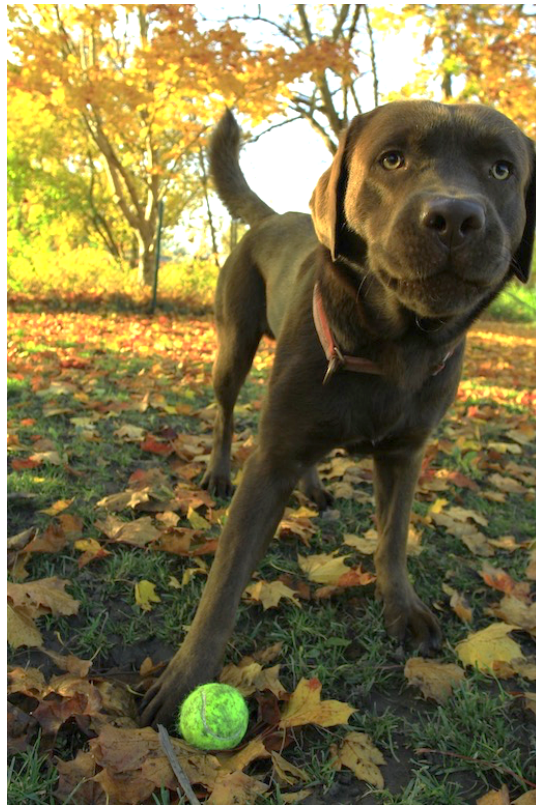


Kopparassocierad kronisk hepatit hos hund Copper-associated chronic hepatitis in dogs



Sofie Djerf

*Uppsala
2019*

Kopparassocierad kronisk hepatit hos hund

Copper-associated chronic hepatitis in dogs

Sofie Djerf

Handledare: *Elina Andersson och Fredrik Södersten, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Examinator: *Maria Löfgren, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: *Självständigt arbete i veterinärmedicin*

Kursansvarig institution: *Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Kurskod: EX0862

Program/utbildning: *Veterinärprogrammet*

Utgivningsort: *Uppsala*

Utgivningsår: 2019

Omslagsbild: *Alm Djerf, C.*

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

Nyckelord: *kopparassocierad, kronisk hepatit, cirrhos, koppar, ackumulation, koppertoxikos, hund, etiologier*

Key words: *copper-associated, chronic hepatitis, cirrhosis, copper, accumulation, copper toxicosis, dog, etiologies*

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning	3
Material och metoder	3
Litteraturoversikt	4
Leverns anatomi och fysiologi.....	4
Kopparmetabolismen	4
Inflammation orsakad av koppar	5
Kopparackumulation.....	5
<i>Primär respektive sekundär kopparackumulation</i>	<i>5</i>
<i>Kopparkoncentration i levern</i>	<i>5</i>
Diagnostik	6
Patologiska förändringar	6
<i>Makroskopiska förändringar</i>	<i>6</i>
<i>Histopatologiska förändringar</i>	<i>7</i>
Etiologier för kopparassocierad kronisk hepatit hos olika hundraser	8
<i>Bedlingtonterrier.....</i>	<i>8</i>
<i>Labrador retriever</i>	<i>8</i>
<i>Dalmatiner</i>	<i>9</i>
<i>Dobermann</i>	<i>9</i>
<i>West highland white terrier</i>	<i>10</i>
<i>Skyeterrier</i>	<i>10</i>
Diskussion.....	11
Litteraturförteckning	14

SAMMANFATTNING

Kronisk hepatit är relativt vanligt förekommande hos hund och kan orsakas av många olika etiologier, varav en är förhöjd upplagring av koppar i levern. Koppar är ett essentiellt spårämne som intas med födan. Fysiologiskt sker den främsta kopparupplagringen i levern och kopparöverskott utsöndras främst från kroppen via gallan. Primär kopparackumulation i levern är ett patologiskt tillstånd som beror på en defekt kopparmetabolism, vilket leder till förhöjd kopparkoncentration i levern. Hur primär kopparackumulation orsakar inflammation och fibros i levern är inte helt klarlagt, men förmodas bero på att fria kopparjoner ger upphov till oxidativ stress, vilket inducerar inflammation och skadar omgivande vävnad. Förhöjd kopparackumulation kan också ske sekundärt till gallstas på grund av annan samtidig intrahepatisk eller extrahepatisk sjukdom. Kopparassocierad kronisk hepatit förefaller ha en viss raspre disposition och har bland annat setts hos bedlingtonterrier, labrador retriever, dalmatiner, dobermann, west highland white terrier och skyeterrier. Studier har visat att den genomsnittliga kopparkoncentrationen i levern har ökat över tid, både hos predisponerade och icke-predisponerade hundraser.

I denna litteraturstudie redovisas vilka olika patofysiologiska mekanismer som ligger bakom kopparassocierad kronisk hepatit hos hund. Fokus kommer att ligga på möjliga bakomliggande etiologier samt eventuella skillnader mellan olika hundraser avseende patofysiologin.

Bedlingtonterrier och labrador är de hundraser hos vilka mekanismerna bakom sjukdomstillståndet är mest studerade och till störst del klarlagda. En primär kopparackumulation förekommer hos båda raserna, med en påvisad ärftlighet som förklaras av mutationer på flertalet olika gener. Dessa gener kodar för proteiner som deltar i eller påverkar kopparutsöndringen från levern till gallan och blodet. Hos dalmatiner och west highland white terrier talar resultatet av höga hepatiska kopparkoncentrationer och histopatologiska fynd i levern för att primär kopparassocierad kronisk hepatit förekommer även hos dem, men fler studier krävs för att förklara de bakomliggande mekanismerna. Bristen på studier gäller även för dobermann och skyeterrier, där de hittills publicerade studierna talar för att sekundär kopparackumulation förekommer hos dessa raser till följd av annan leverpatologi. Förutom primär och sekundär kopparackumulation till följd av reducerad kopparutsöndring, kan mängden koppar som intas via dieten vara en förklarande faktor till förhöjd kopparackumulation i levern. Framtida studier bör också försöka klargöra orsaken till ökningen av uppmätta medelkopparkoncentrationer i levern över tid hos både predisponerade och icke-predisponerade hundraser.

SUMMARY

Chronic hepatitis is fairly common in dogs and can be caused by many different etiologies, one of which is an increased level of copper in the liver. Copper is an essential trace element that is ingested through feed. Copper is mainly stored in the liver, and copper excess is mainly secreted by bile. Primary copper accumulation is caused by a defect in the copper metabolism, causing excessive copper concentration in the liver. How primary copper accumulation leads to inflammation and fibrosis is not entirely clear but may be due to free copper ions causing oxidative stress, which in turn induces inflammation and damages surrounding tissues. Copper accumulation can also be secondary to cholestasis caused by concurrent intrahepatic or extrahepatic pathology. Copper-associated chronic hepatitis is most commonly found in certain breeds of dogs, for example Bedlington terrier, Labrador retriever, Dalmatian, Dobermann pinscher, West highland white terrier and Skye terrier. Studies show that hepatic mean copper concentration has increased over time, both in predisposed and non-predisposed dog breeds.

This literature review investigates what kind of pathophysiological mechanisms that are causing copper-associated chronic hepatitis in dogs. The focus of this literature review will be on underlying etiologies and possible differences between different breeds regarding the pathophysiology.

The pathophysiological mechanisms behind the disease is most verified in Bedlington terrier and Labrador retriever. A primary copper accumulation is present in these breeds with a proven heredity that is due to mutations in several different genes. These genes encode for proteins which play a role in the secretion of copper from the liver. Histopathological findings and high concentration of copper in the liver of Dalmatians and West highland white terrier indicate that a primary copper accumulation is present in these breeds. However, more studies are required to be certain of the underlying mechanisms. Lack of studies is also the case regarding Dobermann pinscher and Skye Terrier, where published studies show that secondary copper accumulation may be present due to concurrent liver disease. Except for primary and secondary copper accumulation caused by reduced copper secretion, the amount of dietary copper can also explain increased levels of copper in the liver. Furthermore, future studies should aim at clarifying the cause of increased levels of copper in the liver, in both predisposed and non-predisposed dog breeds.

INLEDNING

Hepatit är ett inflammationstillstånd i levern med många möjliga bakomliggande etiologier, vilka sällan är fullständigt klargjorda. Kronisk hepatit kännetecknas av fortskriden inflammation och fibrosbildning. Kliniska symptom är ofta ospecifika, såsom avmagring, kräkningar, hudproblem och anemi. Vid kraftig leverpåverkan kan symptom som ascites och ikterus ses (Watson, 2014).

Prevalensen av kronisk hepatit hos hund är inte känd, men i en studie på 200 hundar som avlivats på veterinärklinik var prevalensen av kronisk hepatit 12 % (Watson *et al.*, 2010). I en annan studie på hundar med kronisk hepatit, hade 36 % av hundarna en kopparassocierad sådan (Poldervaart *et al.*, 2009).

Hos hund är en ökad upplagring av koppar den mest välstuderade orsaken till kronisk hepatit. Redan på 1970-talet klarlades att hundrasen bedlingtonterrier är predisponerad för sjukdomstillståndet (Hardy *et al.*, 1975). Sedan dess har kronisk hepatit med koppling till kopparackumulation upptäckts hos fler hundraser (Andersson & Sevelius, 1991). De senaste decennierna har fler hundar diagnostiserats med kopparassocierad kronisk hepatit och en ökad medelkoncentration av koppar i levern har setts över tid hos både predisponerade och icke-predisponerade hundraser (Johnston *et al.*, 2013; Strickland *et al.*, 2018).

Denna litteraturstudie syftar till att redovisa vilka olika patofysiologiska mekanismer som ligger bakom kopparassocierad kronisk hepatit hos hund. Det urval av hundraser som behandlas i studien baseras på de i litteraturen mest omskrivna hundraser där kopparackumulation i levern rapporterats förekomma. Fokus kommer att ligga på möjliga bakomliggande etiologier samt eventuella skillnader mellan några olika hundraser avseende patofysiologin.

MATERIAL OCH METODER

För att få fram litteraturunderlag har databaserna Web of Science, PubMed och Google Scholar använts. En del, framför allt äldre källor, har hittats genom andra artiklars referenser. Äldre artiklar som inte funnits tillgängliga elektroniskt har hämtats från magasinet i SLU:s bibliotek.

De sökord som använts i databaserna är

- hepatitis OR "liver inflammation" OR cirrhos* OR "end stage liver" AND
- copper OR Cu AND
- "Wilson disease" OR toxicos* OR accumulation AND
- dog* OR canine

Vid beskrivning av grundläggande anatomi och fysiologiska mekanismer har veterinärmedicinsk facklitteratur använts.

LITTERATURÖVERSIKT

Leverns anatomi och fysiologi

Levern är ett livsviktigt organ med många centrala funktioner. Organet finns lokaliserat i bukhålan direkt bakom diafragman och utgör hos hund cirka 3 % av kroppsvikten. Levern är uppbyggd av sexkantiga lobuli innehållande en centralt belägen ven samt perifert belägna portatriader, där varje portatriad består av artär (förgrening från *Arteria hepatica*), ven (förgrening från *Vena portae*) och gallgång. Ämnen som absorberas från tarmen till blodet kommer in i levern via *Vena portae*. Vid portatriaden blandas syrefattigt blod från venen med syrerikt blod från artären och fortsätter sedan in i sinusoiderna, vilka utgör leverns kapillärsystem. Sinusoiderna linjeras av ett fenestrerat endotel. Disses spalt är ett hålrum mellan det fenestrerade endotelet och hepatocyterna, där ämnen kan tas upp från blodet till hepatocyterna medan blodcellerna förblir kvar i cirkulationen. Sinusoiderna tömmer sig i centralvenener, vilka slutligen mynnar ut i *Vena cava caudalis* i riktning mot hjärtat. Galla produceras av hepatocyter och transporteras i levern via gallcaniculi i motsatt riktning från blodflödet. Gallcaniculi mynnar ut i större gallgångar och samlas hos hund upp i gallblåsan för senare utsöndring till tunntarmen (Sjaastad et al., 2016).

Förutom hepatocyter och endotelceller finns även andra leverspecifika celler. En av dessa är leverns makrofager, så kallade Kuppferceller, vilka är belägna inuti sinusoiderna. Kuppfercellerna fyller en viktig roll i immunförsvaret, främst genom fagocytos av främmande ämnen. I Disses spalt finns ytterligare en celltyp, så kallade stellatceller, vars huvudsakliga uppgift är att lagra A-vitamin (Brown et al., 2017).

Viktiga uppgifter för levern är bland annat nedbrytning och inaktivering av toxiner, läkemedel och hormoner. Levern möjliggör också nedbrytning och absorption av lipider i tarmen genom produktion av galla. Galla produceras av hepatocyter och består av gallsyror och gallsalter. Det är via gallan som levern främst utsöndrar metaboliter och inaktiverade ämnen. Dessa elimineras från kroppen tillsammans med galla, via tarm ut med faeces. I levern sker också produktion av plasmaproteiner, blodkoagulationsfaktorer och kolesterol. Tillsammans med skelettmuskulaturen kan levern lagra glykogen, vilket fungerar som en energireserv vid katabola energitillstånd (Sjaastad et al., 2016).

Kopparmetabolismen

Koppar är ett essentiellt spårämne som har viktiga uppgifter i flera enzymatiska reaktioner i kroppen. Kopparjoner förekommer i en reducerad (Cu^{2+}) och en oxiderad (Cu^+) form och kan därför fungera som en elektrongivare eller elektronmottagare för olika enzymatiska reaktioner. Koppar intas med födan och tas upp från enterocyter i tunntarmen genom energiberoende ATP7A-transportörer vidare ut till blodet. I blodet är koppar bundet till ceruloplasmin, alfa-2-makroglobulin och albumin, och transporteras via *Vena portae* till levern där den huvudsakliga upplagringen sker. Koppar tar sig in i hepatocyterna via transmembranproteinet copper transporter 1 (CTR1). Eftersom fria kopparjoner i reducerad form kan orsaka oxidativ stress, binder kopparjonerna till de metallbindande proteinerna metallothionein och glutation inuti hepatocyterna. Där kan kopparjonerna även skyddas och levereras till specifika mål i cellen av

intracellulära chaperoner. I cellen har koppar viktiga funktioner i mitokondriens andningskedja och i försvaret mot oxidativ stress. De ATP-beroende membranbundna transportproteinerna ATP7A och ATP7B är aktiva vid kopparutsöndringen från levern. ATP7B hjälper till att packa koppar på ceruloplasmin för vidare transport ut till blodet. Vid kopparöverskott hjälper ATP7B också till vid packning av koppar till lysosomer samt vid kopparutsöndring till gallan. ATP7A deltar i utsöndringen av koppar till blodet vid perifer kopparbrist. Njurarna kan också utsöndra en liten mängd koppar via urinen men den främsta kopparutsöndringen från kroppen sker via gallan till tarmen. Sammanfattningsvis upprätthålls kopparhomeostasen alltså främst via dietärt kopparintag samt kopparutsöndring med gallan (Hoffmann, 2009; Fieten *et al.*, 2012; Dirksen & Fieten, 2017).

Inflammation orsakad av koppar

Fibrosbildning är kroppens sätt att reparera en kronisk skada eller inflammation och uppstår på grund av obalans mellan nybildning och eliminering av extracellulär matrix. I levern spelar stellatceller en stor roll för fibrosbildning, men den exakta mekanismen mellan oxidativ stress och fibrosbildning hos hund är ännu inte helt klarlagd (Eulenberg & Lidbury, 2018). Vid omfattande kopparackumulation är den nuvarande allmänna uppfattningen att fria kopparjoner, liksom järn, kan katalysera bildandet av fria hydroxylradikaler via den så kallade Haber-Weiss-reaktionen. Fria hydroxylradikaler kan skada lipider, proteiner och nukleinsyror i cellen. Dessutom kan de inducera inflammation samt cytokinproduktion i exempelvis makrofager (Hoffmann, 2009).

Kopparackumulation

Primär respektive sekundär kopparackumulation

Primär kopparackumulation beror på en defekt i den hepatiska kopparmetabolismen medan en sekundär kopparackumulation sker till följd av gallstas (Cullen & Stalker, 2016). En sådan gallstas kan vara intrahepatisk på grund av leversjukdom, eller extrahepatisk på grund av exempelvis neoplastisk sjukdom eller inflammatoriska processer (van den Ingh *et al.*, 1986). I en studie där sekundär kopparackumulation studerats hos hundar till följd av extrahepatisk gallstas kunde ingen eller endast begränsad kopparackumulation ses i levern (Spee *et al.*, 2006). I en annan experimentell studie ligerades den stora gallgången (*Ductus choledochus*) hos hundar under 21–91 dagar. Studiens individer delades in i två grupper där den ena gruppen fick intravenös administration av koppar i dosen 0,5 mg/kg kroppsvikt, vilket inte gavs till individerna i den andra gruppen. Därutöver fanns en kontrollgrupp av hundar som varken genomgått operation eller administrerats med koppar. En signifikant ökning av hepatisk kopparkoncentration sågs hos gruppen som genomgått gallgångsligering och kopparadministration, jämfört med kontrollgruppen. Ingen signifikant skillnad kunde ses i hepatisk kopparkoncentration mellan kontrollgruppen och gruppen med enbart ligerad gallgång (Azumi, 1982).

Kopparkoncentration i levern

Kopparkoncentrationen kan mätas kvantitativt genom spektrometiska metoder alternativt genom bestrålning av små leverbitar som sedan mäts på kopparradioaktivitet (Dirksen & Fieten,

2017). Referensvärdet för kopparkoncentration i levern hos hund uppgår till 400 µg/gram torrsvikt lever (tv). Vid primär kopparackumulation ligger kopparkoncentrationen ofta över 2000 µg/gram tv, medan kopparkoncentrationen vid sekundär kopparackumulation normalt inte överstiger detta värde (Cullen & Stalker, 2016). I studier på bedlingtonterrier, labrador och dalmatiner med kopparassocierad kronisk hepatit har kopparkoncentrationer över 2000 µg/gram tv setts orsaka leverskador (van den Ingh *et al.*, 2006). De högsta kopparkoncentrationerna har setts hos bedlingtonterrier med dryga 12 000 µg/gram tv (Su *et al.*, 1982). I en retrospektiv studie utförd på 546 hundar under tidsperioden år 1982–2015 kunde en ökning av kopparkoncentrationen i levern ses över tid, både hos hundraser predisponerade för kopparassocierad kronisk hepatit och hos icke predisponerade hundraser (Strickland *et al.*, 2018).

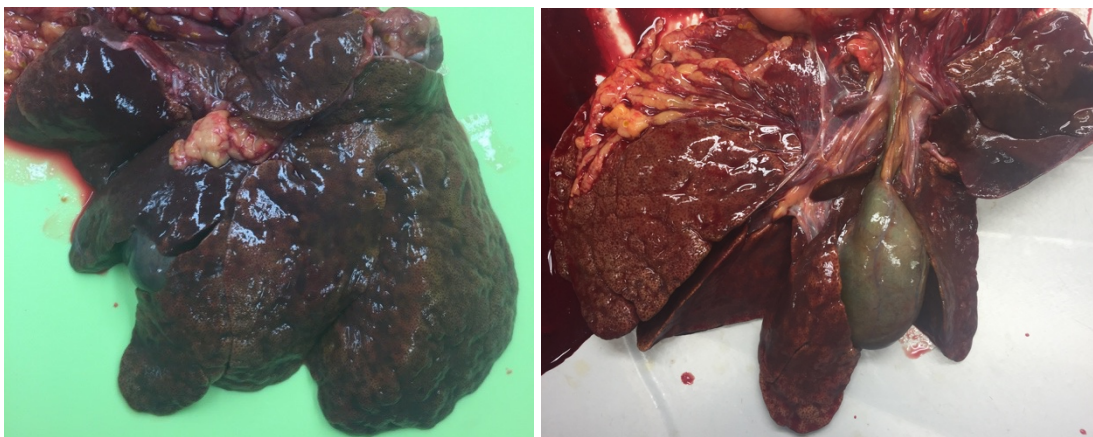
Diagnostik

För att kunna mäta kopparkoncentrationen i levern krävs leverbiopsier då den hepatiska kopparkoncentrationen inte korrelerar till någon känd biomarkör i blodserum eller urin. Provtagning kan göras genom laparotomi, laparoskopi eller perkutant med en nål, ofta med vägledning av ultraljud (Dirksen & Fieten, 2017). Finnålsaspirat (FNA) kan genomföras för att få en indikation om kopparackumulation i levern, men en sådan undersökning rekommenderas ej som diagnostiskt verktyg på grund av testets dåliga sensitivitet (Moore *et al.*, 2019). Forskning pågår för att hitta biomarkörer för sjukdomstillståndet för att därigenom lättare kunna provta och ställa diagnos (Dirksen *et al.*, 2017a; Corsato Alvarenga *et al.*, 2018).

Patologiska förändringar

Makroskopiska förändringar

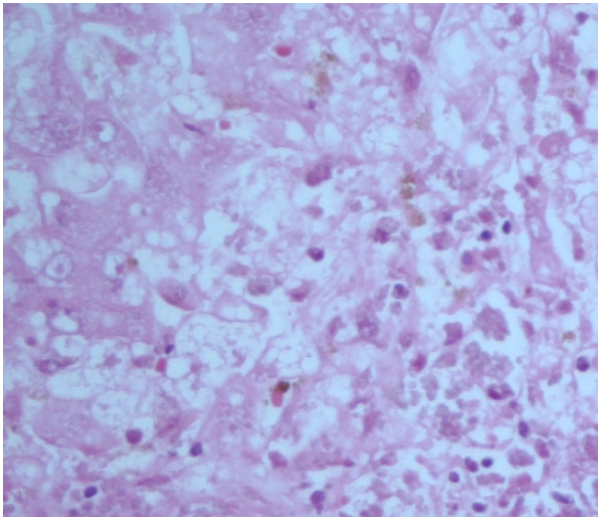
Vid långtgående kroniska hepatiter ses makroskopiska förändringar i form av en lever som är liten till storleken, med fast konsistens och med oregelbunden utlinjering till följd av fibrosbildning (Figur 1).



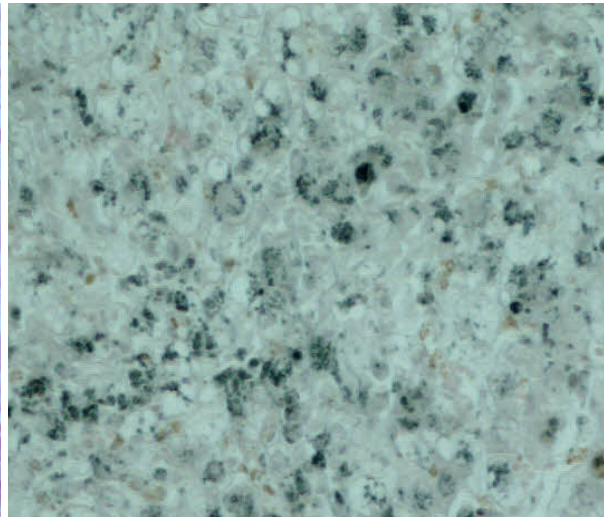
Figur 1. Samma lever sett från två olika håll som visar kronisk hepatit hos hund. En liten och fast lever med oregelbunden utlinjering. Foto: Lindström, L. (2019).

Histopatologiska förändringar

I hematoxylin-eosin-färgning (HE-färgning, Figur 2a) ses koppar som grågula till gråbruna granula i hepatocyternas och Kuppfercellernas cytoplasma. Med specifika kopparinfärgningar som rubeansyra eller rodanin (Figur 2b) kan kopparackumulation lättare bekräftas. Primär kopparassocierad kronisk hepatit kännetecknas av centrilobulärt belägen kopparackumulation och inflammation. Vid höga kopparkoncentrationer kan koppargranula även ses midzonalt och periportalt. De inflammatoriska förändringarna kännetecknas av infiltration av plasmaceller, lymfocyter, makrofager och ibland även neutrofila granulocyter. Apoptos och nekros av hepatocyterna kan ses i de inflammatoriska områdena. Vid långtgående kronisk leverinflammation kan levercirrhos utvecklas, som histologiskt kännetecknas av pseudolobuli, på grund av utbredd fibrosbildning, samt regenererande levernoduli i varierande storlek. Vid sekundär kopparackumulation orsakad av gallstas ses kopparupplagring främst periportalt. Dessutom ses gallgångsproliferation och periportal fibros med infiltration av blandade inflammatoriska celler. Vid en sekundär kopparackumulation behöver inflammationsreaktionen och kopparackumulationen inte vara lokaliserade till samma ställe (Thornburg *et al.*, 1990; Spee *et al.*, 2006; Van Winkle *et al.*, 2006; Cullen & Stalker, 2016; Brown *et al.*, 2017; Dirksen & Fieten, 2017).



Figur 2a. HE-färgning – inflammatoriska celler och nekros av hepatocyter ses till följd av kopparackumulation. Foto: Söderström, F. & Andersson, E. (2019).



Figur 2b. Rodaninfärgning – specialfärgning där koppar ses som svarta granula. Foto: Söderström, F. & Andersson, E. (2019).

Användandet av en histologisk semikvantitativ gradering av kopparkoncentrationen i levern har kommit att bli praxis i studier om kopparassocierad kronisk hepatit. Denna gradering består av en skala mellan 0–5, där gradering mellan 3–5 tyder på en primär kopparassocierad kronisk hepatit (Thornburg *et al.*, 1986; Hoffmann *et al.*, 2006; Hoffmann, 2009).

Etiologier för kopparassocierad kronisk hepatit hos olika hundraser

Bedlingtonterrier

Redan år 1975 publicerades en studie från Minnesota i USA, efter att uppfödare under 10–15 års tid uppmärksammat en ökad incidens av hepatit med dödlig utgång hos unga bedlingtonterrier. Studien beskrev två fall av hundar med kliniska symptom på leversjukdom samt utvärderade blodprover från 21 initialt asymptomatiska hundar. 19 av dessa hundar hade biokemiska evidens för aktiv hepatocellulär sjukdom. Kopparkoncentrationerna i levern mättes hos tre hundar och resultaten visade på kraftigt förhöjda värden hos samtliga individer. Dessutom sågs ackumulation av koppar i hepatocyter vid histopatologisk undersökning av leverbiopsier från sex hundar. Författarnas hypotes var att sjukdomen är ärftlig (Hardy *et al.*, 1975). Vid testparningar inom rasen påvisades autosomal recessiv ärftlighet för sjukdomen (Johnson *et al.*, 1980). En senare studie visade att det intestinala kopparupptaget inte är förhöjt hos bedlingtonterrier. Individer med höga kopparkoncentrationer i levern hade istället en signifikant minskad kopparutsöndring i gallan jämfört med andra bedlingtonterrier med normal kopparkoncentration i levern (Su *et al.*, 1982).

År 2002 detekterades en mutation hos affekterade belgiska bedlingtonterrier, i form av en deletion av exon 2 på copper metabolism MURR1 domain containing 1-genen (COMMD1-genen, tidigare kallad MURR1-genen) på kromosom 10. Vid den aktuella tidpunkten var genens funktion fortfarande okänd (van de Sluis, 2002). I en senare studie har deletionen av exon 2 på COMMD1-genen kopplats samman med avsaknaden av COMMD1-proteinet i levern. Studien visade att proteinet finns allmänt uttryckt i många av kroppens olika celltyper och att proteinet huvudsakligen finns distribuerat i cellernas cytosol. Artikelförfattarnas slutsats var att proteinet kan ha multipla funktioner beroende på celltyp, och att proteinet i levern lär vara inblandad i regleringen av vesikulär kopparutsöndring (Klomp *et al.*, 2003).

Hos bland annat finska, kanadensiska och australiensiska bedlingtonterrier har kopparassocierad kronisk hepatit uppträtt trots intakt COMMD1-gen (Coronado *et al.*, 2003; Hyun *et al.*, 2004). I en brittisk studie på bedlingtonterrier som saknade mutation på COMMD1-genen, kunde en signifikant association ses mellan sjuka individer och förekomsten av single nucleotide polymorphism (SNP) på ABCA12-genen på kromosom 37. ABCA12-genen har en nära funktionell koppling till ATP7B-genen (Haywood *et al.*, 2016).

Labrador retriever

I början av 1990-talet sågs en ökad förekomst av kronisk leversjukdom hos labradorer, där framför allt tikar var överrepresenterade (Andersson & Sevelius, 1991). I en studie jämfördes labradorer med kopparassocierad kronisk hepatit med labradorer utan kliniska symptom på leversjukdom. Av de 14 asymptomatiska hundarna i studien var åtta besläktade och sex obesläktade. En förhöjd kopparkoncentration sågs i levern hos de besläktade hundarna, men inte hos de obesläktade hundarna (Hoffmann *et al.*, 2006). I en senare studie mättes kopparkoncentrationen hos tolv labradorer med histopatologiska förändringar i levern, främst bestående av centrilobulär inflammation och centrilobulär kopparackumulation. Hos tio av dessa hundar uppmättes hepatisk kopparkoncentration över 2000 µg/gram tvl. Enligt författarna

bekräftade dessa resultat hypotesen om att en primär kopparassocierad kronisk hepatit förekommer i rasen (Smedley *et al.*, 2009).

Genom granskning av stamtavlor och leverbiopsier från 146 labradorer har arvbarheten (h^2) för kopparackumulation i levern uppskattats till 39–52 % genom en kvantitativ mätmetod, samt till 85 % genom en semikvantitativ mätmetod (Hoffmann *et al.*, 2008). I en Gene Wide Association Study (GWAS) av 235 labradorer identifierades missensmutationer i två kromosala loci. Dessa missensmutationer påvisades i generna som kodar för koppartransportproteinerna ATP7B och ATP7A. En mutation på ATP7B-genen, belägen på kromosom 22, associerades med ökad kopparackumulation i levern. Ökad kopparackumulation, till följd av mutationen på ATP7B-genen, var mest framträdande hos tikar. En mutation på ATP7A-genen, belägen på X-kromosomen, associerades istället med partiellt skydd mot kopparackumulation. Ingen skillnad av partiellt skydd mot kopparackumulation, till följd av mutation på ATP7A-genen, kunde ses mellan tikar och hanhundar. Enligt författarna förklarar dessa två mutationer 12,5 % av kopparackumulationens totala arvbarhet, där 8,2 % härrör från mutationen på ATP7B och 4,3 % härrör från mutationen på ATP7A (Fieten *et al.*, 2016).

I en studie av genuttryck hos labradorer sågs att en uppreglering av mRNA som kodar för metallotionein- och COMMD1-proteiner kan vara en tidig respons på ökad intracellulär kopparkoncentration, medan en ökning av amyloid precursor protein (APP) kan tyda på en kronisk kopparassocierad hepatit. APP föreslås enligt studien ha en roll i kopparutsöndringen till blodet (Dirksen *et al.*, 2017b).

I en retrospektiv studie som granskat hepatisk kopparkoncentration hos 72 labradorer mellan åren 1980–2010 påvisades en ökning av kopparkoncentrationer i levern över tid, både hos hundar med kronisk hepatit och hos friska hundar, vilket författarna tror beror på en ökad kopparexponering, förmodligen via fodret (Johnston *et al.*, 2013). Genom utfodring med låga kopparhalter till labradorer med kopparassocierad kronisk hepatit kan kopparkoncentrationen i levern hållas under 800 µg/gram tvl (Fieten *et al.*, 2014).

Dalmatiner

I en studie utförd på tio dalmatiner med misstänkt kopparassocierad kronisk hepatit sågs en genomsnittskoncentration av koppar i levern på 3 197 µg/gram tvl. Histopatologiska förändringar bestående av nekros, fibros och infiltrat av lymfocyter, plasmaceller, neutrofiler och makrofager kunde ses i levern. Hos en hund sågs kopparinnehållande granula centrilobulärt och en hund hade förändringar förenliga med cirrhos. Dessa histopatologiska fynd, tillsammans med den höga kopparkoncentrationen, talar enligt författarna för att primär kopparassocierad kronisk hepatit förekommer i rasen (Webb *et al.*, 2002).

Dobermann

Hos dobermann har kronisk hepatit främst observerats hos tikar. I en studie från 1988 jämfördes åtta dobermann med kronisk aktiv hepatit och cirrhos med 17 friska hundar av rasen. Hos alla utom en av de affekterade hundarna kunde intrahepatisk gallstas ses. Kopparkoncentrationen uppskattades hos sju hundar med kronisk aktiv hepatit och cirrhos till grad 3 vid semikvantitativ

gradering, medan hundarna utan kronisk aktiv hepatit och cirrhos graderades mellan 0–2 (van den Ingh *et al.*, 1988). I en senare studie med 106 slumpmässigt utvalda dobermann sågs kopparinnehållande granula hos 50 individer vid cytologisk undersökning (FNA) av levern. En ökad medelkopparkoncentration i levern uppmättes hos hundar med hepatit (419 µg/gram tvl) jämfört med hundar utan leversjukdom (197 µg/gram tvl). Vid uppföljning av 16 hundar efter drygt 2 år, var hepatiten persisterande hos sex individer, vilka uppvisade en medelkopparkoncentration på 939 µg/gram tvl. Enligt författarna indikerade resultaten en koppling mellan kopparackumulation och hepatit (Mandigers *et al.*, 2004).

I en studie på sex dobermann med kopparassocierad kronisk hepatit fanns en signifikant minskning av mRNA som kodar för ATP7A, ATP7B, ceruloplasmin, metallothionein och COMMD1-proteinet jämfört med en frisk kontrollgrupp med normala kopparkoncentrationer i levern (Spee *et al.*, 2005).

West highland white terrier

I en svensk studie där 250 histopatologiska prov undersökts från hundar av blandade raser med kroniska leversjukdomar fanns en signifikant ökad förekomst av kronisk leversjukdom hos west highland white terrier. Resultatet jämfördes med hundrasfördelningen i Svenska Kennelklubben, som vid tidpunkten för studien hade 60–70 % av Sveriges hundar registrerade. Ingen skillnad i förekomst av kronisk leversjukdom förelåg mellan de olika könen. Hos två av 18 west highland white terrier sågs enligt författarna en måttlig mängd hepatisk koppar. Denna ackumulation ansågs av författarna vara sekundär till kronisk leversjukdom (Andersson & Sevelius, 1991).

1986 publicerades en studie gjord på 71 west highland white terrier, där 44 av dessa hade förhöjda kopparkoncentrationer i levern. Hos hundar med förhöjd kopparkoncentration hade 29 normal hepatisk histomorfologi. Hos de övriga 15 hundarna hade tio multifokal hepatit med centrilobulärt belägna inflammatoriska foci bestående av blandade inflammatoriska celler och nekros. Hos dessa hundar fanns centrilobulärt lokaliserade kopparinnehållande granula. Hos två hundar sågs överbryggande hepatisk nekros och hos tre hundar sågs levercirrhos. Medelvärdet av kopparkoncentrationen hos de tio hundarna med multifokal hepatit i levern var 2460 µg/gram tvl. Parningar av hundar med hög kopparkoncentration gav valpar med förhöjd hepatisk kopparkoncentration (Thornburg *et al.*, 1986).

Skyeterrier

I en studie från Storbritannien bestående av nio besläktade hundar av rasen skyeterrier uppvisade sju av dessa kliniska symptom på leversjukdom. Vid histologisk undersökning av levern hade åtta hundar intrahepatisk gallstas. Två hundar hade enbart mild leverinflammation utan kopparinnehållande granula. Kopparinnehållande granula fanns hos hundar med kronisk hepatit och cirrhos, och kopparkoncentrationen hos dessa hundar varierade mellan 801–2257 µg/gram tvl. Hos dessa hundar sågs intrahepatisk gallstas och kopparinnehållande granula främst ha centrilobulär distribution (Haywood *et al.*, 1988).

DISKUSSION

Bedlingtonterrier och labrador retriever är de två hundraser där bakomliggande mekanismer för kopparassocierad kronisk hepatit är mest studerade och till störst del klarlagda. Hos bedlingtonterrier har Johnson *et al.* (1980) visat att sjukdomstillståndet nedärvs i ett autosomt recessivt mönster. Ett sådant tydligt mönster har inte setts hos labradorer men Hoffman *et al.* (2006) har visat att kopparkoncentrationen i levern är högre hos besläktade labradorer, jämfört med obesläktade. Jag tycker det är viktigt att hitta eventuella ärftliga mönster avseende kopparassocierad hepatit så att man genom medveten avel kan begränsa antalet sjuka djur.

Hos bedlingtonterrier med belgiskt ursprung har van de Sluis *et al.* (2002) kopplat samman kopparassocierad kronisk hepatit till deletion av exon 2 på COMMD1-genen. Klomp *et al.* (2003) har visat att deletionen i COMMD1-genen resulterade i avsaknaden av COMMD1-proteinet i levern. Författarnas hypotes är att proteinet påverkar den vesikulära utsöndringen av koppar i levern. Trots att jag inte hittat någon studie på exakt hur COMMD1-proteinet påverkar utsöndringen, lär proteinet ha en inverkan på ATP7B och möjligen även på ATP7A, vilka är de två transportproteinerna som är inblandade i kopparutsöndringen från levern. Tyvärr förefaller denna gendefekt inte vara hela förklaringen till sjukdomstillståndet hos bedlingtonterrier. Coronado *et al.* (2003) samt Hyun *et al.* (2004) påvisade kopparassocierad kronisk hepatit hos hundar utan deletion på exon 2 COMMD1-genen. Haywood *et al.* (2016) har hos dessa hundar hittat en mutation på en annan gen som kodar för en funktion liknande den för transportprotein ATP7B. Eftersom dessa mutationer har setts hos hundar med ursprung från olika länder är min hypotes att det finns subgrupper inom rasen och att sjukdomstillståndet mest troligt har en polygen nedärvning hos bedlingtonterrier, vilket försvårar möjligheten att genom kontrollerad avel komma till bukt med problemet.

Hos labradorer har Fieten *et al.* (2016) hittat mutationer på generna som kodar för koppartransportproteinerna ATP7A och ATP7B. Mutationen på ATP7A har associerats med partiellt skydd mot kopparackumulation i levern medan mutationen på ATP7B har associerats med ökad kopparackumulation i levern. Enligt studien kunde endast 12,5 % av dessa mutationer förklara kopparackumulationens ärftlighet. Likaså här tycker jag att resultaten talar för en komplex ärftlighet för sjukdomstillståndet.

Bland de övriga hundraserna som presenterats i litteraturstudien är de bakomliggande patofysiologiska mekanismerna inte lika välstuderade. I studier på dessa raser har slutsats om primär eller sekundär kopparassocierad kronisk hepatit främst dragits utifrån de kopparkoncentrationer som påvisats i levern. Studierna ger en indikation om vilka patofysiologiska mekanismer som ligger bakom sjukdomstillståndet, men jag anser att slutsatserna har inte lika stor bärkraft jämfört med studier på bedlingtonterrier och labrador där genetik och proteinuttryck är bättre studerat. Slutsatserna kan dock styrkas med de histopatologiska förändringar som observerats i studierna.

De höga hepatiska kopparkoncentrationer som Webb *et al.* (2002) påvisat i sin studie på dalmatiner talar för att primär kopparassocierad kronisk hepatit förekommer i rasen, trots att endast tio dalmatiner var representerade i studien. Det ärftliga mönstret och

kopparackumulationens centrilobulära distribution som Thornburg *et al.* (1986) påvisade hos west highland white terrier talar också för primär kopparackumulation. Hos dobermann och skyeterrier talar kopparackumulationerna och de histologiska fynden för att kopparackumulation skulle förekomma sekundärt till gallstas. Kopparackumulation sågs inte hos hundar med lindrig inflammation vilket talar för att kopparackumulationen sker sekundärt till inflammation och inte tvärtom (van den Ingh *et al.*, 1988; Haywood *et al.*, 1988). Jag anser att fler studier krävs för att mer ingående kunna förklara bakomliggande patofysiologiska mekanismer för kopparassocierad hepatit hos dessa hundraser. Bristen på studier kan tala för att problemet inte är lika utbrett hos dessa hundraser, eller att dessa raser inte är lika vanligt förekommande som exempelvis labrador. En annan förklaring kan vara att etiologin och genetiken är komplex och att fokus läggs på enklare diagnostik och korrekt behandling istället för att utreda de bakomliggande patofysiologiska mekanismerna för sjukdomstillståndet.

Prevalensen av kopparassocierad kronisk hepatit är hos dobermann och labrador störst bland tikar (Mandigers *et al.*, 2004; Hoffmann *et al.*, 2006; Smedley *et al.*, 2009). Denna aspekt är intressant då genen som kodar för koppartransportproteinet ATP7A finns beläget på X-kromosomen. I studien avseende mutation på ATP7A-genen såg Fieten *et al.* (2016) dock ingen skillnad i kopparackumulation mellan de olika könen. Jag hoppas att orsaken till den ökade prevalensen hos tikar tydliggörs i framtida forskning.

Många av de presenterade studier som behandlats i denna litteraturstudie handlar om ärftliga defekter som begränsar kopparutsöndringen från levern. Ett stort intag av koppar kan givetvis också påverka kopparackumulationen. Något som bör beläggas är den ökade kopparackumulationen som Strickland *et al.* (2018) sett över tid i levern hos predisponerade hundraser, men även hos andra hundraser utan koppling till sjukdomen. Med tanke på studiens omfattning, både till antalet hundar och representerade raser i studien, tycker jag att resultaten talar för att hundar får i sig mer koppar via dieten nu än tidigare. Johnston *et al.* (2013) har samma teori där en genomsnittlig ökning av kopparackumulationen i levern setts hos labrador över tid.

Det finns flertalet faktorer som påverkar undersökta studieresultats bärkraft. I en del studier används enbart en histologisk semikvantitativ metod för att uppskatta kopparackumulation i levern (van den Ingh *et al.*, 1988; Spee *et al.*, 2006; Poldervaart *et al.*, 2009). Denna mätmetod är inte lika precis som kvantitativa mätningar av kopparackumulationen i levern med exempelvis spektrometer. Thornburg *et al.* (1986), Hoffmann *et al.* (2006) och Johnston *et al.* (2013) har jämfört resultaten mellan semikvantitativ gradering med kvantitativ mätmetod och det går inte att bortse från ett visst mått av otydlighet och subjektivitet som finns i den semikvantitativa mätmetoden. Resultatet av detta åskådliggörs tydligt i studien av Hoffmann *et al.* (2008), där den uppskattade arvbarheten hos labrador kraftigt varierade, beroende på om resultatet från en kvantitativ eller semikvantitativ mätmetod använts som underlag i de genetiska beräkningarna. Tyvärr saknar många studier statistiska analyser och vaga ord som "association" och "relaterad" förekommer istället för att beräkna statistisk korrelation (Haywood *et al.*, 1988; van den Ingh *et al.*, 1988; Webb *et al.*, 2002; Smedley *et al.*, 2009). En förklaring till detta tror jag kan bero på att för få djur förekommer i studien för att genomföra sådana beräkningar. Fokus ligger på att analysera de sjuka djuren istället för att göra ett

slumpmässigt urval av hundar från en viss ras. Sådana studier förmodar jag har som syfte att synliggöra indikationer på möjliga etiologier eller samband, och lämnar vidare statistiska beräkningar till eventuell framtida forskning.

Avslutningsvis kan jag konstatera att bedlingtonterrier och labrador retriever är de hundraser där bakomliggande patofysiologiska mekanismer för kopparassocierad kronisk hepatit är mest studerade och till störst del klarlagda. Hos de övriga predisponerade hundraserna som tagits med i denna studie krävs ytterligare forskning för att kunna förklara de bakomliggande patofysiologiska mekanismerna för kopparassocierad kronisk hepatit. Förhoppningsvis kan framtida studier även förklara orsaken till ökningen av uppmätta medelkopparkoncentrationer i levern som setts över tid hos både predisponerade och icke-predisponerade raser. Enligt min mening är det viktigt att klargöra de bakomliggande patofysiologiska mekanismerna för kopparassocierad kronisk hepatit för att kunna förebygga och begränsa sjukdomen.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Andersson, M. & Sevelius, E. (1991). Breed, sex and age distribution in dogs with chronic liver disease: a demographic study. *Journal of Small Animal Practice*, 32(1), ss 1–5.
- Azumi, N. (1982). Copper and liver injury--experimental studies on the dogs with biliary obstruction and copper loading. [*Hokkaido Igaku Zasshi*] *The Hokkaido Journal of Medical Science*, 57(3), ss 331–349.
- Brown, D. L., Vann Wettter, A. J. & Cullen, J. M. (2017). Hepatobiliary System and Exocrine Pancreas I. In: Zachary, J. F. (Ed) *Pathologic basis of veterinary disease*. 6. uppl. St. Louis, Missouri: Elsevier, ss 412–470.
- Coronado, V. A., Damaraju, D., Kohijoki, R. & Cox, D. W. (2003). New haplotypes in the Bedlington terrier indicate complexity in copper toxicosis. *Mammalian Genome*, 14(7), ss 483–491.
- Corsato Alvarenga, I., Aldrich, C. & Jewell, D. (2018). Influence of Liver Condition and Copper on Selective Parameters of Post-Mortem Dog Tissue Samples. *Animals*, 8(12), 237.
- Cullen, J. M. & Stalker, M. J. (2016). Liver and Biliary System I. In: Maxie, G. M. (Ed) *Pathology of domestic animals*. Vol. 2. 6. uppl. Edinburgh; New York: Elsevier Saunders, s 258–352.
- Dirksen, K., Burgener, I. A., Rothuizen, J., van den Ingh, T. S. G. A., Penning, L. C., Spee, B. & Fieten, H. (2017a). Sensitivity and Specificity of Plasma ALT, ALP, and Bile Acids for Hepatitis in Labrador Retrievers. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31(4), ss 1017–1027.
- Dirksen, K. & Fieten, H. (2017). Canine Copper-Associated Hepatitis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 47(3), ss 631–644.
- Dirksen, K., Spee, B., Penning, L. C., van den Ingh, T. S. G. A. M., Burgener, I. A., Watson, A. L., Groot Koerkamp, M., Rothuizen, J., van Steenbeek, F. G. & Fieten, H. (2017b). Gene expression patterns in the progression of canine copper-associated chronic hepatitis. (Al-Dissi, A. N., Ed) *PLOS ONE*, 12(5), e0176826.
- Eulenberg, V. M. & Lidbury, J. A. (2018). Hepatic Fibrosis in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(1), ss 26–41.
- Fieten, H., Biourge, V. C., Watson, A. L., Leegwater, P. A. J., van den Ingh, T. S. G. A. M. & Rothuizen, J. (2014). Nutritional management of inherited copper-associated hepatitis in the Labrador retriever. *The Veterinary Journal*, 199(3), ss 429–433.
- Fieten, H., Gill, Y., Martin, A. J., Concilli, M., Dirksen, K., van Steenbeek, F. G., Spee, B., van den Ingh, T. S. G. A. M., Martens, E. C. C. P., Festa, P., Chesi, G., van de Sluis, B., Houwen, R. H. J. H., Watson, A. L., Aulchenko, Y. S., Hodgkinson, V. L., Zhu, S., Petris, M. J., Polishchuk, R. S., Leegwater, P. A. J. & Rothuizen, J. (2016). The Menkes and Wilson disease genes counteract in copper toxicosis in Labrador retrievers: a new canine model for copper-metabolism disorders. *Disease Models & Mechanisms*, 9(1), ss 25–38.
- Fieten, H., Leegwater, P. A. J., Watson, A. L. & Rothuizen, J. (2012). Canine models of copper toxicosis for understanding mammalian copper metabolism. *Mammalian Genome*, 23(1–2), ss 62–75.
- Hardy, R. M., Stevens, J. B. & Clarence, S. M. (1975). Chronic progressive hepatitis in Bedlington terriers associated with elevated liver copper concentration. *Minnesota Veterinarian*, 1975(2), ss 13–24.
- Haywood, S., Bournsnel, M., Loughran, M. J., Trafford, J., Isherwood, D., Liu, X., Olohan, L. & Carter, S. D. (2016). Copper toxicosis in non- COMMD1 Bedlington terriers is associated with metal transport gene ABCA12. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 35, ss 83–89.
- Haywood, S., Rutgers, H. & Christian, M. (1988). Hepatitis and Copper Accumulation in Skye Terriers. *Veterinary Pathology*, 25(6), ss 408–414.
- Hoffmann, G. (2009). Copper-Associated Liver Diseases. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 39(3), ss 489–511.

- Hoffmann, G., Heuven, H. C. M., Leegwater, P. A. J., Jones, P. G., van den Ingh, T. S. G. A. M., Bode, P. & Rothuizen, J. (2008). Heritabilities of copper-accumulating traits in Labrador retrievers. *Animal Genetics*, 39(4), ss 454–454.
- Hoffmann, G., van den Ingh, T. S. G. a. M., Bode, P. & Rothuizen, J. (2006). Copper-associated chronic hepatitis in Labrador Retrievers. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(4), ss 856–861.
- Hyun, C., Lavulo, L. T. & Filippich, L. J. (2004). Evaluation of haplotypes associated with copper toxicosis in Bedlington Terriers in Australia. *American Journal of Veterinary Research*, 65(11), ss 1573–1579.
- van den Ingh, T. S. G. A. M., Rothuizen, J. & van den Brom, W. E. (1986). Extrahepatic cholestasis in the dog and the differentiation of extrahepatic and intrahepatic cholestasis. *Veterinary Quarterly*, 8(2), ss 150–157.
- van den Ingh, T. S. G. A. M., Rothuizen, J. & Cupery, R. (1988). Chronic active hepatitis with cirrhosis in the Doberman Pinscher. *Veterinary Quarterly*, 10(2), ss 84–89.
- van den Ingh, T. S. G. A. M., Van Winkle, T., Cullen, J. M., Charles, J. A. & Desmet, V. J. (2006). Hepatocellular death, hepatitis and cirrhosis I. In: Rothuizen, J., Bunch, S. E., Charles, J. A., Cullen, J. M., Desmet, V. J., Szatmári, V., Twedt, D. C., van den Ingh, T. S. G. A. M., Van Winkle, T., & Washabau, R. J. (red) *WSAVA Standards for Clinical and Histological Diagnosis of Canine and Feline Liver Diseases*. Philadelphia: Elsevier, ss 85–101.
- Johnson, G., Sternlieb, I., Twedt, D., Grushoff, P. & Scheinberg, I. (1980). Inheritance of Copper Toxicosis in Bedlington Terriers. *American Journal of Veterinary Research*, 41(11), ss 1865–1866.
- Johnston, A. N., Center, S. A., McDonough, S. P., Wakshlag, J. J. & Warner, K. L. (2013). Hepatic copper concentrations in Labrador Retrievers with and without chronic hepatitis: 72 cases (1980–2010). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 242(3), ss 372–380.
- Klomp, A. E., van de Sluis, B., Klomp, L. W. & Wijmenga, C. (2003). The ubiquitously expressed MURR1 protein is absent in canine copper toxicosis. *Journal of Hepatology*, 39(5), ss 703–709.
- Mandigers, P. J. J., van den Ingh, T. S. G. a. M., Bode, P., Teske, E. & Rothuizen, J. (2004). Association between liver copper concentration and subclinical hepatitis in Doberman Pinschers. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18(5), ss 647–650.
- Moore, A. R., Medrano, E., Coffey, E. & Powers, B. (2019). Clinicopathological Correlation and Prevalence of Increased Copper in Canine Hepatic Cytology. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 55(1), ss 8–13.
- Poldervaart, J. H., Favier, R. P., Penning, L. C., van den Ingh, T. S. G. A. M. & Rothuizen, J. (2009). Primary Hepatitis in Dogs: A Retrospective Review (2002-2006). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(1), ss 72–80.
- Sjaastad, Ø. V., Hove, K. & Sand, O. (2016). *Physiology of domestic animals*. 3. uppl. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- van de Sluis, B. (2002). Identification of a new copper metabolism gene by positional cloning in a purebred dog population. *Human Molecular Genetics*, 11(2), ss 165–173.
- Smedley, R., Mullaney, T. & Rumble, W. (2009). Copper-Associated Hepatitis in Labrador Retrievers. *Veterinary Pathology*, 46(3), ss 484–490.
- Spee, B., Arends, B., van den Ingh, T. S. G. A. M., Penning, L. C. & Rothuizen, J. (2006). Copper metabolism and oxidative stress in chronic inflammatory and cholestatic liver diseases in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(5), ss 1085–1092.
- Spee, B., Mandigers, P. J., Arends, B., Bode, P. & van, T. S. (2005). Differential expression of copper-associated and oxidative stress related proteins in a new variant of copper toxicosis in Doberman pinschers. *Comparative Hepatology*, 4:3.

- Strickland, J. M., Buchweitz, J. P., Smedley, R. C., Olstad, K. J., Schultz, R. S., Oliver, N. B. & Langlois, D. K. (2018). Hepatic copper concentrations in 546 dogs (1982-2015). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(6), ss 1943–1950.
- Su, L.-C., Owen, C. A., Zollman, P. E. & Hardy, R. M. (1982). A defect of biliary excretion of copper in copper-laden Bedlington terriers. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 243(3), ss G231–G236.
- Thornburg, L. P., Rottinghaus, G., McGowan, M., Kupka, K., Crawford, S. & Forbes, S. (1990). Hepatic Copper Concentrations in Purebred and Mixed-breed Dogs. *Veterinary Pathology*, 27(2), ss 81–88.
- Thornburg, L. P., Shaw, D., Dolan, M., Raisbeck, M., Crawford, S., Dennis, G. L. & Olwin, D. B. (1986). Hereditary Copper Toxicosis in West Highland White Terriers. *Veterinary Pathology*, 23(2), ss 148–154.
- Van Winkle, T., Cullen, J. M., van den Ingh, T. S. G. A. M., Charles, J. A. & Desmet, V. J. (2006). Hepatic abscesses and granulomas, hepatic metabolic storage disorders and miscellaneous conditions I. In: Rothuizen, J., Bunch, S. E., Charles, J. A., Cullen, J. M., Desmet, V. J., Szatmári, V., Twedt, D. C., van den Ingh, T. S. G. A. M., Van Winkle, T., & Washabau, R. J. (red) *WSAVA Standards for Clinical and Histological Diagnosis of Canine and Feline Liver Diseases*. Philadelphia: Elsevier, ss 103–116.
- Watson, P. J., Roulois, A. J. A., Scase, T. J., Irvine, R. & Herrtage, M. E. (2010). Prevalence of hepatic lesions at post-mortem examination in dogs and association with pancreatitis. *Journal of Small Animal Practice*, 51(11), ss 566–572.
- Watson, P. J. (2014). Hepatobiliary and exocrine pancreas disorders I. In: Nelson, R. W. & Couto, C. G. (red) *Small animal internal medicine*. 5. uppl. St. Louis: Mosby, ss 501–628.
- Webb, C. B., Twedt, D. C. & Meyer, D. J. (2002). Copper-Associated Liver Disease in Dalmatians: A Review of 10 Dogs (1998-2001). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16(6), ss 665–668.