auch nach manueller Korrektur wiesen insgesamt lediglich 4/90 (4 %) der Patienten mit pIMHA auf.

Eine Thrombopenie mit einer Gesamtthrombozytenzahl $< 150 \times 10^9/l$ konnte bei 21 Hunden mit pIMHA (23 %) sowie bei acht Hunden mit sIMHA (31 %) diagnostiziert werden. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen konnte nicht festgestellt werden. Im Vergleich zu anderen Studien, in denen zwischen 30 % und 85 % ^{22,25,86,107,124,171,181,202,212,218} der Hunde eine Thrombopenie aufwiesen, ist die Anzahl an Hunden mit Thrombopenie im eigenen Patientengut mit insgesamt 25 % etwas geringer. Dies ist wahrscheinlich in erster Linie darauf zurückzuführen, dass Hunde mit einer zusätzlich bestehenden schweren Thrombozytopenie ($< 50 \times 10^9/l$) – beispielsweise in Folge eines Evans Syndroms oder einer DIC – nicht in die eigene Studie inkludiert wurden. In der Literatur beträgt die Anzahl an Hunden mit IMHA und hochgradigen Thrombozytopenien $< 50 \times 10^9/l$ rund 22 % ^{22,25,107,124,132,162,181,196,202}.

Eine Thrombozytose ($> 500 \times 10^9/l$) konnte in beiden Gruppen bei jeweils 12 % der Patienten (pIMHA: 11/90; sIMHA 3/26) festgestellt werden. Eine extreme Thrombozytose ($> 1000 \times 10^9/l$)¹⁵⁰ lag in keinem Fall vor. Ursächlich handelt es sich um eine sekundäre oder auch reaktive Thrombozytose, die häufig in Zusammenhang mit schweren entzündlichen Erkrankungen oder Neoplasien beobachtet wird.¹⁵⁰ Im Rahmen einer Akute-Phase-Reaktion kommt es zur Ausschüttung von Entzündungsmediatoren wie beispielsweise Interleukin-6 sowie zur vermehrten Produktion von Thrombopoietin und folglich zur Thrombozytose.²⁷ Während bei zwei Hunden mit sIMHA und sekundärer Thrombozytose eine Tumorerkrankung zugrunde lag (Mammatumoren, Neoplasie Leber), wies einer der Hunde eine hochgradige Gastritis sowie Nephritis auf.

Als weitere Ursache einer erhöhten Thrombozytenzahl kommt außerdem eine Vorbehandlung mit Medikamenten wie Vincristin oder Glucocorticoiden in Frage.¹⁵⁰ Während in der sIMHA-Gruppe keiner der Hunde mit Thrombozytose mit Glucocorticoiden vorbehandelt war, hatten 5/11 Hunden mit pIMHA (45 %) anamnestisch Prednisolon erhalten.

4.5.2 Blutausstrich

Die häufigsten Befunde der mikroskopischen Evaluation der Blutausstriche waren in beiden Gruppen Veränderungen im Sinne einer gesteigerten Regeneration wie Anisozytose und Polychromasie.

Während eine mittel- bis hochgradige Anisozytose bei 80 % der Hunde mit pIMHA (72/90) nachzuvollziehen war, wiesen diese knapp $\frac{2}{3}$ der Hunde mit sIMHA (17/26) auf. Ursächlich kommen hier neben einem vermehrten Vorliegen von Retikulozyten im Rahmen einer regenerativen Anämie das gehäufte Auftreten mikrozytärer Erythrozyten bei Eisenmangel, vorangegangene Bluttransfusionen oder auch eine Dyserythropoese in Frage.⁷⁹

Eine mittel- bis hochgradige Polychromasie lag in 82 % (pIMHA; 74/90) bzw. 81 % (sIMHA; 21/26) der Fälle vor. Bei allen sechs Hunden mit fehlender Polychromasie (n=2) bzw. lediglich vereinzelt polychromatischen Erythrozyten im Blutausstrich

(n=4) lagen auch die gemessenen Retikulozytenzahlen im nicht-regenerativen Bereich ($< 60 \times 10^9/l$). Aufgrund der fehlenden Regeneration erhielten alle der betroffenen Hunde entweder bereits während des stationären Aufenthaltes (n=5) oder im Verlauf der Erkrankung (n=1) eine Kombinationstherapie aus verschiedenen Immunsuppressiva (Prednisolon, Azathioprin, Ciclosporin). Vier Hunde zeigten unter Therapie schließlich einen Anstieg der Retikulozytenzahlen $> 60 \times 10^9/l$ an Tag zwei, sieben, neun bzw. 17. Ein Hund zeigte zumindest eine deutliche klinische Besserung nach Entlassung. Die Blutwerte der hämatologischen Kontrolluntersuchung beim Haustierarzt liegen in diesem Fall allerdings nicht vor. Ein weiterer Hund verstarb plötzlich an Tag drei des stationären Aufenthaltes ohne Möglichkeit der Reevaluation der Blutwerte nach Therapiebeginn. Insgesamt verstarben 83 % (5/6) der Hunde mit initial fehlender Regeneration bzw. wurden aufgrund von Komplikationen (n=1) oder eines Rezidivs (n=3) euthanasiert.

Normoblasten konnten in 66 % (59/90; pIMHA) bzw. 46 % (12/26; sIMHA) der Fälle nachgewiesen werden. Der Vergleich der quantitativen Auswertung (Anzahl an Normoblasten pro 100 ausgezählter Leukozyten) ergab eine statistisch signifikant höhere Anzahl an Normoblasten in der pIMHA-Gruppe ($p=0,01$). Neben einer gesteigerten Regeneration kommen differentialdiagnostisch für das Auftreten von Normoblasten Milzerkrankungen, primäre Knochenmarkerkrankungen (z.B. Leukämien), kardiovaskuläre Erkrankungen, systemische Entzündungsreaktionen, eine extramedulläre Hämatopoese, ein Hyperadrenokortizismus oder auch eine Bleiintoxikation in Frage.^{79,219} Des Weiteren können Normoblasten im peripheren Blut bei Knochenmarkschädigungen z.B. infolge einer Septikämie, eines Endotoxin-Schocks oder nach Medikamentenapplikation sowie nach einem Hitzschlag auftreten.⁷⁹

Insgesamt stellen Normoblasten einen deutlich schlechteren Indikator für das Vorliegen einer Regeneration dar als der Nachweis von Retikulozyten.⁷⁹

Da bezüglich der Anzahl an Retikulozyten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden konnten, erklärt sich die höhere Normoblastenzahl bei Hunden mit pIMHA nicht durch eine ausgeprägtere Regeneration. Als mögliche

Ursachen sind daher in erster Linie eine eventuell stärkere systemische Entzündungsreaktion sowie extramedulläre Hämatopoese zu diskutieren.

Weitere, im Blutausstrich sichtbare morphologische Veränderungen der Erythrozyten, welche u.a. als Hinweis auf eine (immun-)hämolytische Anämie gewertet werden können,¹⁹¹ waren Schistozyten (17/116), Exzentrozyten (10/116), Keratozyten (8/116), Akanthozyten (2/116) sowie Pyknozyten (1/116).

Veränderungen der Erythrozytenmorphologie, welche u.a. im Rahmen einer gesteigerten Regeneration zu sehen sind,⁷⁹ wie Howell-Jolly-Körperchen (66/116), Targetzellen (36/116) oder Knizozyten (4/116) waren ebenfalls zu beobachten.

Darüber hinaus wiesen 10/116 Hunden im Blutausstrich Ghosts auf. Hierbei handelt es sich um Erythrozytenhüllen, welche beispielsweise in Zusammenhang mit einer intravaskulären Hämolyse auftreten können.

4.5.3 Autoagglutination

Eine persistierende Autoagglutination wiesen 57 % (51/90; pIMHA) bzw. 42 % (11/26; sIMHA) der Patienten auf. Eine Waschung der Erythrozyten im Anschluss an den Objektträgeragglutinationstest ist allerdings nicht in jedem Fall dokumentiert. Die Diagnose der Immnhämolyse erfolgte in 14 % (13/90; pIMHA) bzw. 19 % (5/26; sIMHA) der Fälle alleine aufgrund des Vorliegens einer Autoagglutination. Eine Erythrozytenwaschung wurde bei den betreffenden Patienten in 31 % (4/13; pIMHA) bzw. 20 % (1/5; sIMHA) der Fälle durchgeführt.

In einem Großteil bereits veröffentlichter Studien zur pIMHA des Hundes wurde eine nach Verdünnung mit Kochsalzlösung bzw. nach Durchführung eines Objektträgeragglutinationstests persistierende Agglutination als Beweis einer bestehenden Autoagglutination gewertet.^{21,22,25,64,66,83,86,88,99,129,181,196,202,212,215,221} Eine positive Agglutinationsreaktion konnte somit in 38 – 100 % (Durchschnitt: 70 %) der Fälle diagnostiziert werden.^{21,22,25,64,66,83,86,99,129,181,196,202,212,215,221} Demgegenüber konnte eine echte Autoagglutination, welche auch nach Erythrozytenwaschung persistierte, in 4 – 49 % der Fälle mit pIMHA^{48,50,63,68,107,124} sowie bei 14 %⁵⁰ bzw. 60 %⁴⁸ der

Hunde mit sIMHA nachgewiesen werden. Die vollständigen Resultate der genannten Studien sind in Tabelle 34 zusammengefasst. Auffällig ist, dass bei bis zu 96 % der Hunde mit pIMHA und 86 % der Hunde mit sIMHA die initial auffällige Agglutination nach dem Waschen nicht mehr nachzuvollziehen war. Daher sind positive Resultate eines reinen Objektträgeragglutinationstests ohne Erythrozytenwaschung immer unter Vorbehalt zu interpretieren.

Studie	Anzahl der Patienten	Autoagglutination initial	persistierende Autoagglutination nach Waschen	initial falsch-positive Tiere (%)
Engelbrecht et al. ⁵⁰	23 (pIMHA)	23	1	96
	7 (sIMHA)	7	1	86
Griebsch et al. ⁶⁸	37	37	3	92
Klag et al. ¹⁰⁷	42	-	4	-
Goggs et al. ⁶³	21	9	6	33
Mason et al. ¹²⁴	18	-	8	-
Duval et al. ⁴⁸	43 (pIMHA)	-	21	-
	15 (sIMHA)		9	

Tabelle 34: Vergleich Autoagglutination initial und nach Waschen

4.5.4 Klinische Chemie

In den Parametern der klinischen Chemie bei Hunden mit IMHA spiegeln sich in erster Linie die Effekte der anämiebedingten Gewebshypoxie, der bestehenden Immunhämolyse, einer vorliegenden Dehydratation sowie möglicher thrombembolischer Organschädigungen wider.¹³⁶

Im direkten Vergleich beider Studienpopulationen zeigten die Hunde mit sIMHA statistisch signifikant höhere Resultate der Leberenzymwerte ALT und GLDH. Darüber hinaus konnten keine relevanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden.

Während es sich bei der Alanin-Aminotransferase (ALT) um ein zytoplasmatisches Leberenzym handelt, welches in geringerer Menge auch in Muskelzellen vorkommt, ist die Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) in den Mitochondrien der Hepatozyten lokalisiert.¹⁸⁹ Als Ursache für einen Anstieg der genannten Enzyme kommen bei Hunden mit IMHA in erster Linie eine Leberzelldegeneration bzw. -nekrose (zentrolobuläre Nekrose) in Frage, welche als Folge der anämiebedingten Hypoxie oder im Rahmen von Thrombembolien auftreten können. Im Fall einer sIMHA kann es außerdem infolge der bestehenden Grunderkrankung zur Ausprägung einer Hepatopathie kommen. Dies muss vor allem bei Tumorerkrankungen, welche die Leber primär oder sekundär involvieren, in Betracht gezogen werden.

Insgesamt zeigten je 12/26 Hunden mit sIMHA (46 %) eine Erhöhung der Leberenzymwerte ALT oder GLDH. Bei 10/12 Hunden stellten sich beide Leberenzymwerte erhöht dar. Eine mehr als zweifache Erhöhung konnte bei 9/26 (35 %; ALT) bzw. 11/26 (42 %; GLDH) Hunden mit sIMHA festgestellt werden. 8/26 (31 %) Hunden mit sIMHA zeigten einen mehr als zweifachen Anstieg von ALT und GLDH in Kombination. Ursächlich für die bestehende Immunhämolyse konnte bei diesen Hunden in fünf Fällen eine Neoplasie (Mammatumoren, Mamma- und Lebertumor, Lymphom, Histiozytäres Sarkom, Gallengangskarzinom) sowie in je einem Fall eine Babesiose bzw. eine Pankreatitis diagnostiziert werden. Bei einem Hund wurde von einer vakzineassoziierten IMHA ausgegangen.

Weitere Auffälligkeiten der blutchemischen Untersuchung waren eine Erhöhung von Harnstoff (42/116) oder Kreatinin (5/26), eine Hyperbilirubinämie (99/115), sowie eine Hypoalbuminämie (77/114). Dies deckt sich mit den Angaben in der Literatur.^{50,107,129,132,171} Während im Rahmen einer IMHA ursächlich für eine bestehende Azotämie vor allem prärenale (Dehydratation) oder auch renale (Nierenerkrankung) Ursachen diskutiert werden müssen,^{136,203} kann eine Hyperbilirubinämie infolge einer massiven Hämolyse (prähepatisch) oder einer

(sekundären) Leberfunktionsstörung (intrahepatisch) auftreten.^{107,174} Die Hypoalbuminämie kann unter anderem Folge eines Albuminverlustes (Blutung, Vaskulitis etc.), einer Bildungsstörung (Hepatopathie), einer verminderten Synthese (Albumin als negatives Akute-Phase-Protein) oder einer Infusions-bedingten Dilution von Plasmaeiweißen sein.^{25,142}

Neben den genannten Veränderungen konnte in der eigenen Studienpopulation in zahlreichen Fällen zudem eine Hyperglobulinämie (80/112) festgestellt werden. Diese erklärt sich primär durch die bestehende Entzündungsreaktion mit vermehrter Produktion von positiven Akute-Phase-Proteinen sowie Immunglobulinen bzw. im Fall einer sIMHA eventuell zusätzlich durch die bestehende Grunderkrankung (z.B. monoklonale Gammopathie im Fall eines Lymphoms). Elektrolytverschiebungen, wie z.B. eine Erhöhung von Natrium (71/115) oder Chlorid (60/110) sind primär als Folge erhöhter Flüssigkeitsverluste (Durchfall, Erbrechen etc.) oder einer verminderten Wasseraufnahme (Inappetenz, Anorexie) zu interpretieren und somit als Folgeerscheinungen zu bewerten. Eine weitere Auffälligkeit der blutchemischen Untersuchung, welche bei 71/111 Hunden zu beobachten war, ist eine Hypertriglyceridämie. Hier müssen ursächlich vor allem eine Vorbehandlung mit Glucocorticoiden oder eine postprandiale Lipämie in Betracht gezogen werden. Auch im Rahmen einer Cholestase kann es zu einem (milden) Anstieg der Triglyceride kommen. Allerdings müsste in diesem Fall auch eine Hypercholesterinämie vorliegen. Diese war jedoch nur bei 25/113 Hunden auffällig.

4.5.5 Harnstatus

Die Hauptindikation zur Durchführung einer Urinuntersuchung bei Hunden mit hämolytischer Anämie besteht im Vorliegen einer Pigmenturie, welche auf eine bestehende Bilirubinurie oder – im Fall einer intravaskulären Hämolyse – auf eine Hämoglobinurie zurückzuführen sein kann.⁷ Der häufigste Befund einer Harnuntersuchung bei Hunden mit IMHA ist das Vorliegen einer Bilirubinurie.¹³⁶ Diese konnte in verschiedenen Studien bei 71 % (12/17)⁵⁰ bzw. 89 % (16/18)¹²⁴ der Hunde mit pIMHA nachgewiesen werden.

Im eigenen Patientengut wurde bei insgesamt 48 Hunden (41 %) eine Urinuntersuchung durchgeführt. Eine mittel- bis hochgradige Bilirubinurie konnte mittels Harnteststreifen bei 30/48 Patienten (63 %) diagnostiziert werden. Eine Hämoglobinurie wiesen insgesamt 14/48 Hunde (29 %) auf. Eine parallel bestehende Hämoglobinämie konnte bei keinem der Patienten diagnostiziert werden. Während in der pIMHA-Gruppe 5/11 Hunde (45 %) mit Hämoglobinurie innerhalb von 1-165 Tagen nach Diagnosestellung aufgrund einer Verschlechterung des Allgemeinbefindens bzw. eines Rezidivs verstarben oder euthanasiert wurden, wurden in der sIMHA-Gruppe 2/3 Hunden nach 311 bzw. 965 Tagen aufgrund anderer Erkrankungen euthanasiert bzw. überlebten bis zum Ende der Studie (1/3). Ursächlich für die bestehende Immunhämolyse konnten eine Leishmaniose, eine Babesiose bzw. eine Impfreaktion diagnostiziert werden.

4.5.6 PT/aPTT

Eine Störung der sekundären Hämostase konnte anhand der Bestimmung der Prothrombinzeit (PT) und der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) bei elf von 38 getesteten Hunden (29 %) festgestellt werden. Acht Hunde mit pIMHA (30 %) und drei Hunde mit sIMHA (27 %) wiesen eine signifikante Verlängerung von mehr als 25 % des oberen Referenzwertes¹⁹² auf. Während eine singuläre PT- bzw. aPTT-Verlängerung bei 9/11 Hunden auffiel, zeigten 2/11 Hunden eine verlängerte PT und aPTT in Kombination. Bei beiden Tieren lag eine pIMHA zugrunde.

Von den drei Hunden mit sIMHA und verlängerten Gerinnungszeiten wurde ein Hund nach sechs Tagen aufgrund einer progressiven Hämolyse eingeschläfert. Klinische Hinweise auf eine Thrombembolie ergaben sich in diesem Fall nicht. Die beiden anderen Hunde verstarben nach 232 bzw. 19 Tagen plötzlich infolge eines Rezidivs bzw. nach kurzer, hochgradiger Dyspnoe mit Verdacht auf Thrombembolie der Lunge.

In der pIMHA-Gruppe wurden beide Hunde mit gleichzeitiger Verlängerung von PT und aPTT nach einem bzw. zwei Tagen euthanasiert. Bei einem weiteren Hund erfolgte die Euthanasie aufgrund eines Rezidivs nach 1914 Tagen. Zwei Hunde

überlebten bis zum Studienende, zwei weitere Hunde verstarben plötzlich 55 bzw. 130 Tage nach Entlassung. Ein Hund wurde nach 1148 Tagen aufgrund einer anderen Erkrankung (Plattenepithelkarzinom) euthanasiert.

Von den elf Hunden mit nachgewiesener Gerinnungsstörung verstarben insgesamt acht Hunde (72 %) infolge der IMHA oder wurden aufgrund einer Verschlechterung der klinischen Symptomatik zeitnah euthanasiert. Da aufgrund des retrospektiven Charakters der Studie nicht bei jedem Hund standardmäßig eine Bestimmung der Gerinnungsparameter PT und aPTT erfolgte, ist eine genaue statistische Aussage zur Bedeutung von PT und aPTT als prognostische Parameter bei Hunden mit IMHA nicht möglich. Dennoch zeigt sich auch hier, dass eine bestehende Hypokoagulabilität negativ mit dem Überleben zu korrelieren scheint. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer Störung der sekundären Hämostase und dem Überleben der Tiere konnte bereits in zahlreichen vorangegangenen Studien bewiesen werden.^{22,68,88,161,215,221}

Zusätzlich zu den signifikant verlängerten Gerinnungszeiten wiesen 4/11 Hunden eine Thrombopenie, ein Hund eine Thrombopenie sowie Fragmentozyten im Blutausschlag und ein Hund eine Thrombopenie sowie erhöhte D-Dimere von 1,1 µg/dl auf. Somit erfüllten insgesamt sechs Hunde labordiagnostisch ausreichend Kriterien zur Diagnose einer DIC.¹⁹⁴ Die Überlebenszeiten der betroffenen Patienten betragen sechs, 19, 55 sowie 1914 Tage. Zwei Hunde überlebten bis zum Ende der Studie. Der klinische Verdacht einer Thrombembolie wurde lediglich bei zwei Hunden geäußert. Beide Hunde verstarben plötzlich nach 19 bzw. 55 Tagen.

Von insgesamt drei Hunden mit intra vitam diagnostizierter Thrombembolie wurde lediglich bei zwei Hunden die sekundäre Hämostase mittels Bestimmung von PT und aPTT überprüft. Bei beiden Tieren ergab sich ein Normalbefund. Bei dem dritten Hund mit nachgewiesener pulmonaler Thrombembolie konnte anhand des durchgeführten Thrombelastogramms allerdings eine Hyperkoagulabilität diagnostiziert werden. Diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen der Studie von Wiinberg et al. zur Diagnose der DIC beim Hund. Hier konnte gezeigt werden, dass der häufigste Befund einer Verbrauchskoagulopathie eine Hyperkoagulabilität ist, welche lediglich anhand einer Thrombelastographie eindeutig

zu diagnostizieren ist. Die frühzeitige Detektion einer Hyperkoagulabilität, welche das Frühstadium einer DIC darstellt, verhindert bei zeitnaher antithrombotischer Therapie das Auftreten thrombembolischer Komplikationen und verbessert das Outcome.²²⁴ Da anhand einer Bestimmung von PT und aPTT lediglich hypokoagulable Zustände uns somit ein Spätstadium der DIC zu detektieren sind, schließen normale Gerinnungsparameter (PT, aPTT) eine Hyperkoagulabilität nicht aus. Daher ist die Durchführung einer Thrombelastographie nach Diagnose einer IMHA durchaus sinnvoll, um zeitnah mit einer antithrombotischen Therapie starten und diese im Verlauf kontrollieren zu können.

4.5.7 TEG

Zur Detektion hyperkoagulabler Zustände mittels Thrombelastographie bei Hunden mit IMHA existieren verschiedene Studien. Zwischen 80 % und 100 % der Hunde wiesen hier ein hyperkoagulables TEG auf.^{54,56,64,184} Ein initial normaler Koagulationsindex^{56,184} bzw. eine niedrigere Maximalamplitude⁶⁴ als Ausdruck einer relativen Hypokoagulabilität^{64,184} waren darüber hinaus mit einer deutlich höheren Mortalitätsrate assoziiert.

Ursächlich für die bestehende Hyperkoagulabilität bei Hunden mit IMHA können neben einer bestehenden Hyperfibrinogenämie eine gesteigerte Aktivierung des Kontaktaktivierungssystems (intrinsisches System) sowie der Thrombozyten, die bestehende Hämolyse und der Einsatz von Immunsuppressiva – insbesondere Glucocorticoiden – angeführt werden.⁶⁴

In der eigenen Studie erfolgte die Durchführung eines Thrombelastogramms bei insgesamt acht Hunden (7 %). Hinweise auf eine gesteigerte Gerinnung ergaben sich bei 6/8 Hunden (75 %). Vier Hunde mit auffällig erhöhter Maximalamplitude wurden aufgrund einer akuten Verschlechterung bzw. eines Rezidivs der Erkrankung nach zwei, drei, vier und 43 Tagen euthanasiert. Ein Hund verstarb nach 575 Tagen aufgrund einer fortgeschrittenen Herzerkrankung, ein weiterer überlebte bis zum Studienende. In der Gruppe der Hunde mit sIMHA und verändertem TEG (zwei Hunde) konnten als potentielle Auslöser der IMHA ein Mastzelltumor sowie ein Milztumor diagnostiziert werden.

Auffällig ist, dass beide Hunde mit normaler Maximalamplitude im TEG nach einem bzw. vier Tagen aufgrund einer akut aufgetretenen Dyspnoe mit dem Verdacht einer pulmonalen Thrombembolie in Agonie euthanasiert werden mussten. Auch wenn eine vergleichende statistische Auswertung aufgrund der niedrigen Fallzahlen der Hunde mit TEG im eigenen Patientengut nicht möglich ist, unterstützt diese Beobachtung die Resultate vorangegangener Publikationen. So konnte gezeigt werden, dass ein initial normaler oder erniedrigter Koagulationsindex^{56,184} bzw. eine niedrigere Maximalamplitude⁶⁴ mit einer deutlich höheren Mortalitätsrate assoziiert sind.

Die Normalisierung des TEGs stellt somit den Übergang vom hyper- zum hypokoagulablen Zustand dar, weshalb auch von einer relativen Hypokoagulabilität gesprochen wird.⁶⁴

4.5.8 D-Dimere

Die Bestimmung der D-Dimere zur weiteren Abklärung einer möglichen DIC erfolgte bei insgesamt sieben Hunden (6 %). Erhöhte Werte von $\geq 0,1 \mu\text{g/d}$ konnten bei 4/7 Hunden (57 %) festgestellt werden. Bei zwei Hunden war eine Messung aufgrund einer ausgeprägten Hämolyse nicht durchführbar. Von den vier Hunden mit erhöhten D-Dimeren (je 2 Hunde mit pIMHA bzw. sIMHA) wurden in der pIMHA-Gruppe zwei Hunde innerhalb von vier bzw. 1914 Tagen aufgrund einer Verschlechterung des Allgemeinbefindens bzw. eines Rezidivs euthanasiert. Zwei Hunde mit sIMHA und erhöhten D-Dimeren überlebten bis zum Ende der Studie bzw. verstarben nach 575 Tagen aufgrund einer anderen Erkrankung (Mitralklappenendokardiose, Mastzelltumor). Der Verdacht einer pulmonalen Thrombembolie wurde aufgrund einer entsprechenden klinischen Symptomatik (akute Dyspnoe) sowie röntgenologischer und echokardiographischer Veränderungen (geringgradiger Thoraxerguss, vermehrt interstitielle Lungenzeichnung, gestaute Pulmonalarterie, pulmonaler Hochdruck) bei einem Hund mit sIMHA und erhöhten D-Dimeren ausgesprochen. Ein weiterer Hund mit sIMHA und nicht-messbaren D-Dimeren infolge Hämolyse wies ebenfalls eine sonographisch darstellbare pulmonale

Thrombembolie mit sekundärem pulmonalem Hochdruck auf. Dieser Hund wurde aufgrund einer akuten Verschlechterung des Allgemeinbefindens mit Dyspnoe und Verschlechterung der Sauerstoffsättigung auf Besitzerwunsch euthanasiert.

In einer Studie zur Detektion von Gerinnungsstörungen bei Hunden mit pIMHA wiesen 16/20 Hunden (80 %) erhöhte D-Dimere auf. Eine DIC konnte bei 9/20 Hunden (45 %) diagnostiziert werden. Bei weiteren vier Hunden wurde der Verdacht einer DIC geäußert.¹⁸¹

4.5.9 Entzündungsparameter (Fibrinogen, Blutsenkung, CRP)

Im Rahmen der bestehenden Immunhämolyse sowie der damit assoziierten hypoxisch bedingten Gewebsschädigung kommt es bei Hunden mit IMHA zu einer Akuten-Phase-Reaktion, welche sich durch eine Leukozytose mit Neutrophilie (\pm Linksverschiebung) sowie eine Änderung der Serumkonzentration verschiedener Akute-Phase-Proteine, wie C-reaktives Protein, Ceruloplasmin, Haptoglobin, Serum-Amyloid-A, α -1-saures Glycoprotein, Fibrinogen und Albumin äußert.^{67,69,142,201} In verschiedenen Studien zur Bedeutung von Akute-Phase-Proteinen (APPs) bei Hunden mit IMHA konnte gezeigt werden, dass diese vor allem innerhalb der akuten hämolytischen Krise ansteigen und Ausdruck einer schweren systemischen Entzündungsreaktion sind.^{69,142,201} Eine Korrelation zwischen der Höhe der (initial) gemessenen APPs und der Mortalität der Hunde mit IMHA konnte jedoch nicht nachgewiesen werden.^{69,142}

Beim Hund stellt das C-reaktive Protein neben dem Serum-Amyloid-A das wichtigste positive Akute-Phase-Protein (APP) dar (Major APP).⁴⁹ Auch bei anderen immunvermittelten Erkrankungen, wie der Steroid-responsiven-Meningitis-Arteriitis oder der Idiopathischen Polyarthritits konnte im akuten Krankheitsstadium ein Anstieg der APPs sowie ein Abfall im Therapieverlauf beobachtet werden.^{106,119,152}

Im eigenen Patientengut erfolgte eine CRP-Bestimmung in beiden Gruppen bei jeweils vier Hunden. Einen erhöhten Wert von $> 13,33$ mg/l wiesen drei Hunde mit pIMHA und zwei Hunde mit sIMHA (IMHA nach Impfung) auf. Von den insgesamt fünf Hunden mit erhöhtem CRP-Wert wurden zwei Hunde mit pIMHA nach 32 bzw.

43 Tagen aufgrund eines Rezidivs euthanasiert (CRP: 41,7 bzw. 24,6 mg/l). Die drei anderen Hunde (CRP: 41,7 – 57,5 mg/l) überlebten bis zum Ende der Studie. Parallel zur CRP-Erhöhung zeigten vier Hunde eine Leukozytose ($15,5 – 61,1 \times 10^9/l$) mit Neutrophilie. Eine zusätzliche Linksverschiebung wiesen drei Hunde auf. Bei einem Hund mit pIMHA lag hingegen eine Leukopenie vor. Eine Korrelation zwischen CRP und der Anzahl an Leukozyten konnte in verschiedenen Studien bestätigt werden.^{69,142}

Eine Kontrolle des C-reaktiven Proteins erfolgte lediglich bei einem Hund. Hier zeigte sich ca. 39h nach Therapiebeginn ein marginaler Rückgang des CRP-Wertes von initial 53,6 g/l auf 47,7 g/l. In einer Studie über den Verlauf von Akute-Phase-Proteinen bei Hunden mit pIMHA konnte gezeigt werden, dass eine Downregulation von CRP bereits 48h nach Beginn der medikamentellen Therapie einsetzt.¹⁴² Eine Normalisierung von CRP sowie anderen APPs wie Albumin oder dem α -1-sauren Glycoprotein trat innerhalb von sieben bis neun Tagen nach Therapiebeginn ein. Die APP-Konzentrationen bei Hunden in Remission entsprachen hierbei denen gesunder Hunde.¹⁴² Während ein Rückgang der Akute-Phase-Proteine somit als Hinweis auf eine erfolgreiche Therapie gewertet werden kann, sollte bei einem Anstieg oder einer persistenten Erhöhung ein Therapieversagen oder Rezidiv in Betracht gezogen werden.²⁰¹ Somit ist die Bestimmung von APPs in erster Linie zur Verlaufskontrolle geeignet.

Ein weiteres APP, welches in der vorliegenden Studie bei insgesamt acht Hunden gemessen wurde, ist Fibrinogen. Eine Hyperfibrinogenämie konnte bei sechs Hunden diagnostiziert werden. Während Fibrinogen im Rahmen einer akuten systemischen Entzündungsreaktion ansteigt, kommt es im Verlauf einer Gerinnungsaktivierung mit Thrombenbildung zu einer Thrombin-vermittelten Spaltung von Fibrinogen in Fibrinmonomere und schließlich zum Verbrauch von Fibrinogen mit Ausprägung einer Hypofibrinogenämie.⁵⁴ Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Letalität und Hypofibrinogenämie konnte in der Studie von Griebisch et al. zur pIMHA des Hundes aufgezeigt werden.⁶⁸ In der eigenen Studienpopulation wies keiner der untersuchten Hunde einen erniedrigten Fibrinogenwert auf.

Als weiterer Nachweis der bestehenden systemischen Entzündungsreaktion erfolgte bei fünf Hunden außerdem eine Bestimmung der Blutsenkungsgeschwindigkeit nach Westergren. 4/5 Tieren zeigten hier einen erhöhten Wert. Neben Infektionserkrankungen, der Resorption von Entzündungsprodukten, einer Urämie, einer parenteralen Proteinresorption, einer Leukämie oder einer malignen Neoplasie kann es auch im Rahmen einer bestehenden Anämie zu einer erhöhten Blutsenkungsgeschwindigkeit kommen.¹⁴⁵ Daher ist dieser Parameter zur Überwachung der Entzündungsreaktion bei Erkrankungen, die mit einer Hämolyse einhergehen, nur bedingt geeignet.¹²⁶

4.5.10 Coombs-Test

Ein direkter Coombs-Test zum Nachweis einer Immnhämolyse erfolgte bei insgesamt 21 % der Patienten (24/116). In 70 % der auswertbaren Fälle (16/23) konnten antierythrozytäre Antikörper nachgewiesen werden. Bei einem Hund konnte der Coombstest aufgrund einer Kompletthämolyse der Probe nicht durchgeführt werden. Bei 30 % der getesteten Hunde (7/23) verlief der Coombs-Test negativ. Unter Berücksichtigung aller weiteren Laborresultate (Autoagglutination, Sphärozytose) sowie der klinischen Entwicklung (Ansprechen auf die immunsuppressive Therapie) muss hierbei von einem falsch-negativen Ergebnis ausgegangen werden. Auffällig ist, dass der Coombs-Test bei allen betroffenen sieben Hunden durch den Haustierarzt eingeleitet wurde. Die Testdurchführung erfolgte – anders als bei den durch unsere Klinik eingesandten Proben – in verschiedenen externen Labors und nicht durch die Arbeitsgruppe Immunologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Darüber hinaus waren 5/7 Hunden (71 %) zum Zeitpunkt der Vorstellung in unserer Klinik bereits mit Prednisolon antherapiert. Eine immunsuppressive Behandlung vor Durchführung des Coombs-Tests ist daher ist nicht auszuschließen, was ein falsch-negatives Testergebnis durchaus erklären könnte.

Die Sensitivität des Coombs-Tests wird abhängig von der angewandten Testmethode (Verwendung mono- oder polyvalenter Seren, Temperatur etc.) mit 53-

82 % (im Durchschnitt 64 %) angegeben.^{155,167,225} In verschiedenen Publikationen zur IMHA des Hundes, bei denen ein positiver Coombs-Test nicht zu den obligaten Einschlusskriterien gehörte, wiesen durchschnittlich 35 % der Patienten ein falsch-negatives Resultat auf.^{21,22,25,52,60,83,89,99,108,171,180,181,196,202,215,218} Die genauen Studienergebnisse sind in Tabelle 35 in aufsteigender chronologischer Reihenfolge zusammengefasst. Mögliche Ursachen eines falsch-negativen Testresultats im Coombs-Test (technische Fehler, Probenfehler) wurden unter 2.5.2 bereits ausführlich diskutiert und sind im Einzelnen in Tabelle 1 aufgeführt.

Studie	Anzahl an Patienten	Anzahl Coombs-Tests	positiv	negativ
Jackson et al. ⁸⁹	19	17	11/17 (65 %)	6/17 (35 %)
Klein et al. ¹⁰⁸	31	21	13/21 (62 %)	8/21 (38 %)
Feldman et al. ⁵²	57	57	36/57 (63 %)	21/57 (37 %)
Kellerman et al. ⁹⁹	37	20	10/20 (50 %)	10/20 (50 %)
Scott-Moncrieff et al. ¹⁸⁰	10	10	6/10 (60 %)	4/10 (40 %)
Reimer et al. ¹⁷¹	70	46	17/46 (37 %)	29/46 (63 %)
Burgess et al. ²²	60	46	41/46 (89 %)	5/46 (11 %)
Scott-Moncrieff et al. ¹⁸¹	20	19	13/19 (68 %)	6/19 (32 %)
Carr et al. ²⁵	72	43	33/43 (77 %)	10/43 (23 %)
Gerber et al. ⁶⁰	22	22	17/22 (77 %)	5/22 (23 %)
Thompson et al. ²⁰²	13	13	13/13 (100 %)	0/13 (0 %)
Weinkle et al. ²¹⁵	151	75	58/75 (77 %)	17/75 (23 %)
Weiss et al. ²¹⁸	20	12	7/12 (58 %)	5/12 (42 %)

Studie	Anzahl an Patienten	Anzahl Coombs-Tests	positiv	negativ
Breuhl et al. ²¹	18	18	11/18 (61 %)	7/18 (39 %)
Helmond et al. ⁸³	15	3	2/3 (67 %)	1/3 (33 %)
Swann et al. ¹⁹⁶	42	23	7/23 (30 %)	16/23 (70 %)

Tabelle 35: Coombs-Test-Resultate in verschiedenen Publikationen zur IMHA des Hundes

Der am häufigsten nachgewiesene Immunglobulintyp war in beiden Gruppen mit 7/16 Hunden (pIMHA) bzw. 4/8 Hunden IgG. Dies deckt sich mit den Angaben in der Literatur.^{43,185,225} Harkin et al. konnten außerdem zeigen, dass Patienten mit mehr als einem nachgewiesenen Immunglobulin-Isotyp – insbesondere IgG und IgM in Kombination – im Vergleich häufig eine ausgeprägtere Anämie sowie Sphärozytose und Autoagglutination aufwiesen. In der eigenen Studienpopulation konnten lediglich bei einem Hund IgG und IgM detektiert werden. Der betroffene Hund zeigte mit einem Hämatokrit von 0,15 eine schwere Anämie, eine Sphärozytose von +++ (20-60 %) und eine persistierende Objektträgeragglutination. Er überlebte dennoch bis zum Studienende.

4.5.11 Infektionserkrankungen

Da vektorübertragene Erkrankungen potentielle Auslöser einer IMHA darstellen, sollten Hunde mit Anämie und entsprechender Anamnese (Zeckenexposition, Auslandsaufenthalt), passender klinischer Symptomatik (Lymphadenomegalie, Hautveränderungen etc.) oder weiteren auffälligen Laborwertveränderungen (weitere Zytopenien, Hyperglobulinämie etc.) diesbezüglich getestet werden.

Im eigenen Patientengut wurde bei insgesamt 4/26 Hunden (15 %) aufgrund der Resultate weiterführender serologischer (Bestimmung des Antikörper-Titers) oder molekularbiologischer (direkter Erregernachweis mittels PCR) Untersuchungen eine

vektorübertragene Erkrankung als Ursache der bestehenden IMHA in Betracht gezogen. Je zwei Hunde wiesen eine Babesiose bzw. Leishmaniose auf.

Im Vergleich hierzu konnten Engelbrecht et al. bei 4/7 Hunden mit sIMHA (57 %) ursächlich eine Ehrlichiose (n=1), eine Leishmaniose (n=2) sowie eine Koinfektion mit Leishmanien und Babesien (n=1) nachweisen.⁵⁰ Der Anteil vektorübertragener Erkrankungen lag somit deutlich höher als in der eigenen Studienpopulation. In einer weiteren Publikation zur Anwendung von Mycophenolat-Mofetil bei Hunden mit pIMHA wiesen 3/22 Hunden mit sIMHA (14 %) eine Ehrlichien-Infektion auf.²¹⁰ In den älteren Studien von Jones bzw. Feldmann et al. aus den Jahren 1991 bzw. 1996 wurde bei keinem der inkludierten Hunde mit sIMHA eine vektorübertragene Erkrankung diagnostiziert.^{52,95}

Die unterschiedlichen Prävalenzen für vektorübertragene Erkrankungen in den einzelnen Studien sind in erster Linie auf zeitliche (diagnostische Möglichkeiten zu einem früheren Zeitpunkt evtl. noch nicht ausgereift, pathophysiologische Zusammenhänge nicht vollständig geklärt etc.) sowie regionale Unterschiede (unterschiedliche Prävalenzen zeckenübertragener Erkrankungen, unterschiedliches Reiseverhalten der Tierbesitzer, höhere Anzahl an Tierimporten etc.) zurückzuführen. Darüber hinaus führen auch die Ein- oder Ausschlusskriterien der einzelnen Studien über eine Vorselektion der Patienten zu einer Variabilität der Resultate. So sind in der eigenen Studienpopulation aufgrund der geforderten Thrombozytenzahl von $> 50 \times 10^9/l$ Hunde mit sIMHA und gleichzeitiger Ehrlichieninfektion mit hoher Wahrscheinlichkeit unterrepräsentiert.

4.5.12 Knochenmarkuntersuchung

Da es sich bei der immunhämolytischen Anämie in der Regel um eine regenerative Anämie handelt, ist eine Knochenmarkuntersuchung in der Mehrzahl der Fälle nicht indiziert.^{140,203} Ausnahmen stellen eine (nach fünf Tagen) ausbleibende bzw. mangelhafte Regeneration, das Vorliegen weiterer Zytopenien sowie der Verdacht einer hämatopoietischen Neoplasie oder anderer Knochenmarkerkrankungen dar.^{40,131,136,141,203}

Im vorliegenden Patientengut wurde bei insgesamt 15 Hunden (13 %) eine Knochenmarkaspiration mit anschließender zytologischer Untersuchung durchgeführt. Die Entscheidung zur Knochenmarkuntersuchung basierte in 53 % (8/15) der Fälle auf einer fehlenden bzw. ungenügenden Regeneration und bei 20 % (3/15) der Hunde auf einer bestehenden Bizytopenie (Anämie und Thrombopenie). Bei zwei Hunden (13 %) erfolgte im Verlauf der Erkrankung eine Knochenmarkuntersuchung, da es trotz Therapie zu einem massiven Abfall des Hämatokrits kam bzw. die Regeneration plötzlich inadäquat war. Zwei weitere Hunde (13 %) wurden aufgrund eines bestehenden Neoplasieverdachts einer Knochenmarkaspiration unterzogen.

Der häufigste Befund der Knochenmarkuntersuchung war eine erythroide Hyperplasie, welche bei insgesamt 11/15 Hunden (73 %) vorlag. Dies deckt sich mit den Angaben in der Literatur.¹³⁶ Während 5/11 Hunden eine mittelgradige erythroide Hyperplasie aufwiesen, lag bei 6/11 Hunden eine hochgradig gesteigerte Erythropoese vor. Hinweise auf eine immunvermittelte Zerstörung auf Knochenmarkebene (Erythrophagie/Zytophagie) fanden sich bei 4/13 (31 %) Hunden mit pIMHA sowie bei 1/2 Hunden mit sIMHA. Diese Beobachtung deckt sich mit den Resultaten der Studie von Wang et al. zur pIMHA des Hundes. Auch hier ergab die zytologische Untersuchung von Knochenmarkaspiraten bei 31 % der Patienten (5/16) eine immunmedierte Zerstörung erythroider Vorläufer.²¹⁰

Bei zwei Hunden der vorliegenden Studie konnte außerdem eine mittelgradige Knochenmarkfibrose diagnostiziert werden. Während in einem Fall ein Rezidiv unter Therapie die Indikation zur Knochenmarkuntersuchung darstellte, lag bei dem anderen Hund mit Knochenmarkfibrose eine initial aregenerative Anämie vor, welche sich allerdings unter Therapie zu einer hochgradig regenerativen Anämie entwickelte. Ursächlich erscheint in beiden Fällen eine sekundäre Myelofibrose infolge eines chronisch erhöhten Erythropoietin-Plasmaspiegel bzw. der Freisetzung von Wachstumsfaktoren aus Megakaryozyten sowie Entzündungszellen mit folglich Fibroblastenaktivierung wahrscheinlich.^{168,217} Eine primäre Myelofibrose als Ursache der bestehenden Anämie erscheint in beiden Fällen aufgrund des Krankheitsverlaufs sowie des guten Ansprechens auf die immunsuppressive Therapie unwahrscheinlich.

Eine erythroide Hypoplasie bzw. eine verminderte Gesamtzellularität mit Verdacht auf Myelofibrose konnten in jeweils einem Fall (13 %) diagnostiziert werden. Während einer der Hunde aufgrund einer erneuten hämolytischen Krise am sechsten Tag des stationären Aufenthaltes auf Besitzerwunsch euthanasiert wurde, überlebte der zweite Hund nach Diagnosestellung insgesamt 848 Tage. In einer retrospektiven Studie zur pIMHA des Hundes aus dem Jahr 2005 erfolgte bei 45/151 Hunden (30 %) aufgrund einer fehlenden Regeneration oder zum Ausschluss eines Lymphoms eine Knochenmarkaspiration.²¹⁵ Insgesamt zeigten hier 51 % der Hund (23/45) ein aregeneratives Knochenmark oder eine ineffektive Erythropoese.

Eine kausale Diagnose für die bestehende Anämie konnte anhand der Knochenmarkuntersuchung bei keinem der Patienten der eigenen Studienpopulation gestellt werden.

4.6 Bildgebung

Die Hauptindikation für die Durchführung einer röntgenologischen oder sonographischen Untersuchung bei Hunden mit IMHA ist der Nachweis möglicher auslösender Ursachen, wie z.B. Neoplasien oder schwere Entzündungen. Eine Diagnosestellung kann bei auffälligen morphologischen Veränderungen dann durch die Entnahme zytologischer oder histologischer Proben erfolgen. In der eigenen Studienpopulation war die bildgebende Diagnostik in 32 % der Fälle mit sIMHA zielführend. So konnte bei 7/22 Hunden mit Hilfe der sonographischen Untersuchung des Bauchraumes – teilweise in Kombination mit einer zytologischen Untersuchung von Feinnadelaspiraten – eine Diagnose gestellt werden (Prostatakarzinom, Pankreatitis, Histiocytäres Sarkom, Gallengangskarzinom (je n=1), Neoplasie Milz (n=3)), welche folglich als Auslöser der IMHA diskutiert wurde.

Die häufigsten Befunde der röntgenologischen und sonographischen Untersuchung waren eine Hepato- und/oder Splenomegalie (pIMHA: 70 % bzw. 61 %; sIMHA: 50 % bzw. 29 %), eine vermehrt interstitielle Lungenzeichnung (pIMHA: 71 %; sIMHA: 81 %) sowie eine Veränderung der Herzkontur (Kardiomegalie oder schmale Herzsilhouette). Dies deckt sich mit den Angaben in der Literatur. In verschiedenen

Publikationen zur pIMHA des Hundes wurden bei 20 – 80 % der Hunde eine Hepatomegalie und bei 30 – 68 % eine Splenomegalie beschrieben.^{50,67,124,180} Ursächlich wird neben einer gesteigerten Phagozytoseaktivität der Organe im Rahmen der Immunhämolyse eine extramedulläre Hämatopoese diskutiert.^{41,140} Eine geringgradig vermehrt interstitielle Lungenzeichnung konnte bei 30 % der Hunde mit pIMHA röntgenologisch diagnostiziert werden.¹⁸⁰ 20 % der Hunde wiesen außerdem eine Kardiomegalie auf.¹⁸⁰ Während es sich bei einer milden diffus interstitiellen Verdichtung der Lunge häufig um einen Nebenfund handelt, sollte bei einer ausgeprägten interstitiellen bis alveolären Lungenzeichnung, dem Auftreten von Thoraxerguss oder einer Minderperfusion von Lungenarealen ursächlich eine pulmonale Thrombembolie in Betracht gezogen werden.^{57,108}

Im eigenen Patientengut wurde der Verdacht einer Thrombembolie der Lunge aufgrund einer akut aufgetretenen Dyspnoe bei insgesamt neun Hunden (pIMHA: fünf Hunde, sIMHA: vier Hunde) geäußert. Während 7/9 Hunden eine klinische Verschlechterung bereits während des initialen stationären Aufenthaltes zeigten, erfolgte die Verdachtsdiagnose einer PTE bei zwei Hunden im Rahmen einer Wiedervorstellung. Röntgenologische Veränderungen, wie eine Zunahme der Lungenzeichnung im Sinne eines hochgradig interstitiell bis alveolären Lungenmusters, konnten bei insgesamt 5/9 Hunden beobachtet werden. Ein Hund wies zusätzlich einen geringgradigen Thoraxerguss auf.

Die tatsächliche Diagnose einer Thrombembolie konnte intra vitam bei insgesamt drei Hunden gestellt werden. Zwei Hunde wiesen entsprechende Veränderungen in der echokardiographischen Untersuchung auf (pulmonaler Hochdruck, Darstellung von Thrombenmaterial in der Pulmonalarterie). Ein weiterer Hund mit pIMHA (Nr. 54) zeigte in der sonographischen Untersuchung der Bauchhöhle eine Pfortaderthrombose (Abbildung 18). Er verstarb am vierten Tag des stationären Aufenthaltes nach akut aufgetretener, hochgradiger Dyspnoe. Die retrospektive Auswertung der initial angefertigten Röntgenaufnahme ergab Hinweise auf eine Thrombembolie der rechten Pulmonalarterie (Abbildung 19).

Bei einem weiteren Patienten mit klinischem Verdacht auf eine pulmonale Thrombembolie (akute Dyspnoe, hochgradige alveoläre Lungenzeichnung) konnten in der Obduktion Thromben in multiplen Organen nachgewiesen werden.

Ein Hund zeigte nach Entlassung ebenfalls eine akute Verschlechterung mit hochgradiger Atemnot und wurde aufgrund dessen euthanasiert. Auch hier erscheint retrospektiv eine pulmonale Thrombembolie wahrscheinlich.

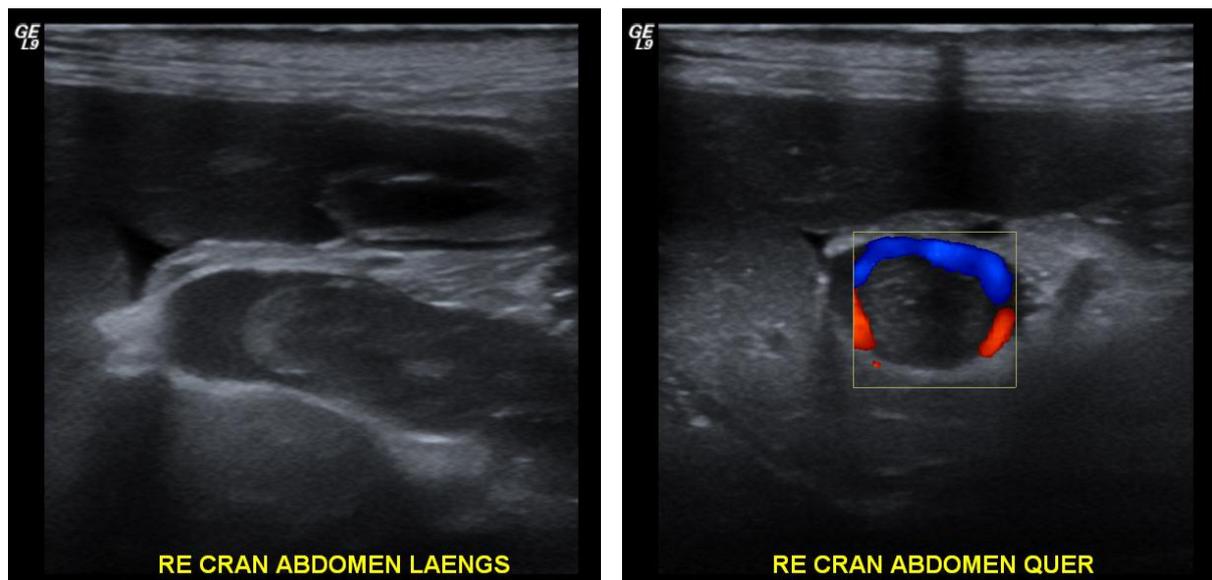


Abbildung 18: Patient Nr. 54 (pIMHA): Sonographie Abdomen, Thrombusmaterial in der Pfortader (Längs- und Querschnitt)

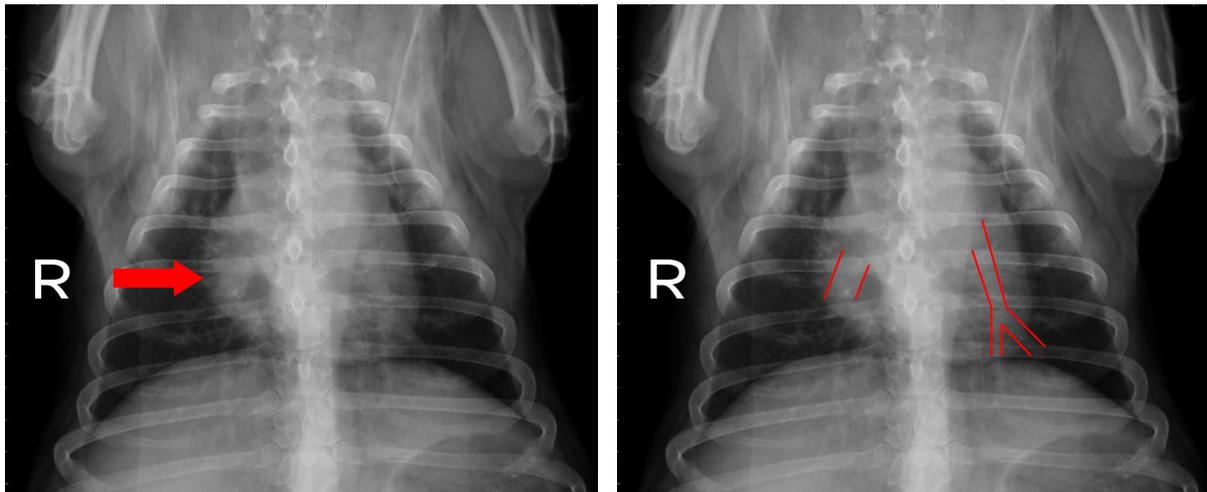


Abbildung 19: Patient Nr. 54 (pIMHA): Röntgen Thorax (dv), Verdacht auf Thrombus in der rechten Pulmonalarterie (Pulmonalarterie im Seitenvergleich deutlich verbreitert und dann im Verlauf nicht mehr nachvollziehbar)

Röntgenologische Veränderungen der Herzsilhouette im Sinne einer milden Kardiomegalie wiesen in der eigenen Studie insgesamt 1/3 der Hunde (30/89) auf. Ursächlich erscheint eine anämiebedingte, kompensatorische Kardiomegalie wahrscheinlich. Infolge einer erniedrigten Hämoglobin-Konzentration kommt es zu einer generalisierten Vasodilatation, welche u.a. über eine Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems zu einer Natrium- und Wasserretention und somit zur Volumenüberladung führen kann.⁵ Die Folge können Ödeme oder auch die Entwicklung von Aszites sein.⁵ Während eine Ödembildung im eigenen Patientengut lediglich bei einem Hund dokumentiert ist, konnte ein Aszites sonographisch bei 19/93 Hunden (20 %) diagnostiziert werden. Eine Punktion des Ergusses mit anschließender zytologischer Untersuchung erfolgte bei 7/19 Hunden (37 %). Während zwei Hunde ein Transsudat aufwiesen, konnte bei fünf Hunden die Diagnose eines modifizierten Transsudats gestellt werden. Neben einer Hypervolämie kommen differentialdiagnostisch für die Entstehung von Ergüssen oder Ödemen bei Hunden mit IMHA auch eine Vaskulitis oder eine Stauung infolge von Thrombembolien in Frage.^{93,134} In einer weiteren Publikation konnten geringe Mengen eines anechogenen Aszites bei 21 % der Hunde mit pIMHA sonographisch diagnostiziert werden.¹²⁴

4.7 Therapie

Aufgrund des retrospektiven Charakters der vorliegenden Studie ist eine Standardisierung der gewählten Therapiekontrolle nicht erfolgt. Die Vergleichbarkeit der Daten vor allem in Bezug auf die durchgeführte immunsuppressive Therapie ist somit limitiert.

Insgesamt wurden alle Hunde mit pIMHA mit mindestens einem Immunsuppressivum therapiert. Glucocorticoide kamen hierbei in jedem Fall zum Einsatz. Bei 4/26 Hunden mit sIMHA erfolgte hingegen keine immunsuppressive Therapie, da die kausale Behandlung der zugrunde liegenden Erkrankung ausreichend war (ein Hund mit Pankreatitis) bzw. die Hunde aufgrund der Schwere der Grunderkrankung zeitnah verstarben oder euthanasiert wurden (n=3).

Eine positive Korrelation zwischen immunsuppressiver Therapie und Überleben bei Hunden mit IMHA ergab sich lediglich für Glucocorticoide ($p=0,02$). Diese Beobachtung ist allerdings unter Vorbehalt zu interpretieren, da sie maßgeblich durch die genannten drei Hunde mit sIMHA beeinflusst wird, die vor einer möglichen Therapie verstarben bzw. euthanasiert wurden.

Verschiedene Studien konnten ebenfalls zeigen, dass eine Kombinationstherapie mit Prednisolon und Azathioprin oder Prednisolon und Ciclosporin keine Verbesserung des Outcomes im Vergleich zur Monotherapie mit Prednisolon zur Folge hat.^{87,164,196} Da es sich jedoch größtenteils um retrospektive Studien handelt, ist auch hier eine Vorselektion der Patienten mit Mono- oder Kombinationstherapie (Kombinationstherapie häufiger bei schwer erkrankten Hunden) wahrscheinlich.

Ähnlich verhält es sich mit den Hunden, bei denen zusätzlich humane Immunglobuline eingesetzt wurden. Insgesamt erhielten acht Hunde mit pIMHA im Verlauf der Erkrankung eine Zusatztherapie mit hIVIG. Während zwei der betroffenen Hunde bis zum Studienende überlebten, verstarben fünf Hunde innerhalb von sieben bis 486 Tagen aufgrund der bestehenden pIMHA bzw. wurden euthanasiert (63 %). Ein Hund wurde nach 230 Tagen aufgrund einer anderen Erkrankung beim Haustierarzt eingeschläfert.

Bezüglich der parallel durchgeführten symptomatischen Therapie mit Infusionen, gastroprotektiven Medikamenten oder Antibiotika ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Die Anzahl der im Durchschnitt verabreichten Bluttransfusionen pro Hund betrug in der pIMHA-Gruppe 1,1 und in der sIMHA Gruppe 1,2. Ein statistisch signifikanter Unterschied lag nicht vor ($p=0,72$). Auffällig war allerdings, dass Plasmatransfusionen signifikant häufiger ($p=0,04$) bei Hunden mit sIMHA zum Einsatz kamen. Die Indikationen für eine Plasmatransfusion waren bei drei Hunden mit sIMHA eine bestehende Pankreatitis ($n=2$) bzw. eine Pankreatitis mit bereits bestehender DIC ($n=1$). Bei zwei Hunden mit pIMHA erfolgte die Übertragung von Frischplasma aufgrund einer vermuteten DIC. Die häufigere Verabreichung von Plasmatransfusionen bei Hunden mit sIMHA erklärt sich in erster Linie durch das erhöhte Risiko einer Verbrauchskoagulopathie infolge der Kombination aus zugrunde liegender bzw. parallel bestehender, ebenfalls prothrombotischer Pankreatitis und IMHA. Neben einer Übertragung von Gerinnungsfaktoren, der Korrektur einer möglichen Hypoalbuminämie sowie der Abnahme der bestehenden systemischen Entzündungsreaktion soll eine Transfusion von Frischplasma im Fall einer Pankreatitis außerdem durch eine Übertragung von Antiproteasen (z.B. α 2-Makroglobulin, α 1-Antitrypsin etc.) die frühzeitige Aktivierung von Verdauungsenzymen und somit die Selbstverdauung des Pankreas unterbinden. Allerdings gibt es diesbezüglich keine Studie zum Hund, die einen positiven Effekt nachweisen konnte.¹²³

Die Überlebenszeiten der Hunde mit pIMHA und erfolgter Plasmatransfusion (Verdacht auf DIC) betragen zwei bzw. 15 Tage. Beide Hunde wurden aufgrund einer massiven Verschlechterung euthanasiert. Bei den Hunden mit sIMHA und Plasmatransfusion überlebte ein Hund bis zum Studienende (Pankreatitis). Ein weiterer Hund mit Babesiose und sekundärer Pankreatitis überlebte 965 Tage und wurde schließlich aufgrund einer anderen Erkrankung euthanasiert. Der Hund mit Pankreatitis und DIC musste nach sechs Tagen infolge einer deutlichen Verschlechterung des Allgemeinbefindens sowie einer progressiven Hämolyse

euthanasiert werden. Trotz der sehr geringen Fallzahlen bestätigt auch diese Beobachtung die schlechte Prognose bei Hunden mit IMHA und DIC.

Eine prospektive Studie zur Evaluation des Effektes einer einmaligen Plasmatransfusion bei Hunden mit IMHA konnte weder einen (positiven) Einfluss auf das Kurzzeitüberleben noch auf die Inzidenz von Thrombembolien feststellen.²⁰²

Eine weitere retrospektive Studie zur Durchführung von Plasmatransfusionen bei Hunden mit Pankreatitis ergab sogar eine höhere Mortalität bei Hunden, die eine Plasmatransfusion erhalten hatten.²¹⁴ Allerdings ist hier zu diskutieren, ob die Entscheidung zur Transfusion vor allem bei schwer erkrankten Tieren getroffen wurde. Signifikante Unterschiede bezüglich bestehender Vorerkrankungen, der Ausprägung der Entzündungsreaktion sowie vorliegender Gerinnungsstörungen konnten zwischen den Gruppen jedoch nicht festgestellt werden.

Ein weiteres Medikament, das bei zwei Hunden mit pIMHA zum Einsatz kam, ist der Blutersatzstoff Oxyglobin®. Während die Entscheidung zur Oxyglobin®-Gabe bei einem Hund auf einer massiven Autoagglutination mit fehlender Möglichkeit der Durchführung einer aussagekräftigen Kreuzprobe basierte, resultierte die Entscheidung im anderen Fall aus dem Fehlen einer passenden Blutkonserve. Während ein Hund nach drei Tagen plötzlich verstarb wurde der zweite Hund nach 938 Tagen aufgrund einer anderen Erkrankung euthanasiert.

Insgesamt wird der Einsatz von Oxyglobin® bei Hunden mit IMHA kontrovers diskutiert. Während in einer Studie zur pIMHA die Mortalität der mit Oxyglobin® behandelten Hunde (n=3) bei 100 % lag,⁷⁰ konnten in einer anderen Studie (n=2) auch nach mehrmaliger Applikation bis auf eine Verfärbung des Urins keine Nebenwirkungen festgestellt werden. Beide Hunde waren zwei Monate nach Diagnosestellung noch am Leben.⁴² Im eigenen Patientengut lag die Mortalität der Hunde mit vorangegangener Oxyglobin®-Infusion bei 50 %. Eine abschließende Aussage zur Sicherheit von Oxyglobin® bei Hunden mit pIMHA ist aufgrund der niedrigen Fallzahlen nicht möglich.

4.8 Verlauf und prognostische Faktoren

Mit einer Gesamtmortalität von 54 % (62/115 Hunden mit IMHA) bzw. 57 % (51/89) in der Gruppe der an pIMHA erkrankten Hunde sind die Resultate der vorliegenden Studie vergleichbar mit den Ergebnissen früherer Publikationen zur pIMHA des Hundes. Hier lag die Mortalitätsrate bei 21 – 70 %, ^{4,22,25,48,50,70,74,84,88,105,107,129,134,142,161,162,164,171,181,196,212,215,218,221} wobei der Großteil der Hunde meist innerhalb der ersten ein bis zwei Wochen nach Diagnosestellung verstarb.^{22,162} Auch im eigenen Patientengut verstarben 42 % der Hunde (26/62) bereits während des stationären Aufenthaltes oder wurden euthanasiert. Dies spiegelt sich auch in der Kaplan-Meier-Überlebenskurve (Abbildung 15) wider, welche in beiden Gruppen einen steilen Abfall innerhalb der ersten drei Monate mit im Anschluss deutlich flacherem Verlauf zeigt. Daraus lässt sich ableiten, dass ca. ein Jahr nach überstandener Erkrankung die Mortalitätsrate in beiden Gruppen abnimmt und in Abhängigkeit des Alters zum Zeitpunkt der Diagnosestellung eine nahezu normale Lebenserwartung möglich ist.

Zum Langzeitüberleben von Patienten mit sIMHA existieren nur wenige Angaben. In einer Publikation von Feldman et al., die sowohl Hunde mit primärer als auch sekundärer IMHA inkludierte, verstarben – ähnlich wie in der vorliegenden Studie – insgesamt 29/57 Hunden (51 %) aufgrund der bestehenden IMHA oder mussten euthanasiert werden. Eine Differenzierung zwischen Hunden mit pIMHA und sIMHA sowie eine vergleichende Betrachtung des Langzeitüberlebens erfolgte hier nicht.⁵² Bei Engelbrecht et al. lag die Mortalitätsrate bei 30 % (pIMHA) bzw. 43 % (sIMHA), wobei die Hunde mit sIMHA lediglich über einen Zeitraum von maximal 13 Wochen verfolgt wurden.⁵⁰ Daten zum Langzeitüberleben bei Hunden mit sIMHA liegen somit nicht vor.

Generell ist das Überleben von Hunden mit sIMHA stark abhängig von der Schwere und Therapierbarkeit der zugrunde liegenden Erkrankung. Aufgrund des retrospektiven Charakters der vorliegenden Studie war es kaum möglich zu unterscheiden, ob der plötzliche Tod eines Hundes oder die Entscheidung zur Euthanasie im Einzelfall auf die bestehende Immunhämolyse oder in erster Linie auf die auslösende Grunderkrankung zurückzuführen war. Insgesamt verstarben elf

Hunde mit sIMHA (42 %) bzw. wurden euthanasiert, was sich mit den Daten von Engelbrecht et al. (43 %) deckt.⁵⁰ Aufgrund der Variabilität der zugrunde liegenden Erkrankungen (z.B. eigene Studie: Neoplasien 50 %, Infektionserkrankungen 23 %; Engelbrecht et al.: Neoplasien 14 %, Infektionserkrankungen 57 %) sowie der Unterschiede bezüglich der Einschlusskriterien (eigene Studie: Hunde mit Thrombozytenzahlen $< 50 \times 10^9/l$ wurden ausgeschlossen; Engelbrecht: Hunde mit Thrombozytopenie von $< 40 \times 10^9/l$ inkludiert) ist die Vergleichbarkeit der Studien – vor allem im Hinblick auf Überlebenszeiten – dennoch limitiert.

Die Auswertung des Langzeitüberlebens ergab – selbst bei Vorliegen einer therapierbaren Grunderkrankung im Falle einer sIMHA – keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen. Das mediane Überleben betrug 222 (pIMHA) bzw. 311 (sIMHA) Tage. Ein Rezidiv der Erkrankung konnte im Verlauf bei 26 Hunden mit pIMHA (29 %) sowie bei fünf Hunden mit sIMHA (19 %) festgestellt werden. Von diesen Hunden verstarben 85 % (22/26) der Hunde mit pIMHA und 80 % (4/5) der Hunde mit sIMHA bzw. wurden euthanasiert. Diese Beobachtung untermauert die These, dass die Prognose von Hunden mit IMHA, welche ein Rezidiv entwickeln vorsichtig ist, da diese Tiere im Verlauf häufig schlechter auf die Therapie ansprechen.⁴¹ Als weiterer Einflussfaktor ist diesbezüglich sicherlich auch die Besitzercompliance zu diskutieren, welche neben emotionalen Faktoren auch durch finanzielle Aspekte beeinflusst wird.

Die multivariate Regressionsanalyse (Cox-Proportional-Hazard-Analyse) zur Detektion prognostischer Faktoren bei Hunden mit pIMHA ergab eine negative Korrelation im Hinblick auf das Überleben der Tiere für die bereits beschriebenen Variablen Gewicht und Alter sowie den Laborparameter Bilirubin.

Als Ursachen für einen negativen Einfluss des Gewichts sind in erster Linie die höheren Therapiekosten anzuführen. Ishihara et al. postulierten - bezugnehmend auf die Studie von Johnson et al. - außerdem eine höhere Prävalenz pulmonaler Thrombembolien bei Hunden mit einem Körpergewicht von > 12 kg und somit eine schlechtere Prognose.^{88,93} Im eigenen Patiententgut wiesen 2/3 Hunden mit diagnostizierter pulmonaler Thrombembolie ein Körpergewicht von mehr als 12kg auf.

Auch bei älteren Tieren fällt die Entscheidung zur Euthanasie häufig schneller, was durch eventuell zusätzlich bestehende Erkrankungen (Multimorbidität) noch verstärkt wird. Parallel bestehende Erkrankungen bei älteren Hunden können darüber hinaus die Therapie der IMHA aufgrund möglicher Nebenwirkungen (z.B. Volumenüberladung/Flüssigkeitsretention durch Transfusionen/Glucocorticoide bei Hunden mit Kardiomyopathien) erschweren und somit die Prognose verschlechtern.

Das Vorliegen einer Hyperbilirubinämie wurde bereits in einer Vielzahl von Studien zur pIMHA des Hundes als negatives prognostisches Kriterium beschrieben.^{25,48,68,74,84,86,88,107,132,171,196,215,221} Als Ursache einer bestehenden Hyperbilirubinämie kommt neben der bestehenden (Immun-)Hämolyse eine Leberfunktionsstörung mit folglich intrahepatischer Cholestase in Frage. Somit fungiert Bilirubin als direkter (Grad der Hämolyse) sowie indirekter (sekundäre Leberfunktionsstörung) Marker für den Schweregrad der bestehenden Anämie. In der Studie von Carr et al. wiesen Hunde mit einem Bilirubinwert > 5 mg/dl zudem statistisch signifikant häufiger Thrombembolien auf.²⁵ Den Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer Hyperbilirubinämie und dem Auftreten von Thrombembolien führten Carr et al. auf eine gesteigerte (intravasale) Hämolyse unter Beteiligung von IgM und Komplement mit vermehrter Freisetzung prokoagulatorischer Faktoren sowie die direkte Entstehung von Thromben in der Leber zurück.²⁵

Ein weiterer Laborparameter, der in der statistischen Auswertung der eigenen Daten negativ mit dem Überleben der Hunde mit pIMHA korrelierte, war die Anzahl an eosinophilen Granulozyten.

Eine Erhöhung der Eosinophilenzahlen im Blut tritt beim Hund am häufigsten in Zusammenhang mit Parasitosen oder Entzündungen/Hypersensitivitäten/Allergien auf. Weitere mögliche Ursachen sind Neoplasien, ein Hypoadrenokortizismus oder verschiedene idiopathische Erkrankungen.¹⁹⁰ In einer Studie zum Auftreten ausgeprägter von Eosinophilien beim Hund (> 2,2 x 10⁹/l) konnte bei zwei von 105 Tieren eine immunhämolytische Anämie diagnostiziert werden.¹¹⁶ Mögliche zugrunde liegende Pathomechanismen wurden hier nicht diskutiert.

Auch die immunhämolytische Anämie basiert auf einer Hypersensitivitätsreaktion vom Typ II, was das Auftreten einer Eosinophilie möglicherweise erklären kann. Darüber hinaus können auch die bestehende systemische Entzündungsreaktion sowie eine unspezifische Knochenmarkstimulation als Auslöser diskutiert werden. Die Tatsache, dass sämtliche der genannten Faktoren wiederum mit dem Schweregrad der Erkrankung – insbesondere mit der bestehenden Entzündung – korrelieren, kann somit als Erklärungsversuch für die negative Korrelation zwischen Eosinophilie und Überleben bei Hunden mit pIMHA herangezogen werden.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die beschriebenen Laborwertveränderungen in direktem Zusammenhang mit der Ausprägung der bestehenden (Immun-)Hämolyse, sekundärer Organschädigungen sowie der systemischen Entzündungs- bzw. Hypersensitivitätsreaktion und dem daraus resultierenden Befinden des Patienten (Futter- und Wasseraufnahme etc.) stehen. Sie spiegeln somit den Schweregrad der Erkrankung wider, was ihre Rolle als negative prognostische Parameter erklärt. Auffällig ist allerdings, dass die statistische Auswertung der Daten keine negative Korrelation zwischen Überleben und Hämatokrit der Patienten ergab. Daher scheinen nicht der Grad der Anämie, sondern vielmehr die bestehende Immunhämolyse und die damit in Zusammenhang stehende schwere systemische Entzündungsreaktion sowie Hyperkoagulabilität entscheidend zu sein. Das erklärt auch, warum eine Hyperbilirubinämie mit dem Auftreten von Thrombembolien in Zusammenhang gebracht wird.²⁵

Auf eine statistische Auswertung prognostischer Parameter in der Gruppe der an sIMHA erkrankten Hunde wurde aufgrund der ausgeprägten Variabilität der bestehenden Grunderkrankung – welche maßgeblichen Einfluss auf anamnestische und labordiagnostische Variablen hat – verzichtet.

4.9 Histopathologische Untersuchung

Eine Obduktion wurde bei insgesamt sieben Hunden (6 %) durchgeführt. Der häufigste Befund war ein makroskopisch sichtbarer Ikterus, welcher bei 4/7 Hunden

(57 %) festgestellt werden konnte. Daneben zeigten 2/7 Hunden (29 %) eine extramedulläre Hämatopoese in Milz und/oder Leber. Organnekrosen in Lunge (n=1) oder Leber (n=2) wiesen 3/7 Hunden (43 %) auf. Thrombembolien in verschiedenen Organen konnten bei insgesamt zwei Hunden (29 %) nachgewiesen werden.

In einer Studie von McManus et al. zur Korrelation zwischen einer bestehenden Leukozytose und den Ergebnissen der histopathologischen Untersuchung bei Hunden mit pIMHA konnten als häufigste Befunde Veränderungen im Rahmen einer bestehenden Koagulopathie (Makro- oder Mikrothromben, Fibrinablagerungen, Blutungen) sowie einer Cholestase beobachtet werden (74 % bzw. 79 %).¹³² Hypoxisch oder thrombembolisch bedingte Organnekrosen – dominierend in Leber, Milz und Nieren – lagen in 82 % der Fälle vor (28/34). Eine Vielzahl der untersuchten Hunde wies eine zentrolobuläre Leberzellnekrose auf. Die Anzahl an Leukozyten, das Vorliegen einer Linksverschiebung oder der Nachweis toxischer neutrophiler Granulozyten korrelierte darüber hinaus mit der Schwere der Organveränderungen.¹³²

Auch im eigenen Patientengut konnte bei allen drei Hunden mit nachgewiesenen Organnekrosen (alle pIMHA) unmittelbar prä mortal eine teilweise ausgeprägte Leukozytose von $33,9 \times 10^9/l$ (Nr. 19), $47,4 \times 10^9/l$ (Nr. 72) bzw. $18,3 \times 10^9/l$ (Nr. 78) festgestellt werden. Zwei der betroffenen Hunde (Nr. 72 und Nr. 78) wiesen zudem eine Linksverschiebung auf. Während bei Patient Nr. 19 und Nr. 72 Nekrosen in der Leber diagnostiziert wurden, zeigte Hund Nr. 78 milde Nekrosen in der Lunge. Ein Zusammenhang zwischen den bestehenden ischämisch bedingten Organnekrosen und der Leukozytenzahl bzw. -morphologie ist auch hier zu diskutieren.

Bei beiden Patienten mit histopathologisch nachgewiesenen Nekrosen in der Leber war prä mortal außerdem eine deutlich erhöhte Leberenzymaktivität auffällig, wie sie vor allem in Zusammenhang mit einer zentrolobulären hepatozellulären Nekrose zu sehen ist.

4.10 Fazit

Die initiale Hypothese einer eventuell besseren Prognose bei Hunden mit sIMHA aufgrund der Möglichkeit einer kausalen Therapie konnte widerlegt werden. Dies ist vor allem auf das gehäufte Auftreten von Neoplasien (50 % der Hunde mit sIMHA) als Auslöser einer IMHA zurückzuführen. In diesen Fällen ist meistens lediglich eine palliative Therapie möglich, die oftmals von den Tierbesitzern abgelehnt wurde.

Die größte Einschränkung der vorliegenden Studie ist der retrospektive Charakter und die damit fehlende Standardisierung der Vorgehensweise. Aufgrund der teilweise nur sehr begrenzten Fallzahlen waren einige der untersuchten Parameter nur eingeschränkt auswertbar.

Dennoch sind retrospektive Studien wichtig, um prospektive Studien sinnvoll planen zu können, gezielte Fragestellungen zu formulieren und standardisierte Studienprotokolle zu entwickeln.

5 Zusammenfassung

Die immunhämolytische Anämie gehört zu den wichtigsten immunvermittelten Erkrankungen des Hundes und stellt gleichzeitig eine der häufigsten Anämieformen dieser Tierart dar.

Während zahlreiche, meist retrospektive Studien zur primären oder autoimmunhämolytischen Anämie des Hundes existieren, sind Daten zur sekundären immunvermittelten Anämie des Hundes rar. Auch vergleichende Studien zur sIMHA und pIMHA des Hundes findet man nur vereinzelt. Ziel dieser Arbeit war es daher, Fälle mit primärer oder sekundärer immunhämolytischer Anämie von 2006-2012 retrospektiv zu vergleichen, und Unterschiede hinsichtlich anamnestischer, klinischer und labordiagnostischer Parameter herauszuarbeiten. Darüber hinaus erfolgte eine Evaluation des Langzeitüberlebens der Hunde mit primärer oder sekundärer IMHA sowie möglicher Einflussfaktoren unterschiedlicher Therapieprotokolle.

Insgesamt erfüllten 116 Hunde die Einschlusskriterien der Studie (vollständige Krankenakte, Hkt. < 35 %, entweder positiver Coombs-Test, persistierende Objektträgeragglutination und/oder signifikante Sphärozytose, Thrombozytenzahl $\geq 50 \times 10^9/l$), darunter 90 Hunde mit pIMHA und 26 Hunde mit sIMHA. Als Ursachen der sekundären IMHA konnten in 50 % der Fälle eine neoplastische, in 23 % der Fälle eine entzündlich-infektiöse und in 12 % der Fälle eine entzündliche Erkrankung diagnostiziert werden. Bei 15 % der Hunde mit sIMHA wurde eine vorangegangene Impfung als Auslöser vermutet.

Die Auswertung der Geschlechterverteilung bestätigte die Geschlechtsprädisposition für das Auftreten einer pIMHA bei weiblich-kastrierten sowie weiblichen Tieren allgemein. Männlich-intakte Hunde mit pIMHA waren im Vergleich unterrepräsentiert.

Neben den bereits beschriebenen prädisponierten Rassen wie Airedale Terrier, Irish Setter und English Springer Spaniel konnte im Vergleich zur Klinikpopulation ein gehäuftes Auftreten einer pIMHA bei den Rassen Alaskan Malamute, Coton de Tulear, Holländischer Schäferhund, Italienisches Windspiel, Kromfohrländer, Langhaardackel, Lhasa Apso, Pyrenäenberghund und Rauhaardackel beobachtet

werden. Hunde der Rassen Berger de Picardie, Entlebucher Sennenhund sowie Kromfohlländer erkrankten hingegen statistisch signifikant häufiger an einer sIMHA. Mischlingshunde waren in der Gruppe der an sIMHA-erkrankten Hunde unterrepräsentiert. Da viele der genannten Rassen in unserer Region eher selten vorkommen, sind die Resultate unter Vorbehalt zu interpretieren. Auffällig ist jedoch das gehäufte Auftreten der pIMHA bei verschiedenen Dackelrassen.

Anamnestisch wiesen Hunde mit sIMHA im Vergleich signifikant häufiger einen Ikterus sowie respiratorische Symptome wie Tachypnoe, Hecheln oder erschwerte Atmung auf. Auch in der klinischen Untersuchung zeigten Hunde mit sIMHA eine höhere Atemfrequenz. Als wahrscheinlichste Ursache wird hier ein additiver Effekt verschiedener Pathomechanismen der bestehenden Immunhämolyse sowie der vorliegenden Grunderkrankung diskutiert.

Die Auswertung der labordiagnostischen Parameter ergab eine signifikant stärker ausgeprägte Anämie (signifikant niedriger Hämatokrit, Hämoglobinwert (Gesamthämoglobin) sowie Anzahl an Erythrozyten) bei Hunden mit pIMHA bei gleichzeitig deutlicherer Normoblastose. So wiesen 77 % der pIMHA-Patienten (69/90) mit einem Hämatokrit von ≤ 19 % eine schwere bis sehr schwere Anämie auf. Auch die Anzahl an Lymphozyten war in der pIMHA-Gruppe signifikant höher, wobei hier eine Messinterferenz (falsch-hohe Lymphozytenzahl) infolge der bestehenden Normoblastose wahrscheinlich erscheint.

In der blutchemischen Untersuchung fiel eine deutlichere Induktion der Leberenzyme ALT und GLDH ($p=0,02$ bzw. $0,04$) bei Hunden mit sIMHA auf. Auch hier ist als wahrscheinlichste Ursache für einen zugrunde liegenden Leberzellschaden eine Kombination aus anämiebedingter Hypoxie und Hypoperfusion sowie Grunderkrankung mit potentieller Leberbeteiligung anzuführen.

Hinsichtlich der durchgeführten medikamentösen Therapie konnte lediglich ein positiver Effekt für Prednisolon nachgewiesen werden.

Anamnestische sowie labordiagnostische Parameter, die negativ mit dem Überleben der Hunde mit pIMHA korrelierten, waren Gewicht und Alter der Hunde, die Anzahl an eosinophilen Granulozyten sowie eine Hyperbilirubinämie. Mögliche

Erklärungsansätze für diese Beobachtungen sind die höheren Therapiekosten sowie eine möglicherweise höhere Prävalenz pulmonaler Thrombembolien bei größeren Tieren, parallel bestehende Erkrankungen bei älteren Tieren, die unter Umständen auch die Besitzerentscheidung beeinflussen, sekundäre Organschädigungen infolge der bestehenden Anämie (Hypoxie, Hypoperfusion), der systemischen Entzündungs- sowie Hypersensitivitätsreaktion sowie möglicher (Mikro-)Thromben oder einer DIC und das Ausmaß der Hämolyse.

Die Evaluation des Langzeitüberlebens ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Das mediane Überleben betrug 222 (pIMHA) bzw. 311 (sIMHA) Tage. Insgesamt lag die Mortalität bei 54 % (62/115), wobei ein Großteil der betroffenen Hunde innerhalb der ersten drei Monate verstarb. 29 % der Hunde mit pIMHA (26/89) und 27 % der Hunde mit sIMHA (7/26) waren am Ende der Studie (Oktober 2013) noch am Leben.

Insgesamt konnten viele der bereits beschriebenen Beobachtungen zur pIMHA des Hundes anhand der vorliegenden Daten bestätigt werden. Auffallend war, dass das Langzeitüberleben in beiden Gruppen vergleichbar war. Dies widerlegt die initiale Hypothese, dass die kausale Therapie einer zugrunde liegenden Erkrankung im Fall einer sIMHA von (großem) Vorteil sein könnte. Vor allem bei neoplastischen Grunderkrankungen ist häufig lediglich eine palliative Therapie möglich, welche in vielen Fällen vom Tierbesitzer abgelehnt wird.

6 Summary

Immune-mediated hemolytic anemia is one of the most important immune-mediated diseases in dogs. Moreover it represents one of the most common reasons for anemia in that species.

While there are numerous, mostly retrospective studies about canine autoimmune hemolytic anemia, data about secondary immune-mediated anemia in dogs are scarce. Comparative studies about sIMHA and pIMHA in dogs can also rarely be found. Therefore, the aim of this study was to analyse cases with primary or secondary immune hemolytic anemia from 2006-2012 retrospectively, and to point out differences concerning anamnestic, clinical and laboratory parameters. In addition, long-term survival of dogs with primary or secondary IMHA and possible influencing factors of different treatment protocols on survival were evaluated.

A total of 116 dogs met the inclusion criteria of the study (complete medical record, PCV < 35 %, either positive Coombs test, persistent slide agglutination and/or significant spherocytosis, platelet count $\geq 50 \times 10^9 / l$), including 90 dogs with pIMHA and 26 dogs with sIMHA. The underlying reasons in case of secondary IMHA were neoplastic diseases in 50 %, infectious diseases in 23 % and inflammatory diseases in 12 % of the cases. In 15 % of dogs with sIMHA a previous vaccination was discussed as a trigger of IMHA.

The evaluation of gender distribution confirmed a predisposition for pIMHA in female-castrated dogs and females in general. In comparison male-intact dogs with pIMHA were underrepresented.

Besides already established predisposed breeds like Airedale Terrier, Irish Setter and English Springer Spaniel there was an increased incidence of pIMHA among breeds like Alaskan Malamute, Coton de Tulear, Dutch Shepherd, Italian Greyhound, Kromfohrlaender, Long-haired and Wire-haired Dachshund, Lhasa Apso and Great Pyrenees in comparison to the clinic population. Breeds as Berger de Picardie, Entlebucher and Kromfohrlaender however were significantly more likely to have a sIMHA. Mongrel dogs were underrepresented in the group of sIMHA-dogs. Due to

the fact that many of these breeds rarely occur in our region, the results should be interpreted with reservation. Nevertheless the increased occurrence of pIMHA in various Dachshund breeds is striking.

Anamnestically jaundice and respiratory symptoms like tachypnea, panting or laboured breathing were more common in dogs with sIMHA. The results of the clinical examination also showed a significantly higher respiratory rate in dogs with sIMHA. The most likely cause of this observation is an additive effect of various pathological mechanisms of the existing immunohemolysis and the present underlying disease.

The evaluation of the laboratory parameters revealed a significantly more pronounced anemia (significantly lower hematocrit, hemoglobin (total hemoglobin) and erythrocyte count) in dogs with pIMHA with concurrently marked normoblastosis. 77 % of pIMHA patients (69/90) showed a severe to very severe anemia with a hematocrit of ≤ 19 %. The number of lymphocytes was also significantly higher in the pIMHA group, whereas this could be explained by a measurement interference (false high lymphocyte count) due to the existing normoblastosis.

In the blood chemistry profile a more pronounced elevation of the liver enzymes ALT and GLDH ($p=0.02$ and 0.04) was obvious in dogs with sIMHA. This may be explained by a combination of hepatocellular damage due to anemia-related hypoxia and hypoperfusion and the underlying disease.

Regarding medical treatment a positive effect on survival could just be detected on prednisolone.

Parameters of medical history and laboratory diagnostics that were negatively correlated with survival of dogs with pIMHA were weight and age, number of eosinophils as well as hyperbilirubinemia. Possible explanations for these observations are higher treatment costs and maybe higher prevalence of pulmonary thromboembolism in larger animals, parallel existing diseases in older animals, that may also affect the owners decision, secondary organ damage as a result of existing anemia (hypoxia, hypoperfusion), systemic inflammation, hypersensitivity reaction, as well as possible (micro)thrombi or DIC and the degree of hemolysis.

Evaluation of long-term survival showed no significant differences between both groups. Median survival was 222 (pIMHA) and 311 (sIMHA) days. Overall mortality was 54 % (62/115), with a significant number of dogs dying within the first three months. 29 % of dogs with pIMHA (26/89) and 27 % of dogs with sIMHA (7/26) were still alive at the end of the study (October 2013).

Based on this data a lot of observations concerning pIMHA in dogs that have already been discussed in literature could be confirmed. The fact that long-term survival of dogs with pIMHA or sIMHA was comparable was remarkable and disproved the initial hypothesis that a causal therapy of an underlying disease in dogs with sIMHA may be a (big) advantage compared to pIMHA. Especially in case of underlying neoplastic disease only palliative therapy is possible, which is often rejected by the pet owners.

7 Literaturverzeichnis

1. Adamantos S, Boag A, Hughes D. Clinical use of a haemoglobin-based oxygen-carrying solution in dogs and cats. *In Practice*. 2005;27(8):399-405.
2. Ahmed A, Dai R. Sexual dimorphism of miRNA expression: a new perspective in understanding the sex bias of autoimmune diseases. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2014:151-163.
3. Al-Ghazlat S. Immunosuppressive therapy for canine immune-mediated hemolytic anemia. *Compendium: Continuing Education For Veterinarians*. 2009;31(1):33-41.
4. Allyn ME, Troy GC. Immune-mediated hemolytic anemia - a retrospective study: focus on treatment and mortality (1988-1996). Research Abstract Program of the 15th Annual ACVIM Forum. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1997;11(2):131.
5. Anand IS, Chandrashekhar Y, Ferrari R, Poole-Wilson PA, Harris PC. Pathogenesis of oedema in chronic severe anaemia: studies of body water and sodium, renal function, haemodynamic variables, and plasma hormones. *British Heart Journal*. 1993;70(4):357-362.
6. Atwell RB, Johnstone I, Read R, Reilly J, Wilkins S. Haemolytic anaemia in two dogs suspected to have been induced by levamisole. *Australian Veterinary Journal*. 1979;55(6):292-294.
7. Balch A, Mackin A. Canine immune-mediated hemolytic anemia: pathophysiology, clinical signs, and diagnosis. *Compendium: Continuing Education For Veterinarians*. 2007;29(4):217-225.
8. Balch A, Mackin A. Canine immune-mediated hemolytic anemia: treatment and prognosis. *Compendium: Continuing Education For Veterinarians*. 2007;29(4):230-238.
9. Barker R, Gruffydd-Jones T, Elson C. Red cell-bound immunoglobulins and complement measured by an enzyme-linked antiglobulin test in dogs with

-
- autoimmune haemolysis or other anaemias. *Research in Veterinary Science*. 1993;54(2):170-178.
10. Barker RN, Elson CJ. Red blood cell glycoproteins as B and T-cell antigens in canine autoimmune haemolytic anaemia. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1995;47(3-4):225-238.
11. Barker RN, Gruffydd-Jones TJ, Stokes CR, Elson CJ. Identification of autoantigens in canine autoimmune haemolytic anaemia. *Clinical and Experimental Immunology*. 1991;85(1):33-40.
12. Barsanti JA, Lees GE, Willard MD, Green RA. Kapitel 8: Urologische Störungen. In: Willard MD, ed. *Labordiagnostik in der Kleintierpraxis*. 1st ed. München: Urban & Fischer; 2006:161-200.
13. Barutzki D, Nicola A de, Zeziola M, Reule M. Seroprävalenz der Anaplasma phagocytophilum-Infektion bei Hunden in Deutschland. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*. 2006;119(7-8):342-347.
14. Baumgartner W, Christen C, Gauly M, et al. Kapitel 4: Allgemeiner klinischer Untersuchungsgang. In: Baumgartner W, ed. *Klinische Propädeutik der Haus- und Heimtiere*. 7th ed. Stuttgart: Parey in MVS Medizinverlage Stuttgart; 2009:43-195.
15. Bellumori TP, Famula TR, Bannasch DL, Belanger JM, Oberbauer AM. Prevalence of inherited disorders among mixed-breed and purebred dogs: 27,254 cases (1995-2010). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2013;242(11):1549-1555.
16. Bennett D. Autoimmune disease in the dog. *In Practice*. 1984;6(3):74.
17. Bexfield NH, Villiers EJ, Herrtage ME. Immune-mediated haemolytic anaemia and thrombocytopenia associated with Anaplasma phagocytophilum in a dog. *The Journal of Small Animal Practice*. 2005;46(11):543-548.
18. Biller BJ, Elmslie RE, Burnett RC, Avery AC, Dow SW. Use of FoxP3 expression to identify regulatory T cells in healthy dogs and dogs with cancer. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2007;116(1-2):69-78.

-
19. Birkenheuer AJ, Correa MT, Levy MG, Breitschwerdt EB. Geographic distribution of babesiosis among dogs in the United States and association with dog bites: 150 cases (2000-2003). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2005;227(6):942-947.
 20. Bloom JC, Thiem PA, Sellers TS, Lewis HB, Deldar A. Cephalosporin-induced immune cytopenia in the dog: Demonstration of erythrocyte-, neutrophil-, and platelet-associated IgG following treatment with cefazedone. *American Journal of Hematology*. 1988;28(2):71-78.
 21. Breuhl EL, Moore G, Brooks MB, Scott-Moncrieff JC. A prospective study of unfractionated heparin therapy in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 2009;45(3):125-133.
 22. Burgess K, Moore A, Rand W, Cotter SM. Treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs with cyclophosphamide. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2000;14(4):456-462.
 23. Burgess K, Rand W, Moore A. Immune-mediated hemolytic anemia in dogs: a retrospective study of 60 cases treated with cyclophosphamide. Research Abstract Program of the 15th Annual ACVIM Forum. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1997;11(2):143.
 24. Calvert CA, Sammarco C, Pickus C. Positive Coombs' test results in two dogs treated with amiodarone. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2000;216(12):1933-1936.
 25. Carr AP, Panciera DL, Kidd L. Prognostic factors for mortality and thromboembolism in canine immune-mediated hemolytic anemia: a retrospective study of 72 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2002;16(5):504-509.
 26. Caviezel L, Raj K, Giger U. Comparison of 4 Direct Coombs' Test Methods with Polyclonal Antiglobulins in Anemic and Nonanemic Dogs for In-Clinic or Laboratory Use. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2014;28(2):583-591.

-
27. Ceresa IF, Noris P, Ambaglio C, Pecci A, Balduini CL. Thrombopoietin is not uniquely responsible for thrombocytosis in inflammatory disorders. *Platelets*. 2007;18(8):579-582.
 28. Chen RT, Pless R, Destefano F. Epidemiology of Autoimmune Reactions Induced by Vaccination. *Journal of Autoimmunity*. 2001;16(3):309-318.
 29. Chervier C, Cadoré JL, Rodriguez-Piñeiro MI, Deputte BL, Chabanne L. Causes of anaemia other than acute blood loss and their clinical significance in dogs. *The Journal of Small Animal Practice*. 2012;53(4):223-227.
 30. Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and incomplete Rh agglutinins. *British Journal of Experimental Pathology*. 1945;26:255-266.
 31. Corato A, Shen C, Mazza G, Barker R, Day MJ. Proliferative responses of peripheral blood mononuclear cells from normal dogs and dogs with autoimmune haemolytic anaemia to red blood cell antigens. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1997;59(3-4):191-204.
 32. Cotter SM. Autoimmune hemolytic-anemia in dogs. *Compendium: Continuing Education For Veterinarians*. 1992;14(1):53-59.
 33. Crump KL, Seshadri R. Use of therapeutic plasmapheresis in a case of canine immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 2009;19(4):375-380.
 34. Cuccovillo A, Lamb CR. Cellular features of sonographic target lesions of the liver and spleen in 21 dogs and a cat. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 2002;43(3):275-278.
 35. Cuthbertson CM, Christophi C. Disturbances of the microcirculation in acute pancreatitis. *British Journal of Surgery*. 2006;93(5):518-530.
 36. Day M. Mechanisms of immune-mediated disease in small animals. *In Practice*. 1998;20(2):75-86.

-
37. Day MJ. IgG subclasses of canine anti-erythrocyte, antinuclear and anti-thyroglobulin autoantibodies. *Research in Veterinary Science*. 1996;61(2):129-135.
 38. Day MJ. Inheritance of serum autoantibody, reduced serum IgA and autoimmune disease in a canine breeding colony. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1996;53(3-4):207-219.
 39. Day MJ. Antigen specificity in canine autoimmune haemolytic anaemia. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1999;69(2-4):215-224.
 40. Day MJ. Immune-mediated anemias in the dog. In: Weiss DJ, Wardrop KJ, Schalm OW, eds. *Schalm's veterinary hematology*. 6th ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2010:216-225.
 41. Day MJ, Mackin AJ. Kapitel 4: Immunvermittelte hämatologische Erkrankungen. In: Day MJ, ed. *Atlas der klinischen Immunologie bei Hund und Katze*. Hannover: Schlütersche; 2005:69-87.
 42. Day TK. Therapie der hämolytischen Anämie mit Oxyglobin. *Praktischer Tierarzt*. 2001;82(7):494-497.
 43. Dodds WJ. Autoimmune hemolytic disease and other causes of immune-mediated anemia: An overview. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 1977;13:437-441.
 44. Dodds WJ. Vaccination protocols for dogs predisposed to vaccine reactions. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 2001;37(3):211-214.
 45. Donahue SM, Otto CM. Thromboelastography: a tool for measuring hypercoagulability, hypocoagulability, and fibrinolysis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 2005;15(1):9-16.
 46. Dowling PM. Immunosuppressive drug therapy. *The Canadian Veterinary Journal*. 1995;36(12):781-783.
 47. Dunn M, Charland V, Thornloe C. The use of a low molecular weight heparin in 6 dogs. Research Abstract Program of the 22nd Annual ACVIM Forum. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2004;18(3):389.

-
48. Duval D, Giger U. Vaccine-associated immune-mediated hemolytic anemia in the dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1996;10(5):290-295.
 49. Eckersall P, Bell R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *The Veterinary Journal*. 2010;185(1):23-27.
 50. Engelbrecht R, Kohn B, Leibold W, et al. Clinical findings, diagnostics and treatment results in primary and secondary immune-mediated hemolytic anemia in dog. *Kleintierpraxis*. 2002;47(5):265-278.
 51. Erich SA, Rutteman GR, Teske E. Causes of death and the impact of histiocytic sarcoma on the life expectancy of the Dutch population of Bernese mountain dogs and Flat-coated retrievers. *The Veterinary Journal*. 2013;198(3):678-683.
 52. Feldman BF. Demographics of canine immune-mediated haemolytic anaemia in the Southeastern United States. *Comparative Haematology International*. 1996;6(1):42-45.
 53. Feldman BF, Handagama P, Lubberink AA. Splenectomy as adjunctive therapy for immune-mediated thrombocytopenia and hemolytic anemia in the dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1985;187(6):617-619.
 54. Fenty RK, Delaforcade AM, Shaw SE, O'Toole TE. Identification of hypercoagulability in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia by means of thromboelastography. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2011;238(4):463-467.
 55. Fleming J, Creevy K, Promislow D. Mortality in North American Dogs from 1984 to 2004: An Investigation into Age-, Size-, and Breed-Related Causes of Death. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2011;25(2):187-198.
 56. Flint S, Abrams-Ogg A, Kruth S, Bersenas A, Wood R. Thrombelastographie in dogs with immunemediated hemolytic anemia treated with prednisone, azathioprine and low-dose aspirin. Research Abstract Program of the 2010 ACVIM Forum. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2010;24(3):681.
 57. Flückiger MA, Gomez JA. Radiographic findings in dogs with spontaneous pulmonary thrombosis or embolism. *Veterinary Radiology*. 1984;25(3):124-131.

-
58. Forney S. Chapter 64: Dyspnea and Tachypnea. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of veterinary internal medicine: Diseases of the dog and the cat*. 7th ed. St. Louis: Elsevier Saunders; op. 2010:254-255.
59. Gehrs BC, Friedberg RC. Autoimmune hemolytic anemia. *American Journal of Hematology*. 2002;69(4):258-271.
60. Gerber B, Steger A, Hässig M, Glaus TM. Anwendung von humanem Immunglobulin bei Hunden mit primärer immunbedingter hämolytischer Anämie. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*. 2002;144(4):180-185.
61. Gershwin LJ. Veterinary Autoimmunity: Autoimmune Diseases in Domestic Animals. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007;1109(1):109-116.
62. Giger U. Chapter 270: Regenerative Anemias Caused by Blood Loss or Hemolysis. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of veterinary internal medicine: Diseases of the dog and cat*. 6th ed. St. Louis: Elsevier Saunders; op. 2005:1886-1907.
63. Goggs R, Boag AK, Chan DL. Concurrent immune-mediated haemolytic anaemia and severe thrombocytopenia in 21 dogs. *The Veterinary Record*. 2008;163(11):323-327.
64. Goggs R, Wiinberg B, Kjølgaard-Hansen M, Chan DL. Serial assessment of the coagulation status of dogs with immune-mediated haemolytic anaemia using thromboelastography. *Veterinary Journal*. 2012;191(3):347-353.
65. Gorman NT, Werner LL. Immune mediated-diseases of the dog and cat. II. Immune-mediated diseases of the haemolymphatic and musculoskeletal system. *The British Veterinary Journal*. 1986;142(5):403-410.
66. Gow DJ, Gow AG, Bell R, et al. Serum cardiac troponin I in dogs with primary immune-mediated haemolytic anaemia. *The Journal of Small Animal Practice*. 2011;52(5):259-264.
67. Griebisch C. *Untersuchung verschiedener prognostischer Marker einschliesslich des C-reaktiven Proteins bei der caninen autoimmunhämolytischen Anämie*. Berlin: Mbv; 2008.

-
68. Griebisch C, Arndt G, Kohn B. Untersuchung verschiedener prognostischer Marker bei Hunden mit primärer immunhämolytischer Anämie. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*. 2010;123(3-4):160-168.
69. Griebisch C, Arndt G, Raila J, Schweigert FJ, Kohn B. C-reactive protein concentration in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Veterinary Clinical Pathology*. 2009;38(4):421-425.
70. Grundy SA, Barton C. Influence of drug treatment on survival of dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 88 cases (1989-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2001;218(4):543-546.
71. Guadarrama-Olhovich M, Garcia Ortuno LE, Ruiz Remolina JA, Lopez Buitrago C, Ramirez Lezama J, & Bouda J. Acute pancreatitis, azotaemia, cholestasis and haemolytic anaemia in a dog: a case report. *Veterinary Medicina*. 2013;58(1):44-49.
72. Haboeck G, Pakozdy A. Haematological abnormalities in dogs during Phenobarbital treatment. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*. 2012;99(9-10):242-249.
73. Hammer AS, Couto CG, Swardson C, Getzy D. Hemostatic abnormalities in dogs with hemangiosarcoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1991;5(1):11-14.
74. Harkin KR, Hicks JA, Wilkerson MJ. Erythrocyte-bound immunoglobulin isotypes in dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 54 cases (2001-2010). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2012;241(2):227-232.
75. Harrus S, Waner T. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview. *The Veterinary Journal*. 2011;187(3):292-296.
76. Hartmann P, Stock KF, Distl O. Lebensdauer und Todesursachen bei Berner Sennenhunden. *Praktischer Tierarzt*. 2011;92(6):472-478.
77. Harvey JW. Pathogenesis, laboratory diagnosis, and clinical implications of erythrocyte enzyme deficiencies in dogs, cats, and horses. *Veterinary Clinical Pathology*. 2006;35(2):144-156.

-
78. Harvey JW. Chapter 2: Hematology Procedures. In: Harvey JW, ed. *Veterinary hematology: A diagnostic guide and color atlas*. St. Louis, Mo: Elsevier/Saunders; 2012:11-32.
79. Harvey JW. Chapter 4: Evaluation of Erythrocytes. In: Harvey JW, ed. *Veterinary hematology: A diagnostic guide and color atlas*. St. Louis, Mo: Elsevier/Saunders; 2012:49-121.
80. Harvey JW. Chapter 6: Immunohematology. In: Harvey JW, ed. *Veterinary hematology: A diagnostic guide and color atlas*. St. Louis, Mo: Elsevier/Saunders; 2012:177-190.
81. Hecht S. Kapitel 9: Thorax (exkl. Herz). In: Hecht S, ed. *Röntgendiagnostik in der Kleintierpraxis*. Stuttgart: Schattauer; 2008:125-168.
82. Heile C, Heydorn A-O, Schein E. *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794)-- Verbreitung, Biologie und Vektor von *Babesia canis* in Deutschland. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*. 2006;119(7-8):330-334.
83. Helmond SE, Polzin DJ, Armstrong PJ, Finke M, Smith SA. Treatment of immune-mediated hemolytic anemia with individually adjusted heparin dosing in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2010;24(3):597-605.
84. Holahan ML, Brown AJ, Drobatz KJ. The association of blood lactate concentration with outcome in dogs with idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: 173 cases (2003-2006). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 2010;20(4):413-420.
85. Honeckman A.L., Knapp D.W., Reagan WJ. Diagnosis of Canine Immune-Mediated Hematologic Disease. *Compendium: Continuing Education For Veterinarians*. 1996;18(2):113-127.
86. Horgan JE, Roberts BK, Schermerhorn T. Splenectomy as an adjunctive treatment for dogs with immune-mediated hemolytic anemia: ten cases (2003-2006). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 2009;19(3):254-261.
87. Husbands B, Polzin D, Armstrong P, Cohn L, Patterson N. Prednisone and Ciclosporin vs. Prednisone alone for treatment of canine immune-mediated

-
- hemolytic anemia (IMHA). Research Abstract Program of the 22nd Annual ACVIM Forum. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2004;18(3):389.
88. Ishihara M, Fujino Y, Setoguchi A, et al. Evaluation of prognostic factors and establishment of a prognostic scoring system for canine primary immune-mediated hemolytic anemia. *The Journal of Veterinary Medical Science*. 2010;72(4):465-470.
89. Jackson ML, Kruth SA. Immune-mediated Hemolytic Anemia and Thrombocytopenia in the Dog: A retrospective study of 55 cases diagnosed from 1979 through 1983 at the Western College of Veterinary Medicine. *The Canadian Veterinary Journal*. 1985;26(8):245-250.
90. Jaime-Pérez JC, Rodríguez-Martínez M, Gómez-de-León A, Tarín-Arzaga L, Gómez-Almaguer D. Current Approaches for the Treatment of Autoimmune Hemolytic Anemia. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 2013;(61):385-395.
91. Jensen J, Simon D, Escobar HM, et al. *Anaplasma phagocytophilum* in Dogs in Germany. *Zoonoses and Public Health*. 2007;54(2):94-101.
92. Johnson LR. Activation of the immune system and thrombosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2002;16(5):501-503.
93. Johnson LR, Lappin MR, Baker DC. Pulmonary thromboembolism in 29 dogs: 1985-1995. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1999;13(4):338-345.
94. Jones D, Stokes C, Gruffydd-Jones T, Bourne F. An enzyme-linked antiglobulin test for the detection of erythrocyte-bound antibodies in canine autoimmune haemolytic anaemia. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1987;16(1-2):11-21.
95. Jones D, Gruffydd-Jones T. The haematological consequences of immune-mediated anaemia in the dog. *Comparative Haematology International*. 1991;1(2):83-90.

-
96. Karayannopoulou M, Koutinas AF, Polizopoulou ZS, et al. Total Serum Alkaline Phosphatase Activity in Dogs with Mammary Neoplasms: a Prospective Study on 79 Natural Cases. *Journal of Veterinary Medicine Series A*. 2003;50(10):501-505.
 97. Kazatchkine MD, Kaveri SV. Immunomodulation of autoimmune and inflammatory diseases with intravenous immune globulin. *The New England Journal of Medicine*. 2001;345(10):747-755.
 98. Keller ET. Immune-mediated disease as a risk factor for canine lymphoma. *Cancer*. 1992;70(9):2334-2337.
 99. Kellerman DL, Bruyette DS. Intravenous human immunoglobulin for the treatment of immune-mediated hemolytic anemia in 13 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1997;11(6):327-332.
 100. Kemming GI, Messick JB, Enders G, et al. Mycoplasma haemocanis infection - a kennel disease? *Comparative Medicine*. 2004;54(4):404-409.
 101. Kennedy LJ, Barnes A, Ollier WER, Day MJ. Association of a common dog leucocyte antigen class II haplotype with canine primary immune-mediated haemolytic anaemia. *Tissue Antigens*. 2006;68(6):502-508.
 102. Khoutorsky A, Bruchim Y. Transient leucopenia, thrombocytopenia and anaemia associated with severe acute phenobarbital intoxication in a dog. *Journal of Small Animal Practice*. 2008;49(7):367-369.
 103. Kidd L, Mackman N. Prothrombotic mechanisms and anticoagulant therapy in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 2013;23(1):3-13.
 104. Kidd L, Rasmussen R, Chaplow E, Richter K, Hill S, Slusser PG. Seasonality of immune-mediated hemolytic anemia in dogs from southern California. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 2014;24(3):311-315.
 105. Kjelgaard-Hansen M, Goggs R, Wiinberg B, Chan DL. Use of serum concentrations of interleukin-18 and monocyte chemoattractant protein-1 as prognostic indicators in primary immune-mediated hemolytic anemia in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2011;25(1):76-82.

-
106. Kjelgaard-Hansen M, Jensen AL, Houser GA, Jessen LR, Kristensen AT. Use of serum C-reactive protein as an early marker of inflammatory activity in canine type II immune-mediated polyarthritis: case report. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2006;48:9-12.
 107. Klag AR, Giger U, Shofer FS. Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 42 cases (1986-1990). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1993;202(5):783-788.
 108. Klein MK, Dow SW, Rosychuk RA. Pulmonary thromboembolism associated with immune-mediated hemolytic anemia in dogs: ten cases (1982-1987). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1989;195(2):246-250.
 109. Klopmann T von, Papenhagen H, Tipold, A. Phenobarbital-induced blood dyscrasia in a Shi-Tzu. *Tierärztliche Praxis Kleintiere*. 2006;34(1):40-44.
 110. Kohn S, Garner M, Bennett D, Brunnberg L. Polyarthritis following vaccination in four dogs. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. 2003;16(1):6-10.
 111. Kutter D, Mijanovic-Lasic D, Thoma J, Kutter P. Erythrocyte Hyperchromia Measured by Flow Cytometry: a Marker for Body Iron Overload? Flow-zytometrische Messung der erythrozytaren Hyperchromie: Ein Marker für Eisenerüberladung? *Laboratoriums Medizin*. 2003;27(1):67-72.
 112. Kuzi S, Segev G, Haruvi E, Aroch I. Plasma antithrombin activity as a diagnostic and prognostic indicator in dogs: a retrospective study of 149 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2010;24(3):587-596.
 113. Laforcade A de. Diseases Associated with Thrombosis. *Topics in Companion Animal Medicine*. 2012;27(2):59-64.
 114. Lechner K, Jager U. How I treat autoimmune hemolytic anemias in adults. *Blood*. 2010;116(11):1831-1838.
 115. Lewis RM, Schwartz RS, Gilmore CE. Autoimmune diseases in domestic animals. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1965;124(1):178-200.

-
116. Lilliehöök I, Gunnarsson L, Zakrisson G, Tvedten H. Diseases associated with pronounced eosinophilia: a study of 105 dogs in Sweden. *Journal of Small Animal Practice*. 2000;41(6):248-253.
117. Lobetti RG, Schoeman T. Immune-mediated haemolytic anaemia: possible association with *Ancylostoma caninum* infection in three dogs. *Journal of the South African Veterinary Association*. 2001;72(1):52-54.
118. Lorenzová J, Crha M, Kecová H, Urbanová L, Stavinohová R, Nečas A. Patient Survival Periods and Death Causes Following Surgical Treatment of Mammary Gland Tumours Depending on Histological Type of Tumour: Retrospective Study of 221 Cases. *Acta Veterinaria Brno*. 2010;79(2):289-297.
119. Lowrie M, Penderis J, Eckersall P, McLaughlin M, Mellor D, Anderson T. The role of acute phase proteins in diagnosis and management of steroid-responsive meningitis arteritis in dogs. *The Veterinary Journal*. 2009;182(1):125-130.
120. Lucas JA, Ahmed SA, Casey ML, MacDonald PC. Prevention of autoantibody formation and prolonged survival in New Zealand black/New Zealand white F1 mice fed dehydroisoandrosterone. *Journal of Clinical Investigation*. 1985;75(6):2091-2093.
121. Lunsford KV, Mackin AJ, Langston VC, Brooks M. Pharmacokinetics of subcutaneous low molecular weight heparin (enoxaparin) in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 2009;45(6):261-267.
122. Mackman N. Triggers, targets and treatments for thrombosis. *Nature*. 2008;451(7181):914-918.
123. Mansfield C. Acute Pancreatitis in Dogs: Advances in Understanding, Diagnostics, and Treatment. *Topics in Companion Animal Medicine*. 2012;27(3):123-132.
124. Mason N, Duval D, Shofer FS, Giger U. Cyclophosphamide exerts no beneficial effect over prednisone alone in the initial treatment of acute immune-mediated hemolytic anemia in dogs: a randomized controlled clinical trial. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2003;17(2):206-212.

-
125. Máthé A, Vörös K, Papp L, Reiczigel J. Clinical manifestations of canine babesiosis in Hungary (63 cases). *Acta Veterinaria Hungarica*. 2006;54(3):367-385.
 126. Matijatko V, Mrljak V, Kiš I, et al. Evidence of an acute phase response in dogs naturally infected with *Babesia canis*. *Veterinary Parasitology*. 2007;144(3-4):242-250.
 127. Matus RE, Schrader LA, Leifer CE, Gordon BR, Hurvitz AI. Plasmapheresis as adjuvant therapy for autoimmune hemolytic anemia in two dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1985;186(7):691-693.
 128. Mazepa AW, Kidd LB, Young KM, Trepanier LA. Clinical presentation of 26 anaplasma phagocytophilum-seropositive dogs residing in an endemic area. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 2010;46(6):405-412.
 129. McAlees TJ. Immune-mediated haemolytic anaemia in 110 dogs in Victoria, Australia. *Australian Veterinary Journal*. 2010;88(1-2):25-28.
 130. McAnulty JF, Rudd RG. Thrombocytopenia associated with vaccination of a dog with a modified-live paramyxovirus vaccine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1985;186(11):1217-1219.
 131. McCullough SM. Immune-mediated hemolytic anemia: understanding the nemesis. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. 2003;33(6):1295-1315.
 132. McManus PM, Craig LE. Correlation between leukocytosis and necropsy findings in dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 34 cases (1994-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2001;218(8):1308-1313.
 133. Mellanby RJ, Holloway A, Chantrey J, Herrtage ME, Dobson JM. Immune-mediated haemolytic anaemia associated with a sarcoma in a flat-coated retriever. *The Journal of Small Animal Practice*. 2004;45(1):21-24.
 134. Mellett AM, Nakamura RK, Bianco D. A prospective study of clopidogrel therapy in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2011;25(1):71-75.

-
135. Mellor PJ, Roulois AJA, Day MJ, Blacklaws BA, Knivett SJ, Herrtage ME. Neutrophilic dermatitis and immune-mediated haematological disorders in a dog: suspected adverse reaction to carprofen. *The Journal of Small Animal Practice*. 2005;46(5):237-242.
136. Miller E. Chapter 57: Immune-mediated hemolytic anemia. In: Bonagura JD, Kirk RW, eds. *Kirk's current Veterinary Therapy*. 14th ed. Philadelphia, Pa., London: Elsevier Saunders; 2008:266-271.
137. Miller G, Swisher S, Young L. A case of autoimmune hemolytic disease in a dog. *Clinical Research Proceedings*. 1954;(2):60-61.
138. Miller SA, Hohenhaus AE, Hale AS. Case-control study of blood type, breed, sex, and bacteremia in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2004;224(2):232-235.
139. Mischke R. Kapitel 3: Anämie. In: Mischke R, ed. *Praktische Hämatologie bei Hund und Katze*. Hannover: Schlütersche; 2003:57-86.
140. Mitchell K, Kruth S. Chapter 188: Immune-mediated hemolytic anemia and other regenerative anemias. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the dog and the cat*. Volume 1. 7th ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2010:761-772.
141. Mitchell KD, Kruth SA. Detecting, Confirming, and Treating Immune-Mediated Hemolytic Anemia in Dogs. *Small Animal Veterinary Rounds*. 2012;1(5).
142. Mitchell KD, Kruth SA, Wood RD, Jefferson B. Serum Acute Phase Protein Concentrations in Dogs with Autoimmune Hemolytic Anemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2009;23(3):585-591.
143. Möhr A, Lobetti R, van der Lugt J. Acute pancreatitis: A newly recognised potential complication of canine babesiosis. *Journal of the South African Veterinary Association*. 2000;71(4):232-239.
144. Moritz A, Fickenscher Y, Meyer K, Failing K, Weiss DJ. Canine and feline hematology reference values for the ADVIA 120 hematology system. *Veterinary Clinical Pathology*. 2004;33(1):32-38.

-
145. Moritz A, Schwendenwein I, Kraft W. Kapitel 11: Hämatologie. In: Moritz A, ed. *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin: Der neue Kraft/Dürr. Mit 286 Tabellen*. 7th ed. Stuttgart: Schattauer; 2014:79-159.
146. Morley P, Mathes M, Guth A, Dow S. Anti-erythrocyte antibodies and disease associations in anemic and nonanemic dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2008;22(4):886-892.
147. Mouthon L, Kaveri SV, Spalter SH, et al. Mechanisms of action of intravenous immune globulin in immune-mediated diseases. *Clinical and Experimental Immunology*. 1996;104 Suppl 1:3-9.
148. Nakagawa M, Terashima T, D'yachkova Y, Bondy GP, Hogg JC, van Eeden SF. Glucocorticoid-induced granulocytosis: contribution of marrow release and demargination of intravascular granulocytes. *Circulation*. 1998;98(21):2307-2313.
149. Nassiri SM, Shirani D, Khazrainia P, Hajmohammadali A, Sharifi H. The investigation of the prevalence of immune-mediated hemolytic anemia (IMHA) in anemic dogs referred to the Veterinary Teaching Hospital of the University of Tehran. *Comparative Clinical Pathology*. 2005;14(3):121-124.
150. Neel JA, Snyder L, Grindem CB. Thrombocytosis: a retrospective study of 165 dogs. *Veterinary Clinical Pathology*. 2012;41(2):216-222.
151. Nielsen L, Andreasen SN, Andersen SD, Kristensen AT. Malignant histiocytosis and other causes of death in Bernese mountain dogs in Denmark. *The Veterinary Record*. 2010;166(7):199-202.
152. Ohno K, YOKOYAMA Y, Nakashima K, Setoguchi A, Fujino Y, Tsujimoto H. C- Reactive Protein Concentration in Canine Idiopathic Polyarthritits. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2006;68(12):1275-1279.
153. Onishi T, Suzuki S, Horie M, et al. Serum hemolytic activity of Babesia gibsoni-infected dogs: the difference in the activity between self and nonself red blood cells. *The Journal of Veterinary Medical Science*. 1993;55(2):203-206.
154. Opdenakker G, Fibbe WE, van Damme J. The molecular basis of leukocytosis. *Immunology Today*. 1998;19(4):182-189.

-
155. Overmann JA, Sharkey LC, Weiss DJ, Borjesson DL. Performance of 2 microtiter canine Coombs' tests. *Veterinary Clinical Pathology*. 2007;36(2):179-183.
 156. Owen JL, Harvey JW. Hemolytic Anemia in Dogs and Cats Due to Erythrocyte Enzyme Deficiencies. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 2012;42(1):73-84.
 157. Owens AP, Mackman N. Microparticles in Hemostasis and Thrombosis. *Circulation Research*. 2011;108(10):1284-1297.
 158. Patronek GJ, Waters DJ, Glickman LT. Comparative Longevity of Pet Dogs and Humans: Implications for Gerontology Research. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. 1997;52A(3):171-178.
 159. Pesillo SA, Freeman LM, Rush JE. Assessment of lipid peroxidation and serum vitamin E concentration in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *American Journal of Veterinary Research*. 2004;65(12):1621-1624.
 160. Piek CJ. Canine idiopathic immune-mediated haemolytic anaemia: a review with recommendations for future research. *The Veterinary Quarterly*. 2011;31(3):129-141.
 161. Piek CJ, Brinkhof B, Teske E, Rothuizen J, Dekker A, Penning LC. High intravascular tissue factor expression in dogs with idiopathic immune-mediated haemolytic anaemia. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2011;144(3-4):346-354.
 162. Piek CJ, Junius G, Dekker A, Schrauwen E, Slappendel RJ, Teske E. Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: treatment outcome and prognostic factors in 149 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2008;22(2):366-373.
 163. Piek CJ, Teske E, van Leeuwen MW, Day MJ. Good agreement of conventional and gel-based direct agglutination test in immune-mediated haemolytic anaemia. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2012;54:10-17.

-
164. Piek CJ, van Spil WE, Junius G, Dekker A. Lack of evidence of a beneficial effect of azathioprine in dogs treated with prednisolone for idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: a retrospective cohort study. *BMC Veterinary Research*. 2011;7:15-24.
165. Pineau S, Belbeck LW, Moore S. Levamisole reduces the thrombocytopenia associated with myxovirus vaccination. *The Canadian Veterinary Journal*. 1980;21(3):82-84.
166. Proschowsky HF, Rugbjerg H, Ersbøll AK. Mortality of purebred and mixed-breed dogs in Denmark. *Preventive Veterinary Medicine*. 2003;58(1-2):63-74.
167. Quigley KA, Chelack BJ, Haines DM, Jackson ML. Application of a direct flow cytometric erythrocyte immunofluorescence assay in dogs with immune-mediated hemolytic anemia and comparison to the direct antiglobulin test. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2001;13(4):297-300.
168. Reagan WJ. A Review of Myelofibrosis in Dogs. *Toxicologic Pathology*. 1993;21(2):164-169.
169. Reagan WJ, Scott-Moncrieff C, Christian J, Snyder P, Kelly K, Glickman L. Effects of human intravenous immunoglobulin on canine monocytes and lymphocytes. *American Journal of Veterinary Research*. 1998;59(12):1568-1574.
170. Rebar AH, Hahn FF, Halliwell WH, DeNicola DB, Benjamin SA. Microangiopathic hemolytic anemia associated with radiation-induced hemangiosarcomas. *Veterinary Pathology*. 1980;17(4):443-454.
171. Reimer ME, Troy GC, Warnick LD. Immune-mediated hemolytic anemia: 70 cases (1988-1996). *Journal of the American Animal Hospital Association*. 1999;35(5):384-391.
172. Rettig MP, Low PS, Gimm JA, Mohandas N, Wang J, Christian JA. Evaluation of biochemical changes during in vivo erythrocyte senescence in the dog. *Blood*. 1999;93(1):376-384.

-
173. Ridyard AE, Shaw DJ, Milne EM. Evaluation of platelet activation in canine immune-mediated haemolytic anaemia. *The Journal of Small Animal Practice*. 2010;51(6):296-304.
174. Rothuizen J, Van den Brom, W. E., Fevery J. The origins and kinetics of bilirubin in dogs with hepatobiliary and haemolytic diseases. *Journal of Hepatology*. 1992;15(1-2):17-24.
175. Roubinian JR, Papoian R, Talal N. Androgenic Hormones Modulate Autoantibody Responses and Improve Survival in Murine Lupus. *Journal of Clinical Investigation*. 1977;59(6):1066-1070.
176. Saavedra P, Couto CG, Lara AAF, Hosoya K. Use of human intravenous immunoglobulin G in dogs: a retrospective study - Program of the 25th Annual ACVIM Forum. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2007;21(3):622-623.
177. Santos AA, Lopes CC, Marques RM, Amorim IF, Gärtner MF, De Matos, A. J. F. Matrix metalloproteinase-9 expression in mammary gland tumors in dogs and its relationship with prognostic factors and patient outcome. *American Journal of Veterinary Research*. 2012;73(5):689-697.
178. Scott-Moncrieff JC, Reagan WJ. Human intravenous immunoglobulin therapy. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*. 1997;12(3):178-185.
179. Scott-Moncrieff JC, Reagan WJ, Glickman LT, DeNicola DB, Harrington D. Treatment of nonregenerative anemia with human gamma-globulin in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1995;206(12):1895-1900.
180. Scott-Moncrieff JC, Reagan WJ, Snyder PW, Glickman LT. Intravenous administration of human immune globulin in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1997;210(11):1623-1627.
181. Scott-Moncrieff JC, Treadwell NG, McCullough SM, Brooks MB. Hemostatic abnormalities in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 2001;37(3):220-227.

-
182. Shafiee R, Javanbakht J, Atyabi N, et al. Diagnosis, classification and grading of canine mammary tumours as a model to study human breast cancer: an Clinico-Cytohistopathological study with environmental factors influencing public health and medicine. *Cancer Cell International*. 2013;13(1):79-89.
183. Shaw SE, Day MJ, Birtles RJ, Breitschwerdt EB. Tick-borne infectious diseases of dogs. *Trends in Parasitology*. 2001;17(2):74-80.
184. Sinnott VB, Otto CM. Use of thromboelastography in dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 39 cases (2000-2008). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 2009;19(5):484-488.
185. Slappendel R. The diagnostic significance of the direct antiglobulin test (DAT) in anemic dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1979;1(1):49-59.
186. Smith SA. Antithrombotic Therapy. *Topics in Companion Animal Medicine*. 2012;27(2):88-94.
187. Stewart A, Feldman BF. Immune-Mediated Hemolytic Anemia. Part I. An Overview. *Compendium: Continuing Education for Veterinarians*. 1993;15(3):372-381.
188. Stewart A, Feldman BF. Immune-Mediated Hemolytic Anemia. Part II. Clinical Entity, Diagnosis, and Treatment Theory. *Compendium: Continuing Education for Veterinarians*. 1993;15(11):1479-1491.
189. Stockham SL, Scott MA. Chapter 12: Enzymes. In: Stockham SL, Scott MA, eds. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd ed. Ames, Iowa: Blackwell Pub; 2008:639-674.
190. Stockham SL, Scott MA. Chapter 2: Leucocytes. In: Stockham SL, Scott MA, eds. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd ed. Ames, Iowa: Blackwell Pub; 2008:53-106.
191. Stockham SL, Scott MA. Chapter 3: Erythrocytes. In: Stockham SL, Scott MA, eds. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd ed. Ames, Iowa: Blackwell Pub; 2008:107-221.

-
192. Stockham SL, Scott MA. Chapter 5: Hemostasis. In: Stockham SL, Scott MA, eds. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd ed. Ames, Iowa: Blackwell Pub; 2008:259-322.
 193. Stockham SL, Scott MA. Chapter 7: Proteins. In: Stockham SL, Scott MA, eds. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd ed. Ames, Iowa: Blackwell Pub; 2008:369-413.
 194. Stokol T. Laboratory Diagnosis of Disseminated Intravascular Coagulation in Dogs and Cats: The Past, the Present, and the Future. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 2012;42(1):189-202.
 195. Su Y, Rolph MS, Cooley MA, Sewell WA. Cyclophosphamide augments inflammation by reducing immunosuppression in a mouse model of allergic airway disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2006;117(3):635-641.
 196. Swann JW, Skelly BJ. Evaluation of immunosuppressive regimens for immune-mediated haemolytic anaemia: a retrospective study of 42 dogs. *The Journal of Small Animal Practice*. 2011;52(7):353-358.
 197. Swann JW, Skelly BJ. Systematic review of evidence relating to the treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2013;27(1):1-9.
 198. Swann JW, Skelly BJ. Systematic review of prognostic factors for mortality in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*. 2015;29(1):7-13.
 199. Switzer E, Nolte I. Is the mongrel really the healthier dog? Investigation on the disease susceptibility of mixed breed dogs in Germany. *Praktischer Tierarzt*. 2007;88(1):14-19.
 200. Tan E, Bienzle D, Shewen P, Kruth S, Wood D. Potentially antigenic RBC membrane proteins in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Veterinary Clinical Pathology*. 2012;41(1):45-55.

-
201. Tecles F, Spiranelli E, Bonfanti U, Cerón J, Paltrinieri S. Preliminary Studies of Serum Acute-Phase Protein Concentrations in Hematologic and Neoplastic Diseases of the Dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2005;19(6):865-870.
202. Thompson MF, Scott-Moncrieff JC, Brooks MB. Effect of a single plasma transfusion on thromboembolism in 13 dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 2004;40(6):446-454.
203. Thrall MA. Chapter 8: Regenerative Anemia. In: Thrall MA, Weiser G, Campbell TW, Allison R, eds. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. 2nd ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2012:87-113.
204. Toll J, Aronsohn M. Prospective evaluation of medical therapy with or without early splenectomy for treatment of severe immune-mediated hemolytic anemia in the dog. Research Abstract Program of the 21st Annual ACVIM Forum. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2003;17(3):389.
205. Tsuchiya R, Akutsu Y, Ikegami A, et al. Prothrombotic and Inflammatory Effects of Intravenous Administration of Human Immunoglobulin G in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2009;23(6):1164-1169.
206. Tvedten HW. Chapter 24: Laboratory and clinical diagnosis of anemia. In: Weiss DJ, Wardrop KJ, Schalm OW, eds. *Schalm's Veterinary Hematology*. 6th ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2010:152-161.
207. Tvedten HW, Holan K. What Is Your Diagnosis? *Veterinary Clinical Pathology*. 1996;25(4):148-149.
208. Virchow R. *Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medicin [Elektronische Ressource]*. Frankfurt a.M: Meidinger; 1856.
209. Walker D. Chapter 26: Peripheral Blood Smears. In: Cowell RL, ed. *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*. 3rd ed. St. Louis, MO: Mosby Elsevier; 2008:390-421.

-
210. Wang A, Smith JR, Creevy KE. Treatment of canine idiopathic immune-mediated haemolytic anaemia with mycophenolate mofetil and glucocorticoids: 30 cases (2007 to 2011). *Journal of Small Animal Practice*. 2013;54(8):399-404.
211. Wardrop KJ. The Coombs' test in veterinary medicine: past, present, future. *Veterinary Clinical Pathology*. 2005;34(4):325-334.
212. Warman SM, Helps CR, Barker EN, et al. Haemoplasma infection is not a common cause of canine immune-mediated haemolytic anaemia in the UK. *The Journal of Small Animal Practice*. 2010;51(10):534-539.
213. Warman SM, Murray JK, Ridyard A, Eastwood J, Silva S, Day MJ. Pattern of Coombs' test reactivity has diagnostic significance in dogs with immune-mediated haemolytic anaemia. *The Journal of Small Animal Practice*. 2008;49(10):525-530.
214. Weatherton LK, Streeter EM. Evaluation of fresh frozen plasma administration in dogs with pancreatitis: 77 cases (1995-2005). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 2009;19(6):617-622.
215. Weinkle TK, Center SA, Randolph JF, Warner KL, Barr SC, Erb HN. Evaluation of prognostic factors, survival rates, and treatment protocols for immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 151 cases (1993-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2005;226(11):1869-1880.
216. Weiser MG. Diagnosis of immunohemolytic disease. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*. 1992;7(4):311-314.
217. Weiss DJ. Feline myelonecrosis and myelofibrosis: 22 cases 1996–2006. *Comparative Clinical Pathology*. 2007;16(3):181-185.
218. Weiss DJ, Brazzell JL. Detection of activated platelets in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2006;20(3):682-686.
219. Weiss DJ, Tvedten H. Kapitel 3: Veränderungen des roten Blutbildes. In: Willard MD, ed. *Labordiagnostik in der Kleintierpraxis*. 1st ed. München: Urban & Fischer; 2006:43-72.

-
220. West LD, Hart JR. Treatment of idiopathic immune-mediated hemolytic anemia with mycophenolate mofetil in five dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 2014;24(2):226-231.
221. Whelan MF, O'Toole TE, Chan DL, et al. Use of human immunoglobulin in addition to glucocorticoids for the initial treatment of dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 2009;19(2):158-164.
222. White H, O'Toole T, Rozanski E. Early treatment of canine immune-mediated hemolytic anemia with intravenous immunoglobulin: 11 cases (1998–2001). Research Abstract Program of the 20 th Annual ACVIM Forum. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2002;16(3):351.
223. Whitley NT, Day MJ. Immunomodulatory drugs and their application to the management of canine immune-mediated disease. *The Journal of Small Animal Practice*. 2011;52(2):70-85.
224. Wiinberg B, Jensen A, Johansson P, Rozanski E, Tranholm M, Kristensen A. Thromboelastographic Evaluation of Hemostatic Function in Dogs with Disseminated Intravascular Coagulation. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2008;22(2):357-365.
225. Wilkerson MJ, Davis E, Shuman W, Harkin K, Cox J, Rush B. Isotype-specific antibodies in horses and dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2000;14(2):190-196.
226. Winter RL, Sedacca CD, Adams A, Orton EC. Aortic thrombosis in dogs: Presentation, therapy, and outcome in 26 cases. *Journal of Veterinary Cardiology*. 2012;14(2):333-342.

Danksagung

„Jedem Ende wohnt ein Zauber inne.“

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen herzlich bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, und die immer daran geglaubt haben, dass sie am Ende fertig wird.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Reto Neiger für die Möglichkeit, eine Dissertation auf dem Gebiet der Inneren Medizin anfertigen zu dürfen sowie für die permanente Unterstützung, die schnellen Korrekturen und Rückmeldungen bei Fragen und die Geduld bei längeren Durststrecken.

Darüber hinaus möchte ich allen Oberärzten und Supervisoren für die hervorragende Ausbildung danken. Eure Begeisterung für das jeweilige Fachgebiet ist ansteckend, und es hat großen Spaß gemacht, von Euch lernen zu dürfen!

Ein großes Dankeschön geht auch an alle Arbeitskollegen der Inneren Kleintier – aus jedem Bereich! Jeder hat auf seine Art dazu beigetragen, dass das Arbeitsklima ein ganz Besonderes war, und ich auch in stressigen Phasen gerne zur Arbeit gekommen bin! Vielen Dank für jede Menge schöne, lustige und unvergessliche Momente!

Mit einigen meiner ehemaligen Arbeitskollegen verbindet mich mittlerweile eine tiefe Freundschaft. An erster Stelle möchte ich mich hier bei meiner besten Freundin Toni bedanken, die immer für mich da ist, mich unterstützt und mich so mag, wie ich bin. Vielen Dank für alles, Toni! Ich hab viel von Dir gelernt! Und die Urlaube mit Nico und Dir sind unvergessen.

Ein großer Dank geht auch an Andi, der mittlerweile ebenfalls zur Familie gehört. Ohne dich und Nelly wäre die Zeit in Gießen nur halb so schön gewesen! Und natürlich hätte diese Arbeit ohne Dich nicht zu ihrer Form gefunden.

Herzlich bedanken möchte ich mich außerdem bei Gabriel, der auf der Arbeit immer für mich da war und mich auf meinem (langen) Weg zum Doktor unterstützt hat! Auch wenn wir uns im Moment nicht so oft sehen weißt Du ja: „Wenn ich geh, dann geht nur ein Teil von mir...“

Nicht zuletzt gilt mein Dank auch Tina, die mir anfangs als Supervisorin und später als Freundin immer zur Seite stand, und von der ich viel gelernt habe!

Neben all den Menschen, die mich begleitet haben gibt es auch einige Vierbeiner, die dazu beigetragen haben, dass auf zahlreichen Spaziergängen die Akkus immer wieder aufgeladen wurden. Vielen Dank Easy und Kaylie!

Das größte Dankeschön geht an meinen Freund Felix, der mich so gut kennt wie sonst niemand und mich trotzdem mag. Vielen Dank für alles, was Du für mich getan hast und jeden Tag für mich tust. Ohne Dich wäre vieles nicht möglich gewesen. Ich liebe Dich!

Abschließend gilt mein besonderer Dank meinen Eltern und meiner Schwester Christina, die immer für mich da sind, mich unterstützen und bis zuletzt daran geglaubt haben, dass der Traum von Dr. med. vet. Ina Wetzel wahr wird! Ich liebe Euch!



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6479-2



9 17 8 3 8 3 5 19 6 4 7 9 2

