

Université de Montréal

Concentration sérique de la lipase DGGR chez le chat lors d'insuffisance rénale

par Anne-Sophie Bua

Département de sciences cliniques
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire
en vue de l'obtention du grade de *Maîtrise ès sciences* (M. Sc.)
en sciences vétérinaires option sciences cliniques

Août, 2018

© Anne-Sophie Bua, 2018

RÉSUMÉ

La lipase de l'acide 1,2-o-dilauryl-rac-glycero-3-glutarique ester (6'-méthylrésorufine) (DGGR) semble être utile pour le diagnostic ante-mortem de pancréatite et s'avère également une méthode rentable par rapport au dosage de la lipase féline spécifique du pancréas (Spec fPL). Toutefois, l'influence des comorbidités, notamment celle de l'insuffisance rénale sur la lipase DGGR, est encore méconnue chez le chat. Le but de notre étude est d'établir si la lipase DGGR est augmentée chez des chats présentant une insuffisance rénale par une étude clinique prospective et contrôlée.

Trente et un chats malades ayant un test semi-quantitatif normal pour l'estimation de l'immunoréactivité pancréatique féline (SNAP fPL) et avec insuffisance rénale (groupe RI +) ou sans insuffisance rénale (groupe RI-) et 18 chats sains sans insuffisance rénale (groupe sain) ont été recrutés prospectivement. Des échantillons de sérum ont été prélevés chez ces chats et analysés pour le dosage de la lipase DGGR et de la créatinine sérique.

Nous avons trouvé que le groupe RI+ avait des concentrations sériques de lipase DGGR significativement plus élevées par rapport au groupe sain ($P < 0,05$). La lipase DGGR était également positivement associée à la créatinine sérique ($P < 0,05$), et la créatinine expliquait 19,6% de la variation de la lipase.

En conclusion, nos données montrent que les concentrations sériques de lipase DCGR étaient significativement plus élevées que celles des chats sains, avec 37% (6/16) des chats ayant des valeurs plus élevées que les valeurs de référence. Ainsi, même si cette différence était légère, la valeur de la lipase DGGR devrait être interprétée avec précaution en cas d'insuffisance rénale.

Mots-clés : lipase DGGR, SNAP fPL, insuffisance rénale, pancréatite

ABSTRACT

1,2-o-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6'-methylresorufin) ester (DGGR) lipase appears to be a useful test for the antemortem diagnosis of pancreatitis and a cost-effective method compared to the feline pancreas-specific lipase (Spec fPL) test but little is known about the influence of comorbidities, in particular renal insufficiency on DGGR lipase in the cat. The aim of this clinical prospective and controlled study was to evaluate the influence of renal function on serum DGGR lipase in the cat.

Thirty-one sick cats with a normal semi-quantitative test for the estimation of feline pancreatic immunoreactivity (SNAP fPL) were enrolled. This group was then subdivided into cats with renal insufficiency (RI+ group) and those without renal insufficiency (RI- group). A further 18 healthy cats without renal insufficiency were recruited as the control group. Serum samples were collected from cats and were analyzed for DGGR lipase activity and creatinine.

Analysis of data revealed that the RI+ group had significantly higher DGGR lipase concentrations as compared to the control group ($P < 0.05$). DGGR lipase was also positively associated with serum creatinine levels ($P < 0.05$), and this parameter accounted for 19.6%.

In conclusion, our study confirmed that the presence of renal insufficiency had a significant effect on serum DGGR lipase levels in the cat. Cats within the RI+ group had significantly higher serum levels of DGGR lipase than did the healthy controls. Furthermore, 37% of the cats in the RI+ group had values higher than the reference range for DGGR lipase. Mild increases in serum DGGR lipase should be interpreted with caution in cats with renal insufficiency.

Keywords : DGGR lipase, SNAP fPL, renal insufficiency. pancreatitis

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	ii
ABSTRACT	iv
TABLE DES MATIÈRES	v
LISTE DES TABLEAUX	vii
LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS.....	ix
REMERCIEMENTS	x
INTRODUCTION	1
PARTIE I : REVUE DE LITTÉRATURE	4
1. La pancréatite, un défi diagnostique chez le chat	5
a. Définition d'une pancréatite.....	5
b. L'analyse histologique = un gold standard imparfait	6
2. Comment établir un diagnostic de pancréatite en pratique ?	8
a. Diagnostic clinique présomptif	8
b. Diagnostic biochimique.....	9
c. Diagnostic échographique.....	13
d. Diagnostic tomодensitométrique.....	16
3. La lipase DGGR : un nouvel outil diagnostique.....	17
a. Caractéristiques de la lipase DGGR.....	17
b. Concordance entre la lipase DGGR et la spec fPL.....	18
4. Ouverture diagnostique et perspective en médecine vétérinaire.....	21
a. Intérêts et limites de la lipase DGGR	21
b. L'influence de la corticothérapie	22
c. Influence de l'azotémie sur la lipase DGGR.....	25
d. Perspective en médecine vétérinaire	28

PARTIE II : ARTICLE SCIENTIFIQUE	30
Abstract	32
Introduction	34
Materials and Methods	36
Results	40
Discussion	43
Conclusion	48
Footnotes.....	49
Figures	50
Tables	50
References	52
DISCUSSION	54
CONCLUSION.....	62
BIBLIOGRAPHIE	64
Annexe 1 : Formulaire d'approbation du comité d'éthique de l'utilisation des animaux (CÉUA).....	i
Annexe 2 : Formulaire de consentement éclairé.	ii
Annexe 3 : Autorisation de déposer votre mémoire de maîtrise sous la forme d'article.....	iii

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau 1</u> : Score histologique des pancréatites évoluant sur un mode aigu ou chronique.....	6
<u>Tableau 2</u> : Signes cliniques et anomalies à l'examen physique lors de pancréatite chez le chat.	8
<u>Tableau 3</u> : Sensibilité et spécificité de la Spec fPL dans le diagnostic des pancréatites selon différents standards diagnostiques.....	11
<u>Tableau 4</u> : Sensibilité et spécificité de l'échographie dans le diagnostic des pancréatites selon différents standards diagnostiques.....	15
<u>Tableau 5</u> : Correspondance entre la lipase DGGR et la Spec fPL chez le chat.....	19
<u>Tableau 6</u> : Sensibilité et spécificité (pour un intervalle de confiance à 95%) pour la Spec fPL et la lipase DGGR établies à partir d'un diagnostic histologique.....	20
<u>Tableau 7</u> : comparaison des sensibilités et des spécificités entre lipase DGGR et Spec fPL dans le diagnostic de pancréatite chez le chat.....	21
<u>Tableau 8</u> : Intérêts et limites de la lipase DGGR comparativement à ceux de la Spec fPL....	22

LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> : Trousse de SNAP fPL.	13
---	----

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

cPLI : canine pancreatic lipase immunoreactivity

fPLI : feline pancreatic lipase immunoreactivity

Lipase 1,2-diglycérade : lipase 1,2-DiG

Lipase DGGR : 1,2-O-Dilauryl-Rac-Glycero-3-Glutaric Acid-(6'-Methylresorufin) ester

SDMA : symmetric dimethylarginine

Spec fPL : feline pancreas-specific lipase

SNAP fPL : rapid point-of-care semiquantitative assay for feline pancreatic lipase

REMERCIEMENTS

À ma directrice de recherche et ma directrice de résidence, Dre Marilyn Dunn et ma co-directrice de recherche Dre Carolyn Grimes. Je vous suis reconnaissante d'avoir accepté d'encadrer ce projet. Merci aussi pour votre écoute, vos conseils et votre soutien tout au long de ces deux dernières années. J'espère un jour avoir à nouveau la chance de travailler avec vous.

INTRODUCTION

Le diagnostic de pancréatite chez les chats peut être difficile. En raison de sa bonne sensibilité et spécificité, la concentration sérique de la lipase spécifique du pancréas spécifique (Spec fPL pour le chat) est aujourd'hui considérée comme le test sérique de choix pour l'évaluation des pancréatites chez le chat. Dans une vaste étude clinique incluant 182 chats, la sensibilité de la concentration sérique de la Spec fPL dans le diagnostic de la pancréatite était de 79% et la spécificité était de 82% (Forman et al. 2009). Bien que les études de validation pour la SNAP fPL (test semi-quantitatif pour l'estimation de l'immunoréactivité pancréatique féline) n'aient pas encore été publiées, le fabricant indique une concordance de 92% entre les tests SNAP fPL et la Spec fPL lorsque les valeurs sont dans l'intervalle de référence.

Une étude récente a révélé une bonne concordance entre les résultats de la Spec fPL et l'activité catalytique de la lipase DGGR (1,2-o-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6'-methylresorufin)) chez le chat (Oppliger et al. 2013). Le court délai d'obtention des résultats et le faible coût de l'essai font de la lipase DGGR un outil diagnostique très avantageux pour les cliniciens et les clients.

Toutefois, l'influence d'affections concomitantes ou l'administration de certains médicaments sur l'activité de la lipase-DGGR reste encore inconnue à ce jour. En particulier, l'influence de l'azotémie lors d'insuffisance rénale n'a pas été évaluée. Ceci est d'autant plus intéressant que les signes cliniques de pancréatite et d'insuffisance rénale peuvent se chevaucher. Une étude récente suggère que les concentrations sériques de la Spec fPL ne sont pas affectées lors d'insuffisance rénale chez le chat et que ce test peut donc être utilisé avec confiance pour le diagnostic de pancréatite chez les chats atteints d'insuffisance rénale (Xenoulis et al. 2009). En revanche, des études antérieures ont démontré que la lipase "standard" ou lipase 1,2-diglycérade (utilisée anciennement comme outil diagnostique et aujourd'hui abandonnée compte tenu de sa

faible sensibilité et spécificité) est augmentée lors d'insuffisance rénale de 2.5 à 4 fois par rapport aux valeurs basales (Wagner & Macy 1982; Polzin et al. 1983).

PARTIE I : REVUE DE LITTÉRATURE

1. La pancréatite, un défi diagnostique chez le chat

a. Définition d'une pancréatite

Une pancréatite correspond à une inflammation du pancréas exocrine. On distingue trois formes :

- Forme chronique : lésions histologiques irréversibles et caractérisées par de la fibrose, une dégénérescence acineuse kystique et une infiltration lympho-plasmocytaire. Chez le chat, les pancréatites évoluent le plus souvent sur un mode chronique. Cette forme représente 75% des formes de pancréatite chez le chat.
- Forme aiguë : lésions histologiques caractérisées par une infiltration neutrophilique, de l'œdème et de la nécrose. Cette forme représente 10% des formes de pancréatite chez le chat.
- Forme mixte : lésions histologiques mixtes dont les caractéristiques histologiques se chevauchent entre la forme chronique et la forme aiguë. Cette forme représente 15% des formes de pancréatite chez le chat.

Afin de caractériser l'intensité des lésions histologiques et d'avoir une définition commune, un score histologique a été établi en 1993 par Hill et al. Celui-ci est résumé dans le Tableau

1.

Tableau 1 : Score histologique des pancréatites évoluant sur un mode aigu ou chronique (adapté de Hill & Van Winkle 1993).

<i>Critères (points)</i>	<i>Inflammation</i>	<i>Œdème interstitiel</i>	<i>Fibrose</i>	<i>Dégénérescence acineuse kystique</i>	<i>SCORE</i>
Aigu	0 : pas ou rare neutrophiles 1 : inflammation neutrophilique affectant 25% du parenchyme pancréatique 2 : inflammation neutrophilique modérée affectant 25 à 50% du parenchyme 3 : inflammation neutrophilique sévère affectant 50% du parenchyme pancréatique	0% : 0 < 25% : 1 25-49% : 2 > 50% : 3	Non applicable	Non applicable	Léger : 1-2 Modéré : 3-4 Sévère : 5-6
Chronique	0 : pas ou rare lymphocytes 1 : inflammation lymphocytaire affectant 25% du parenchyme pancréatique 2 : inflammation lymphocytaire modérée affectant 25 à 50% du parenchyme 3 : inflammation lymphocytaire sévère affectant 50% du parenchyme pancréatique	Non applicable	0 : absence de fibrose 1 : léger épaissement des septa ou zones multifocales de fibrose interstitielle légère (15% du pancréas affecté) 2 : épaissement modéré de la plupart des septa (15–30% du pancréas affecté) 3 : épaissement sévère de tous les septa (30% du pancréas affecté)	Absence : 0 ≤ 3 kystes : 1 4-5 kystes : 2 ≥ 6 kystes : 3	Léger : 1-3 Modéré : 4-6 Sévère : 7-9

b. L'analyse histologique = un gold standard imparfait

Le diagnostic définitif d'une pancréatite repose sur l'analyse histologique du tissu pancréatique. C'est d'ailleurs l'analyse histologique qui est aujourd'hui reconnue gold standard dans le diagnostic des pancréatites et qui a donc été utilisé dans de nombreuses études pour établir l'intérêt diagnostique du dosage sérique de la lipase, de la lipase pancréatique spécifique d'espèce et de l'échographie sur lesquels nous reviendrons par la suite.

Toutefois, la signification clinique de lésions histologiques légères est questionnable. Des lésions de pancréatite légère à sévère post-mortem sont observées chez 67% des chats, incluant 45% chats en santé (De Cock et al. 2007). Par ailleurs, une infiltration lymphocytaire < 10% est considérée normale puisqu'elle est retrouvée chez 85% des chats (Oppliger et al. 2016). Les lésions histologiques de pancréatite sont aussi plus fréquemment retrouvées chez les patients âgés (De Cock et al. 2007). Il est aujourd'hui difficile d'établir une corrélation entre la présence de lésions histologiques et les signes cliniques observés. En outre, les lésions sont souvent focales ou multifocales, ainsi un échantillonnage restreint pourrait conduire à un risque de faux négatifs. Enfin, le diagnostic histologique requière la mise en œuvre de procédures invasives et peu applicables ou considérées trop à risque en pratique. Ainsi, l'analyse histologique du pancréas est associée à plusieurs limitations importantes et, par conséquent, ne peut pas être considérée comme un gold standard parfait.

Il est donc important de retenir que les sensibilités et spécificités de chacun des tests dont nous allons parler repose sur un gold standard imparfait et restent donc sujet à critiques.

2. Comment établir un diagnostic de pancréatite en pratique ?

a. Diagnostic clinique présomptif

La pancréatite occasionne classiquement des signes cliniques souvent frustrés et peu spécifiques (Tableau 2). L'évolution clinique est elle aussi souvent intermittente. Il est impossible de distinguer une pancréatite aiguë d'une pancréatite chronique puisque ces deux formes ont la même expression clinique (Ferreri et al. 2003). Il n'existe pas non plus de corrélation entre la sévérité des signes cliniques et des lésions histologiques (Forman et al. 2004).

Tableau 2 : Signes cliniques et anomalies à l'examen physique lors de pancréatite chez le chat (modifié de Ruaux. 2017).

	<i>Signes cliniques</i>	<i>Anomalies à l'examen physique</i>
Fréquents (> 50%)	Léthargie (77%) Dysorexie (83%)	Déshydratation (65%)
Rares (< 50%)	Perte de poids (16%) Vomissements (43%)	Douleur abdominale (15%) Ictère (29%)

Considérant le tableau clinique peu spécifique de pancréatite peu, une utilisation judicieuse et une bonne interprétation des tests diagnostiques biochimiques et/ou échographiques est primordial pour un diagnostic correct de pancréatite.

b. Diagnostic biochimique

i. Activité sérique de l'amylase et de la lipase

En médecine humaine, la lipase 1,2-Diglycérique (1,2 DiG) est actuellement la meilleure enzyme à doser pour faire le diagnostic d'une pancréatite aigüe (Toskes et al. 2001). Il est aujourd'hui admis que le dosage sérique de l'amylase et de la lipase 1,2-DiG chez le chat est sans intérêt. En effet, ces tests possèdent une très mauvaise sensibilité et spécificité. Ces deux enzymes ont des origines variées puisqu'elles sont produites également par l'estomac, le duodénum et le foie. Leur activité est ainsi augmentée lors d'affections extra-pancréatiques, notamment lors d'insuffisance rénale, de dommages hépatocellulaires, de cholestase, tumeur ou d'obstruction intestinale... (Xenoulis et al. 2013). En plus des causes énumérées précédemment, d'autres causes ont été rapportées en médecine humaine à l'origine d'une augmentation de l'amylase tel qu'une lésion des glandes salivaires, une tumeur (cancer pulmonaire, œsophagien, mammaire ou ovarien), une macroamylasémie, une brûlure, une acidose diabétique, une grossesse, une transplantation rénale, un traumatisme cérébral, une origine médicamenteuse (morphine), une péritonite, un anévrysme aortique... (Toskes et al. 2001).

Chez le chien plus particulièrement, la lipase 1,2-DiG est augmentée lors d'insuffisance rénale de 2.5 à 4 fois par rapport aux valeurs basales (Wagner & Macy 1982; Polzin et al. 1983). En outre, l'administration de certains traitements peut moduler son activité, tel que les glucocorticoïdes qui l'augmentent.

Ainsi, ces tests traditionnels ont été abandonnés au profit de tests sériques générant un moindre taux de résultats faussement positifs, tel que la lipase pancréatique féline (Spec fPL).

ii. Concentration sérique de la lipase pancréatique féline (Spec)

Toutes les lipases, incluant la lipase spécifique au pancréas, partagent la même fonction, qui est l'hydrolyse des triglycérides, mais sont codées par des gènes différents et ont donc une séquence en acides aminés différente. C'est ce qui permet de les distinguer sur le plan immunologique. C'est pourquoi des essais immunologiques capables de distinguer la structure protéique de la lipase pancréatique sans interférence avec les autres ont été mis au point.

Le test Spec fPL (Specific Feline Pancreatic Lipase) utilise des anticorps monoclonaux anti-lipase spécifique du pancréas qui sont ensuite révélés par une méthode ELISA. Ils permettent des dosages quantitatifs de la lipase pancréatique et uniquement de celle-ci. Ce test offre de bonnes sensibilité (60-80%) et spécificité (70-90%) qui varient en fonction du type d'étude, des critères diagnostiques utilisés pour le diagnostic de pancréatite et de la sévérité histologique des pancréatites (Tableau 3). L'intervalle de référence du test Spec fPL déterminé pour les chats sains est de 0,7 à 3,5 µg/L. La concentration en fPL est considérée comme élevée si elle est supérieure à 3,5 µg/L. Les résultats $\geq 5,4$ µg/L ont été définis comme compatibles avec une pancréatite. Il est toutefois à noter qu'une étude récente réalisée chez des chats sains, a mis en évidence une variabilité inter-individuelle de 99% (CI 69,2–169,9%) et une variabilité intra-individuelle de 33% (CI 27,1-43,8%) concernant la Spec fPL (Cohn-Urbach et al. 2017). Pour cette raison, les auteurs indiquent que l'utilisation d'un intervalle de référence basé sur une population de chat sains ne permet pas de détecter systématiquement des élévations cliniquement significatives chez un individu donné. Ainsi, l'utilisation d'un intervalle de

référence « individualisé » par sujet plutôt que l'utilisation d'un intervalle défini par une population de chats sains devrait idéalement être envisagé à des fins diagnostiques et dans le suivi de la maladie. Ces pratiques sont toutefois difficiles à mettre en œuvre en pratique car elles nécessiteraient la réalisation de plusieurs prélèvements chez un individu sains afin d'en déterminer son propre intervalle de référence.

Tableau 3 : Sensibilité et spécificité de la Spec fPL dans le diagnostic des pancréatites selon différents standards diagnostiques.

<i>Etude</i>	<i>Standard diagnostique</i>	<i>Sensibilité</i>	<i>Spécificité</i>
Forman <i>et al</i> , 2004 (n=29) fPLI	Evaluation histologique	67% <i>100% lors de pancréatite sévère à modérée 54% lors de pancréatite légère</i>	91%
Forman <i>et al</i> , 2009 (n=182) Spec fPL	Evaluation clinique, biochimique et échographique	79%	82%
Oppliger <i>et al</i> , 2016 (n=60) Spec fPL	Evaluation histologique	61%	69%

Il paraît logique que la sensibilité soit inférieure lors de pancréatite légère « non active » (pancréatite chronique sans inflammation) car des lésions de fibrose ou d'atrophie acineuse ne sont pas supposées engendrer un déversement des enzymes pancréatiques. Ainsi, la sensibilité est d'autant moins bonne lors de pancréatite légère, générant ainsi un plus haut taux de faux négatifs.

Le test Spec fPL a aussi une valeur pronostique. Ainsi, si le dosage de la fPL est >20 ug/L au moment du diagnostic le pronostic apparaît plus réservé (Stockhaus et al. 2013). La cinétique du dosage de la fPL est également un outil utile dans le suivi de la maladie.

Aujourd'hui, la spec fPL est considérée comme le test sérique de choix pour l'évaluation des pancréatites chez le chat, compte-tenu de ses meilleures performances diagnostiques en comparaison à la lipase 1,2-diglycérique.

iii. Test semi-quantitatif : le SNAP fPL

Le SNAP fPL repose sur la même technique que la Spec fPL, incluant ainsi l'utilisation d'anticorps monoclonaux. Il s'agit d'un test semi-quantitatif qui a l'avantage de pouvoir être réalisé au chevet du patient et dont les résultats sont obtenus après une dizaine de minutes. Selon le laboratoire IDEXX, qui commercialise ces SNAP, il existe une concordance étroite (92%) entre le SNAP fPL et la Spec fPL lorsque les valeurs sont dans l'intervalle de référence (< 3.5 ug/L). Ainsi le, SNAP est principalement utilisé lorsqu'une pancréatite semble peu probable et veut être exclue. A l'instar de la Spec fPL, la sensibilité est d'autant moins bonne lors de pancréatite légère, générant ainsi un plus haut taux de faux négatif. Un résultat anormal quant à lui devrait être quantifié par un dosage quantitatif (Spec fPL) afin d'évaluer si le résultat est compatible avec une pancréatite ($\geq 5,4 \mu\text{g/L}$).



Figure 1 : Trousse de SNAP fPL.

Le spot de gauche est le témoin positif. Le spot de droite est l'échantillon à tester.

A : Le spot de droite apparaît plus clair que le spot de gauche. La lipase pancréatique est dans les valeurs usuelles (< 3.5 ug/L). Une pancréatite est peu vraisemblable.

B : Le spot de droite est plus foncé que le spot de gauche. La lipase pancréatique est au-dessus des valeurs usuelles (> 3.5 ug/L). Une pancréatite est probable.

c. Diagnostic échographique

La sensibilité de l'échographie est très variable, comprise entre 11 et 84% selon le type d'étude, le niveau d'expérience des imageurs, les performances de l'échographe et les critères diagnostiques utilisés (Saunders et al. 2002 ; Ferreri et al. 2003 ; Forman et al. 2004 ; Williams et al. 2013 ; Swift et al. 2000). La spécificité est quant à elle bonne, comprise entre 70-75%.

Saunders et al ont étudié rétrospectivement la performance de l'échographie chez 20 chats atteints de pancréatite aiguë nécrosante. Les signes échographiques les plus communs incluaient : effusion péritonéale (n = 9), pancréas hypoéchogène (7) et gras mésentérique hyperéchogène (7). Un diagnostic échographique de pancréatite a pu être établi chez seulement 7 des 20 chats. Dans l'étude de Ferreri et al, un examen échographique était réalisé chez 28 chats souffrant de pancréatite nécrosante aiguë et 24 chats souffrant de pancréatite chronique dont le diagnostic était confirmé après autopsie. Dans 50% des cas l'examen échographique s'est avéré normal. L'échogénicité du pancréas semblait être la variable la plus sensible pour détecter une pancréatite.

Au fur et à mesure des années, la qualité des images échographiques et l'expertise des imageurs a progressé de façon significative, améliorant significativement la sensibilité de l'échographie dans le diagnostic des pancréatites aiguës et/ou chronique (Tableau 4). En effet, dans l'étude de Williams, la sensibilité et la spécificité de l'échographie étaient de 84% (intervalle de confiance de 95% = 60-97%) et 75% (intervalle de confiance de 95% = 48-93%), respectivement, chez les chats présentant une fPLI sérique élevée indiquant ainsi une pancréatite. Le changement échographique le plus sensible était la présence de gras péri-pancréatiques hyperéchogènes à 68% (intervalle de confiance de 95% = 44-87%). La spécificité des anomalies échographiques était très élevée avec notamment l'épaisseur du bras gauche du pancréas augmenté, les marges pancréatiques sévèrement irrégulières et les graisses péripancréatiques hyperéchogènes ayant une spécificité supérieure à 90% pour une concentration élevée de fPLI sérique.

Tableau 4 : Sensibilité et spécificité de l'échographie dans le diagnostic des pancréatites selon différents standards diagnostiques.

<i>Etude</i>	<i>Standard diagnostique</i>	<i>Sensibilité</i>	<i>Spécificité</i>
Forman <i>et al</i> , 2004 (n = 29)	Histologie	67% 80% lors de pancréatite modérée à sévère 62% lors de pancréatite légère	73%
Williams <i>et al</i> , 2013 (n = 35)	fPLI	84%	75%

Il existe un risque de faux positifs lors de pancréatite légère. Les risques de faux positifs sont notamment attribuables à la détection d'épisodes « actifs » antérieurs (pancréatite chronique) ou des modifications échographiques liées à l'âge tel que la dilatation du canal pancréatique (Hecht et al, 2006). Il est à noter que la taille et l'échogénicité du parenchyme pancréatique n'évolue pas avec l'âge (Larson et al, 2005). A l'inverse, une image échographique normale du pancréas ne permet pas d'exclure une pancréatite.

Enfin, la concordance entre les différents essais dosant la lipase (lipase DGGR et fPLI) et l'échographie abdominale était faible dans une étude menée chez des chats chez lesquels une pancréatite était suspectée (Oppliger et al. 2014). Parmi les soixante-quinze chats sur 161 qui présentait un diagnostic échographique de pancréatite, seulement 46 et 49, présentait une augmentation de la fPLI et de la lipase DGGR, respectivement. Dans cette étude, le meilleur accord (κ , coefficient cohen = 0.332) a été trouvé pour une valeur de Spec fPL fixée à $> 16 \mu\text{g/L}$.

Cette étude ne permettait pas de conclure quant au meilleur des deux tests puisque l'analyse histologique n'était pas réalisée afin de confirmer ou non le statut réel du patient.

Dans les dernières années, l'échographie de contraste ultrasonore à vue le jour. Cette technique utilise un produit spécifique injecté par voie intraveineuse, qui reste dans les vaisseaux, et permet d'étudier la vascularisation et la microvascularisation des tissus. Sous l'effet du faisceau ultrasonore, la résonance des microbulles générées par le produit de contraste injecté est à l'origine de la formation des échos enregistrés, permettant une étude d'une durée de 3 à 4 minutes ; au-delà de ce temps, les bulles sont détruites. Cette technique améliore de façon très significative les performances de l'échographie simple, notamment dans la détection et la caractérisation des tumeurs hépatiques en médecine humaine. L'échographie de contraste a été étudiée récemment chez les chiens présentant des pancréatites (Lim et al. 2014 ; Lim et al. 2015). Cet examen permet de détecter les changements de perfusion lors de pancréatites qui sont caractérisés par un rehaussement hyperéchogène et retardé du pancréas. Des études sont encore nécessaires afin de préciser la sensibilité et spécificité de cet outil diagnostique et son intérêt réel dans le futur.

d. Diagnostic tomodensitométrie

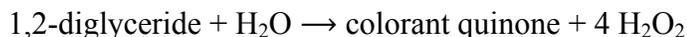
L'examen tomodensitométrie est un outil très précis pour le diagnostic de pancréatite chez l'homme. Lorsque cet examen est réalisé chez des chats, dont le diagnostic de pancréatite est confirmé par histologie, il ne permet pas de distinguer une population saine d'une population malade (Forman et al. 2004). Dans une étude récente chez le chien, l'examen

tomodensitométrie permet d'identifier davantage de chiens présentant une pancréatite comparativement à l'échographie (Adrian et al. 2015). Le pancréas est alors caractérisé par une augmentation de son volume, des contours mal définis et un rehaussement visible après injection du produit de contraste. Des thrombus étaient également trouvés chez 3/10 chiens. Les trois chiens dont le pancréas présentait un rehaussement hétérogène avaient un pronostic plus sombre.

3. La lipase DGGR : un nouvel outil diagnostique

a. Caractéristiques de la lipase DGGR

La lipase est une glycoprotéine enzymatique principalement sécrétée par le pancréas. Son rôle physiologique est d'hydrolyser les liaisons esters des triglycérides. Le principe du dosage de l'activité enzymatique de la lipase repose sur une méthode colorimétrique fondée sur la mesure d'absorbance d'un produit issu de la réaction entre la lipase et son substrat :



Ce qui différencie la lipase 1,2-DiG de la lipase DGGR, c'est le substrat utilisé dans la réaction. Classiquement, le substrat utilisé est le 1,2-diglycéride (1,2 DiG) pour mesurer l'activité de la lipase, contrairement à l'ester de l'1,2-O-dilauryl-rac-glycéro-3-acide-glutarique-(6'-méthylrésorufin) (DGGR) qui est lui utilisé pour mesurer l'activité de la lipase DGGR.

Le DGGR est clivée par la lipase, résultant en un ester d'acide dicarbonique instable, qui est spontanément hydrolysé pour donner de l'acide glutarique et du méthylrésorufin, un chromophore pourpre bleuté avec un pic d'absorption à 560 nm. Le taux de formation du

methylrésorufin (de la couleur à 560nm) est directement proportionnelle à l'activité de la lipase dans l'échantillon.

En 2005, ce test a d'abord été validé chez le chien et a montré une bonne sensibilité et une spécificité modérée (Graca et al. 2005). Ce n'est qu'en 2013 que ce test a été validé chez le chat (Oppliger et al. 2013). Dans cette étude, la mesure de l'activité colorimétrique de la lipase DGGR était réalisée avec un analyseur de type Precinorm PUC, Precipath PUC, Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland. Le dosage s'est avéré très précis et fiable. Des valeurs de référence ont été établies à partir de 80 chats en santé avec une valeur de lipase DGGR entre 8-26UI/L (Oppliger et al. 2013).

b. Concordance entre la lipase DGGR et la spec fPL

Une étude récente a évalué l'activité de la lipase DGGR pour le diagnostic de pancréatite chez 251 chats. Lorsque des seuils spécifiques sont utilisés, il existe un accord substantiel entre ce test et le test Spec fPL (Oppliger et al. 2013). Plus précisément, dans cette étude de 250 chats, le meilleur accord (κ , coefficient cohen = 0.755) a été trouvé pour une valeur de DGGR lipase de > 34 UI / L et une Spec fPL >5.3 ug/L (Tableau 5).

Tableau 5 : Correspondance entre la lipase DGGR et la Spec fPL chez le chat (Oppliger et al. 2013).

K = 0.68 pour un seuil de lipase DGGR > 26UI/L et fPL>5.3 ug/L

K = 0.75 pour un seuil de lipase DGGR > 34UI/L et fPL>5.3 ug/L

	Spec fPL			Total
	<3.5 µg/L	3.6–5.3 µg/L	≥5.4 µg/L	
DGGR-lipase				
≤26 U/L	91	21	13	125
>26 U/L	16	11	99	126
Total	107	32	112	251

Ce test d'agrément réalisé entre DGGR et Spec fPL était réalisé sans nécessairement connaître systématiquement l'état réel du patient. Lorsque les données histologiques, obtenues sur 31 patients, étaient analysées, la lipase DGGR ainsi que le Spec fPL ont montré une excellente sensibilité lors de pancréatite aiguë. En revanche, la sensibilité des deux tests lors de pancréatite chronique était très modérée (Tableau 6). Les résultats faussement négatifs chez les chats atteints de pancréatite chronique peuvent indiquer un manque d'activité et de libération enzymatique.

Tableau 6 : Sensibilité et spécificité (pour un intervalle de confiance à 95%) pour la Spec fPL et la lipase DGGR établies à partir d'un diagnostic histologique (Oppliger et al. 2016).

	DGGR	Spec fPL >3.5 µg/L	Spec fPL ≥5.4 µg/L
Sensitivity			
Pancreatitis (n = 23)	48% (27–69%)	65% (43–83%)	57% (35–76%)
Acute pancreatitis (n = 4)	100% (40–100%)	100% (40–100%)	100% (40–100%)
Chronic pancreatitis (n = 19)	37% (17–61%)	58% (34–79%)	47% (25–71%)
Specificity (n = 8)			
	63% (26–90%)	63% (26–90%)	63% (26–90%)

Dans une étude plus récente, dans laquelle un diagnostic de pancréatite était obtenu par analyse histologique (après multiple coupes), la sensibilité et la spécificité de la lipase DGGR et de la Spec étaient comparables (Oppliger et al. 2016). La sensibilité et la spécificité du test Spec fPL (cutoff $\geq 5,4$ lg / L) était de 42,1% et 100%. La sensibilité et la spécificité pour le dosage DGGR (cutoff > 26 UI / L) était de 36,8% et 100%. En revanche, lorsque l'inflammation lymphocytaire, pouvant aller jusqu'à 10% d'une section, était considérée comme normale, la sensibilité et la spécificité du dosage Spec fPL était de 61,1% et de 69,0% et la sensibilité et la spécificité du dosage DGGR était de 66,7% et 78,6% (Tableau 7). Étant donné que l'importance de l'inflammation lymphoplasmocytaire minimale à modérée n'est pas connue chez le chat, il n'est pas possible de conclure que ce calcul de sensibilité et spécificité reflète au mieux une pancréatite clinique. Dans cette étude, le coefficient de corrélation était de κ , coefficient cohen = 0.82 pour un seuil de lipase DGGR > 26 UI/L et fPL > 5.3 ug/L.

Tableau 7 : comparaison des sensibilités et des spécificités entre lipase DGGR et Spec fPL dans le diagnostic de pancréatite chez le chat (modifié de Oppliger et al. 2016).

	<i>Spec fPL (>5.3 ug/L)</i>	<i>Lipase DGGR (>26UI/L)</i>
Sensibilité	61%	66%
Spécificité	69%	78%

4. Ouverture diagnostique et perspective en médecine vétérinaire

a. Intérêts et limites de la lipase DGGR

Le principal avantage de la lipase DGGR est le délai rapide d'obtention des résultats dans notre faculté et le faible coût du test. Par ailleurs, ce test est désormais offert par le laboratoire de pathologie clinique du Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire de la Faculté de Médecine Vétérinaire de Saint-Hyacinthe. Comme mentionné plus haut, ce test est plus fiable que les tests traditionnels qui mesuraient la concentration sérique de la lipase 1,2-DiG. Toutefois, l'influence d'affections concomitantes ou l'administration de certains médicaments reste encore inconnue à ce jour sur l'activité de la lipase DGGR (Tableau 8).

Tableau 8 : Intérêts et limites de la lipase DGGR comparativement à ceux de la Spec fPL.

	<i>Spec fPLI</i>	<i>Lipase DGGR</i>
Intérêts	<ul style="list-style-type: none"> • Disponible (Laboratoire IDEXX) • Pas affecté lors de maladie rénale chronique (Xenoulis <i>et al</i>, 2009) 	<ul style="list-style-type: none"> • Disponible (Laboratoire de pathologie clinique de la FMV notamment) • Délais rapides d'obtention des résultats (le jour même) • Coût (35\$)
Limites	<ul style="list-style-type: none"> • Coût (150\$) • Délais d'obtention des résultats (2 jours en moyenne) • Augmentée lors d'entéropathies inflammatoires chroniques - 69% des chats avec IBD ont une fPLI augmentée (Bailey <i>et al</i>, 2009) • Influence de la corticothérapie méconnue chez le chat 	<ul style="list-style-type: none"> • Facteurs confondants inconnus • Valeurs de références non établies avec l'analyseur du laboratoire de pathologie clinique de la FMV

b. L'influence de la corticothérapie

Actuellement, l'effet de l'administration de corticostéroïdes sur le pancréas est mal compris, et il existe une controverse concernant les pancréatites induites par les corticostéroïdes. Chez l'homme, il n'y a qu'un seul rapport de cas dans lequel il a été possible d'induire une récurrence de pancréatite après réintroduction de la corticothérapie (Levine & McGuire 1988). En

médecine vétérinaire, des cas sporadiques de pancréatite chez les chiens traités par des glucocorticoïdes ont été signalés (Behrend & Kempainen 1997). À l'heure actuelle, l'administration de corticostéroïdes n'est pas considérée comme un facteur de risque de pancréatite, et les corticostéroïdes sont considérés comme cause "possible / discutable" de pancréatite chez l'homme. En médecine vétérinaire, les glucocorticoïdes ne sont plus inclus dans la liste des médicaments susceptibles d'être associés à des pancréatites (Washabau, 2013).

L'administration de dexaméthasone à des chiens en bonne santé à diverses doses, réalisée jusqu'à trois semaines, n'a pas provoqué de pancréatite, dont le diagnostic était réalisé par histologie, bien qu'une augmentation des taux sérique de lipase 1,2 DiG était observée (Parent 1982).

Par ailleurs, il a été démontré que la concentration moyenne sérique de cPLI est demeurée inchangée après administration orale de 2,2 mg/kg de prednisone une fois par jour pendant 4 semaines à six chiens hétérozygotes féminins adultes en bonne santé présentant une néphrite, non azotémique, héréditaire liée à l'X (Steiner et al. 2009). Ces résultats sont en contradiction avec une étude plus récente dans laquelle la Spec cPL était significativement plus grande, après administration de prednisolone (2 à 2.2 mg/kg SID pour un minimum de 4 semaines), chez des chiens présentant diverses maladies à médiation immunitaire. La moitié des chiens présentait des concentrations sériques de cPLI au pic > 400ug/L (seuil pour lequel une pancréatite est probable) sans évidence clinique de pancréatite pendant leur traitement de prednisolone. Il est incertain si ces patients souffraient réellement de pancréatite ou s'il s'agit de l'effet de la prednisolone sur la Spec cPL (Ohta et al. 2017).

Une explication possible des différences observées entre ces deux études est la formulation utilisée : prednisone versus prednisolone. La prednisone est un composé inactif (ou un promédicament) jusqu'à ce qu'il soit métabolisé dans le foie par l'enzyme 11-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1. Il a été rapporté que la biodisponibilité relative de la prednisolone n'était que de 65% lorsque la prednisone a été administrée par rapport à la prednisolone. Ainsi, la biodisponibilité orale de 2 à 2,2 mg / kg de prednisolone une fois par jour pourrait être supérieure à celle de 2,2 mg / kg de prednisone une fois par jour.

Par ailleurs, chez les chiens présentant un hyperadrenocorticisme spontané et sans évidence clinique de pancréatite, la Spec et le SNAP cPL étaient significativement plus souvent augmentée et positif, respectivement, que chez les chiens sans maladie de Cushing. En effet, près de 35% des chiens avec un hyperadrenocorticisme avaient une Spec anormale suggérant un certain degré de pancréatite contre 0% des chiens sans maladie de Cushing. Ainsi, la spécificité de la Spec et du SNAP cPL chez des chiens avec un diagnostic d'hyperadrenocorticisme et sans évidence clinique de pancréatite était de 65 et 45% respectivement. Ainsi, un résultat positif chez ces chiens devrait être interprété avec précaution afin d'éviter un diagnostic erroné de pancréatite (Mawby et al. 2014). Néanmoins, le nombre de chiens présentant une hyperéchogénicité pancréatique à l'échographie était significativement plus élevé chez les chiens atteints d'hyperadrenocorticisme par rapport aux chiens en bonne santé (Granger et al. 2015). Ainsi, il est possible que l'excès de stéroïdes endogènes provoque une pancréatite sous-clinique.

L'impact de la corticothérapie sur la Spec fPL et sur la lipase DGGR n'a pas encore été évalué à ce jour chez le chat.

c. Influence de l'azotémie sur la lipase DGGR

L'influence de l'azotémie, lors d'insuffisance rénale, sur l'activité de la lipase DGGR n'a pas encore été évaluée chez le chat. Ceci est d'autant plus intéressant que les signes cliniques de pancréatite et maladie rénale peuvent se chevaucher. En outre, l'insuffisance rénale aiguë est une cause bien documentée de pancréatite secondairement à un processus ischémique et hypovolémique. De même une pancréatite peut conduire à une insuffisance rénale aiguë par hypovolémie et ischémie et inflammation induite par les cytokines entraînant alors oligurie, thrombose de l'artère rénale et/ou la veine rénale ou encore une nécrose tubulaire aiguë (Braunwald et al. 2001; Mansfield & Beths 2015; Satake et al. 1991). Chez l'homme, l'oligurie (<50 ml/h) ou augmentation de l'urémie et de la créatinine sont par ailleurs reconnus comme des facteurs qui influencent négativement la survie lors de pancréatite aiguë (Braunwald et al, 2001).

La lipase a une taille moléculaire (48kDa) inférieure à celle de l'albumine sérique et, en ce qui concerne la perméabilité glomérulaire, est donc considérée comme étant de faible poids moléculaire. Par conséquent, le taux de filtration de ce biomarqueur est relativement élevé (Fabris et al. 1992). Une réduction de la filtration glomérulaire associée à une dysfonction rénale devrait donc diminuer sa filtration relative et augmenter sa concentration sérique, et ce même en l'absence de pancréatite.

Des études ont démontré que la lipase 1,2-DiG est augmentée lors d'insuffisance rénale chronique, expérimentalement induite ou spontanée, de 2.5 à 4 fois par rapport aux valeurs

normales (Wagner & Macy 1982; Polzin et al. 1983). Toutefois, il n'a pu être établi de corrélation entre l'augmentation de la lipase et entre la diminution de clairance de l'inuline, ni entre l'augmentation de la lipase et entre l'augmentation de la créatinémie, ni entre l'augmentation de la lipase et entre l'augmentation de l'urémie. Ainsi, une diminution de l'excrétion rénale de la lipase ne semble pas être la principale cause reliée à l'augmentation de la concentration sérique de la lipase dans un contexte d'insuffisance rénale (Polzin et al. 1983). En médecine humaine, aucun test sanguin n'est parfaitement fiable pour le diagnostic de pancréatite aiguë chez les patients présentant une insuffisance rénale aiguë. Déterminer si un sujet, ayant une insuffisance rénale et des douleurs abdominales, a une pancréatite reste un problème clinique difficile. Une étude a montré que les taux sériques d'amylase n'étaient élevés chez les patients ayant une dysfonction rénale que si la clairance de la créatinine était inférieure à 50 ml/min. Chez ces individus, le taux sérique d'amylase était toujours inférieur à 500 UI/L (normal < 128 UI/L) en l'absence de signes cliniques de pancréatite aiguë. Dans cette étude, les taux sériques de lipase 1,2-DiG et trypsinogène étaient parallèles à ceux de l'amylase (Collen et al. 1990). L'insuffisance rénale est associée à une élévation des enzymes pancréatiques qui ne dépasse habituellement pas 3 fois la normale (Lévy. 2006). Dans un travail portant sur 47 malades hémodialysés, une hyperamylasémie et une hyperlipasémie était trouvée chez respectivement 68 et 62 % des malades avec une corrélation entre le pourcentage de résultats anormaux et la sévérité de l'insuffisance rénale. Le maximum atteint pour l'amylasémie et la lipasémie était respectivement 6 et 5 fois la limite supérieure de la normale (Thierry et al. 1988). Par ailleurs, il a été montré que les patients sous hémodialyse chronique présentent des taux accrus d'enzymes gastriques tels que le glucagon, la cholécystokinine et le polypeptide inhibiteur gastrique, ce qui peut entraîner une augmentation de la sécrétion de l'enzyme

pancréatique trypsine, entraînant alors un processus inflammatoire du pancréas à l'origine d'une augmentation secondaire de la lipase et l'amylase (Hou et al. 2013).

Néanmoins, plusieurs études récentes réalisées chez des chiens n'ont pas soutenu cette prédiction (Steiner et al. 2010; Hulsebosch et al. 2015). Dans une étude rétrospective plus récente, réalisée sur 17 chiens en santé chez lesquels une insuffisance rénale chronique était expérimentalement induite par néphrectomie, aucune augmentation significative de la lipase 1,2-DiG et de la cPLI n'était observée (Steiner et al. 2010). La concentration sérique de la cPLI était significativement plus élevée chez les chiens présentant une insuffisance rénale chronique comparativement aux chiens en santé mais restait toutefois dans les valeurs de références, excepté pour 2 chiens sur 16 pour lesquelles la cPLI était dans la zone grise mais en-dessous du cut-off de 400 ug/L, suggestif d'une pancréatite. Par ailleurs, la concentration sérique de la cPLI n'était pas corrélée à la concentration sérique de la créatinémie. Il est toutefois à noter que la stabilité de la lipase et de la cPLI n'a pas été spécifiquement démontrée dans cette étude, où les sérums ont été analysés près de 20 ans après leur conservation à -80°C. Dans une autre étude prospective récente, une insuffisance rénale aigüe, expérimentalement induite chez des chiens par administration de gentamicine, n'entraînait pas systématiquement d'augmentation de la concentration sérique de la Spec cPL, de l'activité de la lipase 1,2-DiG ou de la TLI (Hulsebosch et al. 2015). En effet, 12% et 4% des sérums évaluant la concentration sérique de la Spec cPL et de la lipase, respectivement, étaient augmentées. Il n'existait par ailleurs, pas de corrélation entre les concentrations sériques de ces biomarqueurs et de la créatinine. Il est proposé qu'en sus d'un défaut de filtration, les dommages tubulaires rénaux observés lors d'insuffisance rénale peuvent entraîner une diminution de l'absorption tubulaire de ces biomarqueurs, à l'origine d'une augmentation ultérieure de leur concentration dans l'urine.

Chez le chat, la fPLI et la Spec fPL, ne sembleraient pas être augmentées lors de maladie rénale chronique expérimentalement induite (Xenoulis et al. 2009). En effet, dans cette étude, tous les chats ayant subi une néphrectomie subtotal, à l'origine d'une augmentation de la créatinine au-dessus des valeurs de référence, avaient des valeurs sériques de fPLI et de Spec fPL dans les valeurs de référence. Par ailleurs, il n'y avait pas de différence significative entre les chats sains et les chats azotémiques pour les valeurs sériques de fPLI et de Spec fPL. Enfin, il n'y avait pas de corrélation entre la concentration sérique de la créatinine et de la fPLI ou de la Spec fPL. Cette étude suggère ainsi que les concentrations sériques de fPLI ou de Spec fPL ne sont pas affectées lors de maladie rénale chronique et peuvent être utilisées dans le cadre d'une exploration de pancréatite chez des chats présentant une maladie rénale chronique.

Enfin, il semblerait que la lipase DGGR et la Spec fPL soient également affectées par l'azotémie (Oppliger et al. 2013). Bien que l'accord entre les groupes à différents seuils pour les concentrations de créatinine sérique diffère légèrement dans cette étude, ces différences étaient considérées statistiquement non significatives. Cependant, l'impact de l'azotémie ne pouvait pas être évalué de façon concluante car seul l'accord de lipase entre les chats azotémiques et non azotémiques a été comparé. De plus, peu de cas (13) avaient une concentration de créatinine sérique > 249 $\mu\text{mol/L}$. Pour évaluer directement l'influence de l'azotémie concomitante sur l'activité sérique de la lipase DGGR, des études où une insuffisance rénale serait induite expérimentalement chez les chats sans pancréatite en théorie seraient nécessaires, même si elles ne sont pas justifiables sur le plan éthique.

d. Perspective en médecine vétérinaire

L'objectif de notre étude est donc de vérifier si la lipase-DGGR est augmentée lors d'insuffisance rénale chez les chats ne présentant pas de pancréatite et ne recevant pas de glucocorticoïdes. Si tel était le cas, ce test pourrait générer un haut taux de faux-positifs dans cette population. Notre hypothèse est que la lipase DGGR est augmentée lors de maladie rénale chez le chat en l'absence de pancréatite. Cependant si notre hypothèse n'est pas vérifiée et donc si l'activité de lipase-DGGR n'est pas modulée par la présence de maladie rénale, son dosage offrira un avantage conséquent en clinique. La spécificité du résultat, le court délai d'obtention des résultats et le faible coût de l'essai feront de la lipase DGGR un outil diagnostique très avantageux pour les cliniciens et les clients.

Il sera par la suite intéressant de déterminer si d'autres affections médicales ou si certains traitements peuvent influencer les valeurs de la lipase DGGR, à l'instar de glucocorticoïdes.

PARTIE II : ARTICLE SCIENTIFIQUE

Evaluation of 1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6'-methylresorufin) ester lipase concentrations in cats with renal insufficiency and with normal SNAP fPL

*Anne-Sophie Bua, DVM**, *Carolyn Grimes, DVM*, *Guy Beauchamp, PhD* and *Marilyn E. Dunn, DVM*

From the Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Université de Montréal, 3200 rue Sicotte, J2S 2M2 Saint-Hyacinthe, Canada

Conflicts of interest: none

Keywords: DGGR lipase, SNAP fPL, renal insufficiency, pancreatitis

Abstract

Background 1,2-o-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6'-methylresorufin) ester (DGGR) lipase appears to be a useful test for the antemortem diagnosis of pancreatitis and a cost-effective method compared to the feline pancreas-specific lipase (Spec fPL) test. However, little is known about the influence of renal insufficiency on DGGR lipase in cats.

Hypothesis DGGR lipase will increase as renal insufficiency (measured by clinical chemistry biomarkers) worsens in cats.

Design Clinical prospective and controlled study.

Animals 31 client-owned sick cats with a normal semi-quantitative test for the estimation of feline pancreatic immunoreactivity (SNAP fPL) with renal insufficiency (RI+ group) or without renal insufficiency (RI- group) and 18 client-owned healthy cats (healthy group).

Procedure Serum samples were collected from cats and were analyzed for DGGR lipase activity and serum creatinine.

Results Mean serum DGGR lipase for the RI+ group was 20.5 (range: 9-29) UI/L, whereas for the RI- and healthy groups, the means were 17.5 (6-32) UI/L and 15.2 (9-23) UI/L, respectively. The RI+ group had significantly higher DGGR lipase concentrations compared to the healthy group ($P = 0.030$). No significant difference was found for DGGR lipase between the RI+ and RI- groups ($P = 0.21$) nor for the RI- and control groups ($P = 0.68$). DGGR lipase was positively associated with serum creatinine levels ($P = 0.014$), and this parameter accounted for 19.6% of the variation of lipase.

Conclusions and Clinical Relevance Cats with renal insufficiency had significantly higher serum DGGR lipase concentrations than did the healthy controls, with 37% (6/16) of them having values mildly exceeding the upper limit of the reference interval. Therefore, increased DGGR lipase values should be interpreted with caution in cats with renal insufficiency.

Abbreviations:

DGGR lipase: 1,2-o-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(60-methylresorufin) ester lipase

1,2-DiG lipase: 1,2-diglycéríde lipase

Spec fPL: feline pancreas-specific lipase

SDMA: symmetric dimethylarginine

SNAP fPL: rapid point-of-care semiquantitative assay for the estimation of feline pancreatic immunoreactivity

Introduction

Pancreatitis is a common disease and the most common disorder of the exocrine pancreas in cats.¹ Accurate clinical diagnosis of pancreatitis remains challenging because no single non-invasive diagnostic method is completely reliable. Even though the feline pancreas-specific (Spec fPL) is generally regarded as the most accurate blood test for the diagnosis of pancreatitis in cats, it's high cost, limited availability and the relatively long turnaround time represent major drawbacks in the clinical utility of this test.² Although data on the sensitivity and specificity of the Spec fPL have not yet been published in a peer-reviewed article, an abstract from 2009 reported a sensitivity of 79% and a specificity of 82%.^a Validation studies for the rapid point-of-care semiquantitative assay SNAP fPL^b have not been published, although the manufacturer indicates that there is a 92% agreement between the SNAP fPL and Spec fPL assays when values are within the reference interval.¹ An abstract from 2017 reported a specificity of 100% and 91.2% among healthy and sick cats without pancreatitis, respectively, and an overall specificity of 95.9% for the SNAP fPL.^c

Recently, a catalytic assay for the determination of serum lipase activity using the substrate 1,2-o-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6-methylresorufin)-ester (DGGR) was validated for use in feline serum, and substantial agreement with the Spec fPL assay has been established.³ When a lymphocytic inflammation up to 10% of an histologic section of the pancreas was considered normal, the sensitivity and specificity for the DGGR assay (cutoff value >26 UI/L) was 66.7 and 78.6% respectively.⁴ Both lipase assays, Spec fPLI and DGGR, performed similarly well in this study.

There is little published information about the influence of comorbidities on lipase assays in cats. It is more interesting that cats with pancreatitis often have comorbidities such as renal insufficiency. Contrary to what was previously reported,^{5,6} recent studies in dogs have demonstrated that decreased renal excretion did not result in consistent increases in serum lipase 1,2-DiG activity.^{7,8} This relationship has been investigated in cats with experimentally induced renal insufficiency and the results indicated that all cats had serum Spec fPL concentrations within their respective reference intervals.⁴ Furthermore, there was no significant correlation between serum creatinine concentrations and Spec fPL concentrations. These results suggest that Spec fPL is not affected by renal insufficiency. To date, the Spec fPL is the only serum lipase assay that has been evaluated in this context. There has been no critical evaluation of DGGR lipase in cats with renal insufficiency and the sensitivity and specificity of this test in affected cats is therefore unknown.

The aim of this study was to evaluate serum DGGR lipase concentrations in cats with renal insufficiency and with a normal SNAP fPL. It was hypothesized that renal insufficiency (as measured by clinical chemistry biomarkers) would lead to an increase in serum DGGR lipase concentrations.

Materials and Methods

Animals and study design

Client-owned cats were prospectively recruited from the patient population at the Faculty of Veterinary Medicine, Université de Montréal, between January 2017 and December 2018. Cats were included in the study if they were greater than 1 year of age. For all cats enrolled in the study, a physical examination, a serum biochemistry, a thyroxine measurement, a SNAP fPL, a quantitative lipase DGGR concentration, and a urinalysis were performed.

Sick cats were defined as cats with a wide variety of diseases, for which pancreatitis was deemed unlikely based on a normal SNAP fPL (i.e. fPL < 3.5 ug/L). Other tests performed were left to the discretion of the clinician in charge of the case. Sick cats were further divided into two groups based on the diagnosis of concurrent renal insufficiency. A diagnosis of renal insufficiency (group RI+) was based on the presence of urine specific gravity [USG] \leq 1.035 and a serum creatinine concentration \geq 140 umol/L. Cats were considered not having renal insufficiency (group RI-) if the USG was $>$ 1.035 and the serum creatinine concentration was $<$ 140 umol/L. Sick cats were excluded from the analysis if they had either a USG was \leq 1.035 with a concurrent serum creatinine concentration $<$ 140 umol/L, or a USG was $>$ 1.035 with a concurrent serum creatinine concentration \geq 140 umol/L, or if they had received fluid therapy within a week or glucocorticoids two months prior to the blood sampling. If an abdominal ultrasound was performed, pancreatic and peripancreatic abnormalities suspected to be associated with pancreatitis were recorded as follow: hypoechoic or heteroechoic pancreatic parenchyma, pancreatic enlargement, hyperechoic mesentery and peritoneal effusion.

Healthy cats were defined as healthy based on a history, a physical examination, a complete blood cell count, a serum biochemistry, a thyroxine measurement, a urinalysis and a SNAP fPL within normal. These cats were also considered not having renal insufficiency if the USG was > 1.035 , and the serum creatinine concentration was < 140 $\mu\text{mol/L}$. Cats were excluded if the USG was ≤ 1.035 , or serum creatinine concentration was ≥ 140 $\mu\text{mol/L}$, or if they received any medication, except preventive ones for external and internal parasite control, within the last 6 months.

The study was approved by the ethics and the animal welfare committee of the Faculty of Veterinary Medicine.

SNAP fPL and measurement of lipase DGGR

Approximately 3-4 mls of blood were collected from each cat by jugular or medial saphenous venipuncture. Each sample was placed in a red-top tube and centrifuged within 1 hour of collection. The blood sample was analyzed on the collection day for biochemical analysis, SNAP fPL and quantitative lipase DGGR concentration. The presence of hemoglobin or bilirubin was also reported. Remaining serum was stored at -20°C and was subsequently submitted for symmetric dimethylarginine (SDMA) measurement the day after sample collection to an external reference laboratory.^e

The individual performing the SNAP test was blinded to the results of the clinical examination, the blood work and, if the case, to the results of the abdominal ultrasound of the patient. The SNAP test was performed according to the manufacturer's instructions. This rapid in-clinic, semi-quantitative test uses monoclonal antibodies, as used for the quantitative reference Spec fPL, for estimation of feline pancreatic lipase immunoreactivity concentration in serum. The

SNAP fPL assay, incorporates a reference spot that corresponds to the upper limit of the reference normal intervals in cats (3.5 ug/L for cats) and a sample spot that is visually compared with the reference spot. Results were recorded as abnormal when the color of the sample spot was equal to or darker than the reference spot and were recorded as normal when the color of the sample spot was lighter than the reference spot. All cats with an abnormal result were excluded from this study.

The quantitative lipase DGGR was performed at a reference laboratory with the use of an in-house assay^f. The reference interval for the DGGR assay (8–26 U/L) was previously established using 80 clinically healthy, male and female cats of various breeds.³ However, the assay utilized in this study differed from the one used to develop these reference intervals. Consequently, the range utilized in this study was based on the values obtained in the healthy control group.

Statistical analysis

Demographic characteristics among the three study groups were compared with a general linear model with group as a factor (IR+, IR-, healthy) for age and body weight and with an exact chi-square test for sex distribution. Normality of the distributions was examined with the Anderson-Darling test. Concentration values for DGGR lipase, SDMA, and creatinine (required logarithmic transformations to normalize their distributions) were compared among groups with a general linear model followed by Tukey's post-hoc tests to compare pairs of group means. A linear regression was used to examine the association between log-10 transformed DGGR lipase concentrations and the following variables (also in log-scale): creatinine, SDMA, bilirubin, ALT, ALP, GGT. For hemolysis, an ordinal variable, Spearman's rank correlation was used instead. The level of statistical significance was set at P greater than 0.05. The number of subjects required in each group was 2 cats to demonstrate an increase of DGGR lipase by 2.5

times in case of renal insufficiency, as it was previously demonstrated^{5,6}, with a power of 80% and a risk of error of 5%. A higher number of cases, however, was included in the case where the lipase difference between the groups would not be as great as was previously reported.

Results

Study population

The study population consisted of a total of 79 cats. Thirty cats were excluded based on the above-mentioned criteria, leaving a final study population of 49 cats. Among them, nineteen cats were excluded because of an abnormal SNAP fPL.

The RI+ group consisted of 16 cats and included 9 spayed females, 6 neutered males, and 1 sexually intact male, ranging in age from 2 to 16 years (mean 9.8). The mean weight was 4.5 kg (range 2.3-6.6 kg). Breeds represented in this group included domestic shorthair (n = 13), and domestic longhair, Main Coon and Siamese (1 each).

The RI- group consisted of 15 cats and included 9 spayed females and 6 neutered males, ranging in age from 1 to 15 years (mean 6.4). The mean weight was 5.1 kg (range 3.4-7.4 kg). Breeds represented in this group included domestic shorthair (n = 13), and domestic longhair, Persian and Bengal (1 each).

The healthy group consisted of 18 cats and included 9 spayed females, 8 neutered males, and 1 sexually intact male, ranging in age from 1 to 11 years (mean 5.1). The mean weight was 4.9 kg (range 3.3-6.9 kg). Breeds represented in this group included domestic shorthair (n = 14), and domestic longhair (n = 4).

Cats in the RI+ group were significantly older than the cats in the RI- and healthy groups ($P = 0.017$). The sex distribution ($P = 0.95$) and mean body weight ($P = 0.45$) did not differ significantly among the 3 groups. Demographic data for each group is presented in Table 1. An abdominal ultrasound had been performed in 12/31 of sick cats. None of them had an ultrasonographic diagnosis of pancreatitis. The comorbidities were noted as follows:

enteropathy (RI+ group, n = 5; RI- group, n = 9), (cholangio)-hepatopathy (RI+ group, n = 6; RI- group, n = 2), cardiomyopathy (RI+ group, n = 2; RI- group, n = 0), respiratory tract disease (RI+ group, n = 0; RI- group, n = 3), diabetes mellitus (RI+ group, n = 1; RI- group, n = 0), hyperthyroidism (RI+ group, n = 0; RI- group, n = 1), FIV (RI+ group, n = 1; RI- group, n = 0), and polycythemia vera (RI+ group, n = 0; RI- group, n = 1). The same cat could have several comorbidities.

DGGR lipase assay results

The mean (range) serum DGGR lipase for the RI+ group was 20.5 (9-29) UI/L, for the RI- and healthy groups, the mean was 17.5 (6-32) UI/L and 15.2 (9-23) UI/L, respectively (Table 1). The range of DGGR lipase results for healthy cats in our study was 8-22 UI/L and showed a normal distribution. The RI+ group had significantly higher DGGR lipase concentrations compared to the healthy group ($P = 0.030$). No significant difference was found for DGGR lipase between the RI+ and RI- groups ($P = 0.21$) nor for the RI- and control groups ($P = 0.68$). Serum lipase activity was normal (≤ 22 U/L) in 10/16 (63%) cats and abnormal (≥ 23 U/L) in 6/16 (37%) cats in the RI+ group. Serum lipase activity was normal (≤ 22 U/L) in 13/15 (86%) cats and abnormal (≥ 23 U/L) in 2/15 (14 %) cats in the RI- group.

DGGR lipase – creatinine and SDMA

The mean (range) serum creatinine for the RI+ group was 245 (144-630) $\mu\text{mol/L}$, for the control group RI- and healthy groups, the mean was 90.2 (54-134) $\mu\text{mol/L}$ and 105.2 (60-133) $\mu\text{mol/L}$, respectively (Table 1). The RI+ group had significantly higher creatinine concentrations compared to the RI- ($P < 0.001$) and healthy groups ($P < 0.0001$). No significant difference was

found between the healthy and RI- groups ($P = 0.23$) for the creatinine concentration. The mean (range) serum SDMA for the RI+ group (results available for $n = 8/16$) was 19.5 (9-30) ug/dL, for the RI- ($n = 12/15$) and healthy groups ($n = 17/18$), the mean was 9.25 (6-14) ug/dL and 10.5 (6-18) ug/dL, respectively. The RI+ group had significantly higher SDMA concentrations compared to the RI- groups ($P = 0.001$) and healthy ($P = 0.003$). No significant difference was found between the RI- groups ($P = 0.73$) and healthy for SDMA concentration. Linear regression indicated that DGGR lipase was positively associated with serum creatinine ($P = 0.014$), and creatinine explained 19.6% of the variation of lipase (Figure 1). Linear regression also indicated that DGGR lipase was positively associated with serum SDMA, but this was not statistically significant ($P = 0.25$).

DGGR lipase - hepatic enzymes and interfering substances

Linear regression results indicated that DGGR lipase was positively associated with ALP ($P = 0.57$), ALT ($P = 0.52$), and GGT ($P = 0.48$), but this was not statistically significant. The same was true for interfering substances: bilirubin ($P = 0.28$) and hemoglobin ($P = 0.60$).

Discussion

The aim of our study was to investigate the possible influence of renal insufficiency on serum DGGR lipase in cats. Cats with renal insufficiency in our study had serum DGGR lipase concentrations significantly increased compared to those of healthy controls, possibly leading to an erroneous diagnosis of pancreatitis in 37% (6/16) of cats. Indicating that cats with renal insufficiency as defined by our study, with elevated DGGR lipase results consistent with a diagnosis of pancreatitis require further testing such as the quantitative Spec fPL to exclude a diagnosis of pancreatitis.

Pancreatic lipase (~ 48kDa) has a lower molecular size than serum albumin and is therefore considered to be of low molecular weight. As a result, the filtration rate of this biomarker is relatively high.⁹ A reduction in glomerular filtration associated with renal dysfunction should therefore reduce its relative filtration and increase its serum concentration. Older studies in dogs have shown that lipase 1,2-DiG is increased in experimentally induced or spontaneous renal insufficiency.^{5,6} It is interesting to note, however, that no correlation could be established between increased lipase in renal insufficiency and between inulin clearance, creatinine concentration, or serum urea concentration in these studies. Thus, a decrease in renal excretion of lipase did not appear to be the main cause of the increase in serum 1,2-DiG lipase concentration.⁶ However, more recent studies in dogs with experimentally induced renal insufficiency have not supported this and have demonstrated that decreased renal excretion did not result in consistent increases in serum lipase 1,2-DiG activity.^{7,8} It should be noted, however, that the stability of lipase was not specifically demonstrated in one of these studies, as serum samples were analyzed after nearly 20 years of storage at -80°C.⁸ It is suggested that, in addition

to a filtration defect, renal tubular damage observed during renal insufficiency may lead to a decrease in the tubular reabsorption of lipase, causing a subsequent decrease in its concentration in blood. Oppliger et al stated that both assays, DGGR lipase and Spec fPL are similarly affected by concurrent azotemia in cats, and that catalytic lipase activity seems no more influenced by azotemia than Spec fPL.³ However, the impact of concurrent azotemia cannot be conclusively assessed because only the agreement between the two lipases assays were compared to each other in the azotemic and nonazotemic cats. Contrary to previous studies in dogs and cats, DGGR lipase was positively associated with serum creatinine, and creatinine explained 19.6% of the lipase variation in our study. Other factors affecting DGGR were not investigated. It would have been interesting to complete our study with a measurement of glomerular filtration rate to confirm the origin of DGGR lipase increase in cats with renal insufficiency. Also, studies on experimentally induced azotemia in cats without pancreatic disease would theoretically be required for directly assessing the influence of concurrent azotemia on serum lipase activity, although ethically this would be difficult to justify.

Surprisingly, unlike what is observed with creatinine, DGGR lipase was not associated with SDMA. A type II error is possible considering that the SMDA could be measured in only 37/48 (77%) of the population and could explain this result. Although SDMA has been increasingly used as a marker of early kidney disease in cats, little is known about the influence of comorbidities on SDMA in this species.^{10,11} Indeed, in a recent study, cats with diabetes mellitus had SDMA concentrations significantly lower than healthy control cats, a finding that needs further investigation and should be kept in mind when evaluating renal function in cats with this endocrinopathy.¹² Serum SDMA concentrations in cats with HCM were not significantly different from those of healthy control cats. The possible influence of other conditions such as

enteropathies, (cholangio)-hepatopathies, respiratory tract infections, variations in blood cell counts and infectious diseases, is currently unknown and could have impacted our results.

It is possible that cats with chronic pancreatitis were included in this study, as false-negative results may occur due to the lack of active disease. When comparing the results of lipase assays with those of standardized histologic examination of the pancreas in cats, the sensitivity of the Spec fPL assay with a cutoff value of ≥ 5.4 ug/L for the diagnosis of pancreatic inflammation ranged from 42.1% to 61.1%, while the DGGR-lipase assay had a sensitivity of 36.8–66.8%.⁴ These values depended upon whether up to 10% lymphocytic inflammation was considered normal or abnormal. This is a point of some controversy as the relevance of mild lymphocytic pancreatic inflammation in cats is currently unknown. As far as validation studies for the rapid point-of-care semiquantitative assay SNAP fPL^b have not been reported, the manufacturer indicates that there is 92% agreement between the SNAP fPL and Spec fPL assays when values fall within the reference interval. Given this, having a normal SNAP fPL makes it unlikely that a cat would have pancreatitis. It would have been ideal to exclude pancreatitis by performing an abdominal ultrasound on all patients and ideally by performing a pancreatic histopathology. However, only slight to fair agreement was found between pancreatic ultrasonography and lipase determinations (Spec fPL and DGGR lipase activity) lipase, with the best evaluated ultrasonographic variables being a combined hypoechoic and mixed-echoic pancreas, hypoechoic pancreas, and enlarged pancreas.¹³ One explanation for the poor agreement between ultrasonography and serum lipase assay results could be too many false-positive ultrasonographic diagnoses. Moreover, there is accumulating evidence that pancreatic histopathology is associated with several and important limitations, and therefore, cannot be considered an ideal gold standard.¹⁴ The two main limitations of histopathology are the

possibility of false negative results because of missed lesions and the unknown clinical significance of pancreatic lesions. There is currently no ideal model that allows us for ruling out or in pancreatitis.

The main non-pancreatic conditions associated with increased serum 1,2-DiG lipase activities include renal, hepatic, intestinal, and neoplastic diseases, as well as corticosteroid administration.¹⁵ For this reason, it was decided to exclude cats with corticosteroid treatment in our study. Similarly, it would have been relevant to exclude the comorbidities mentioned above in cats with renal insufficiency. Our purpose was to evaluate a population of cats with renal insufficiency in a clinical situation. Not surprisingly, many of our cats, mostly geriatric, had concomitant illnesses and patient recruitment would have been even more difficult if we had excluded cats with other concomitant diseases. Therefore, a control group of sick cats without renal insufficiency was used for the statistical analysis. The number of cats with enteropathy and/or (cholangio)-hepatopathy, which were the most frequently observed comorbidities, was similar between sick cats whether they had renal insufficiency or not. In addition, DGGR lipase was not statistically significantly associated with hepatic enzymes (ALP, ALT, GGT). It therefore appears unlikely that these comorbidities played a significant role in DGGR lipase concentration, although it cannot be completely ruled out. DGGR lipase was not statistically different between sick cats with and without renal insufficiency contrary to what was observed in sick cats with renal insufficiency and healthy control cats. A type-II error is possible when using a small sample size, as was the case in our study, and it should be considered that the lack of significant association noted between sick cats with and without renal insufficiency could be due to this error. The number of subjects required to demonstrate a difference between both groups with a power of 80% and a risk of error of 5% is 40 in each group.

There were several limitations to our study, such as the relatively small number of cases for statistical evaluation. Also, the effect of concurrent treatment and comorbidities on DGGR lipase is currently unknown. Although cats in the healthy control group and the sick cats without renal insufficiency, were nonazotemic, some may have had early kidney disease. Furthermore, this study utilized the several clinically available noninvasive tests to rule out pancreatitis, however histopathology would have been a more definitive method to rule out pancreatic pathology. Finally, the reference interval utilized for the statistical analysis for the DGGR assay was based on the healthy control group in the study.

Conclusion

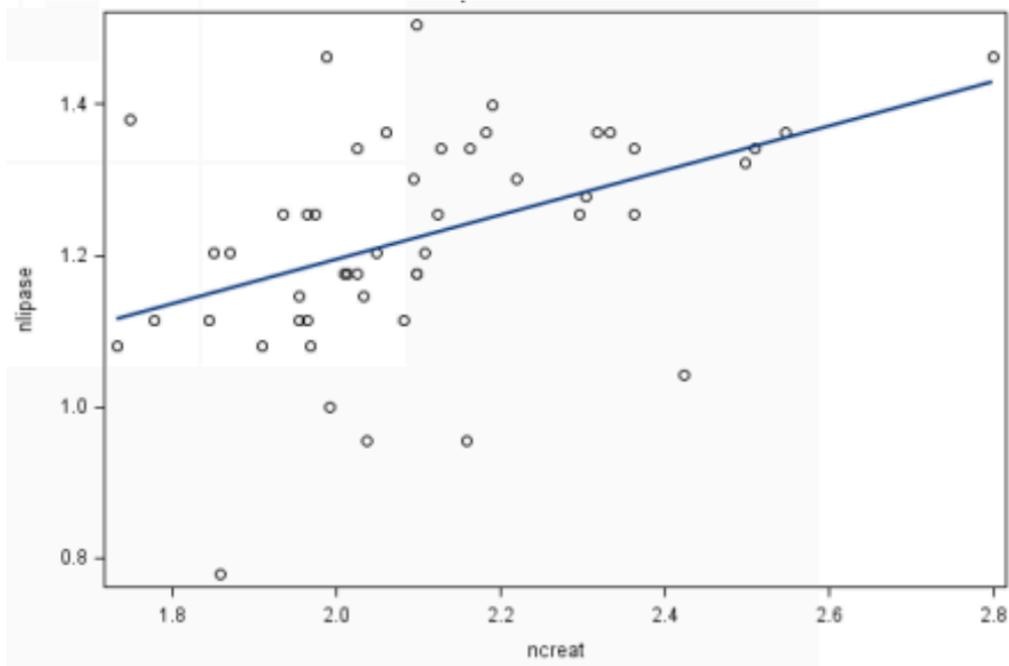
In summary, our study concluded that cats with renal insufficiency had significantly higher serum DGGR lipase concentrations than did healthy controls, with 37% (6/16) of cats having values higher than the reference range. Therefore, an increased DGGR lipase should be interpreted with caution in cats with renal insufficiency and therefore further investigations including the quantitative Spec fPL assay are necessary to make conclusion about a diagnosis of pancreatitis. However, pancreatitis should be considered highly unlikely if the DGGR lipase falls within the reference range.

Footnotes

- a. Forman MA, Shiroma J, Armstrong PJ, et al. Evaluation of feline pancreas-specific lipase (Spec fPL) for the diagnosis of feline pancreatitis (abstr). *J Vet Intern Med* 2009; 165:733.
- b. SNAP fPL Test, IDEXX Laboratories Inc.
- c. Xenoulis PG, Chatzis MK, Kokkinaki K et al. Specificity of SNAP fPL for the diagnosis of pancreatitis in healthy cats and sick cats without clinical suspicion of pancreatitis (abstr). *J Vet Intern Med* 2018;32:530.
- d. Xenoulis PG, Finco DR, Suchodolski JS, et al. Serum fPLI and Spec fPL concentrations in cats with experimentally induced chronic renal failure (abstr). *J Vet Intern Med* 2009; 250:786.
- e. IDEXX Laboratories. Lachine, QC H8T 3R2, Canada.
- f. Lipase colorimetric SYNCHRON LX, Beckman Coulter.

Figures

Figure 1 – Correlation of the serum lipase concentrations (nlipase) with the creatinine concentration (ncreat) for all cats. The data has undergone a logarithmic transformation (P = .014).



Tables

Table 1 - Descriptive variables and mean range for DGGR lipase, serum creatinine and SDMA for sick cats with renal insufficiency (RI+ group; n = 16), sick cats without renal insufficiency (RI-; 15) and healthy cats (healthy; 18).

Variable	Group		
	RI+	RI-	Healthy

Age (y)	9.8 (2-16) ^a	6.4 (1-15) ^b	5.1 (1-11) ^b
Body weight (kg)	4.5 (2.3-6.6)	5.1 (3.4-7.4)	4.9 (3.3-6.9)
Breeds (No.)	13 DSH 1 DLH 1 MC 1 S	13 DSH 1 P 1B	14 DSH 4 DLH
Sex (No.)	9 FN 1 M 6 MN	9 FN 0 M 6 MN	9 FN 1M 8 MN
Serum DGGR lipase (UI/L)	20.5 (9-29) ^a median: 22	17.5 (6-32) median: 16	15.2 (9-23) ^b median: 15
Serum creatinine (mmol/L)	245 (144-630) ^a median: 211.5	90.2 (54-134) ^b median: 92	105.2 (60-133) ^b median: 107
SDMA (ug/dL)	19.5 (9-30) ^a median: 18.5	9.25 (6-14) ^b median: 8.5	10.5 (6-18) ^b median: 10

Values represent the mean (range) unless otherwise specified.

^{a,b} Within a row, values with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

B Bengal; BSH, British shorthair; DSH, Domestic shorthair; DLH, Domestic longhair; MC, Maine coon; P Persian; S, Siamese; FN, Female neutered; M, Male intact; MN, Male neutered.

References

1. Xenoulis PG. Diagnosis of pancreatitis in dogs and cats. *J Small Anim Pract* 2015;56:13-26.
2. Xenoulis PG, Steiner JM. Canine and feline pancreatic lipase immunoreactivity. *Vet Clin Pathol* 2012;41:312–324.
3. Oppliger S, Hartnack S, Riond B, et al. Agreement of the serum Spec fPL™ and 1,2-o-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6'-methylresorufin) ester lipase assay for the determination of serum lipase in cats with suspicion of pancreatitis. *J Vet Intern Med* 2013;27:1077–1082.
4. Oppliger S, Hilbe M, Hartnack S, et al. Comparison of Serum Spec fPL™ and 1,2- o-Dilauryl-Rac-Glycero-3-Glutaric Acid-(6'-Methylresorufin) Ester Assay in 60 Cats Using Standardized Assessment of Pancreatic Histology. *J Vet Intern Med* 2016:764-770.
5. Wagner AE, Macy DW. Nephelometric determination of serum amylase and lipase in naturally occurring azotemia in the dog. *Am J Vet Res* 1982; 43(4):697-699.
6. Polzin DJ, Osborne CA, Stevens JB, et al. Serum amylase and lipase activities in dogs with chronic primary renal failure. *Am J Vet Res* 1983;44:404–410.
7. Hulsebosch SE, Palm CA, Segev G et al. Evaluation of Canine Pancreas-Specific Lipase Activity, Lipase Activity, and Trypsin-Like Immunoreactivity in an Experimental Model of Acute Kidney Injury in Dogs. *J Vet Intern Med* 2016;30(1):192–199.
8. Steiner JM, Finco DR, Williams DA. Serum lipase activity and canine pancreatic lipase immunoreactivity (cPLI) concentration in dogs with experimentally induced chronic renal

failure. *Vet Res* 2010;3(3);58-63.

9. Fabris C, Basso D, Naccarato R. Urinary enzymes excretion in pancreatic diseases. Clinical role and pathophysiological considerations. *J Clin Gastroenterol* 1992;14(4):281-284.

10. Braff J, Obare E, Yerramilli M et al. Relationship between Serum Symmetric Dimethylarginine Concentration and Glomerular Filtration Rate in Cats. *J Vet Intern Med* 2014;28:1699–1701.

11. Hall JA, Yerramilli M, Obare E et al. Comparison of Serum Concentrations of Symmetric Dimethylarginine and Creatinine as Kidney Function Biomarkers in Cats with Chronic Kidney Disease. *J Vet Intern Med* 2014;28:1676–1683

12. Langhorn R, Kieler IN, Koch J. Symmetric Dimethylarginine in cats with hypertrophic cardiomyopathy and diabetes mellitus. *J Vet Intern Med* 2018;32:57-63

13. Oppliger S, Hartnack S, Reusch CE et al. Agreement of serum feline pancreas-specific lipase and colorimetric lipase assays with pancreatic ultrasonographic findings in cats with suspicion of pancreatitis: 161 cases (2008–2012). *J Am Vet Med Assoc* 2014;244:1060–1065.

14. Bazelle J, Penny W. Pancreatitis in cats: is it acute, is it chronic, is it significant? *J Feline Med Surg* 2014;16:395-406.

15. Washabau RJ. Pancreas (chap. 60), In: Washabau RJ, Day MJ *Canine and feline gastroenterology*. St-Louis: Saunders, 2013;799-848.

DISCUSSION

Le diagnostic sérique de pancréatite repose sur le dosage de la lipase. Plusieurs tests sériques ont été évalués dans l'exploration des pancréatites chez le chat, incluant notamment la lipase 1,2-DiG et la Spec fPL. La recherche de marqueurs diagnostiques ne cesse de croître dans le diagnostic des pancréatites chez le chat. En 2013, la lipase DGGR, un nouveau test sérique, a été validé chez le chat. Toutefois, l'influence d'affections concomitantes ou l'administration de certains médicaments sur l'activité de la lipase DGGR reste encore inconnue à ce jour. En particulier, l'influence de l'insuffisance rénale n'a pas été évaluée. Ceci est d'autant plus intéressant que les signes cliniques de pancréatite et d'insuffisance rénale peuvent se chevaucher. Le but de notre étude était donc d'évaluer l'influence possible de l'insuffisance rénale sur la lipase DGGR sérique chez les chats.

Nous avons constaté que les chats présentant une insuffisance rénale démontrent des concentrations moyennes de lipase DGGR 1.5 fois plus élevées en moyenne plus élevées que les chats en santé. Basé sur l'intervalle de référence : 8-22 UI/L obtenus chez les animaux sains (dont la lipase dans ce groupe suivait une distribution normale) un diagnostic erroné de pancréatite lors d'insuffisance rénale serait alors possible dans 6/16 cas (37%). Dans ces conditions, la réalisation d'un SNAP fPL s'avère donc nécessaire lorsque la lipase DGGR est au-dessus des valeurs de référence afin d'infirmer la possibilité d'une pancréatite.

La lipase pancréatique (~ 48 kDa) a une taille moléculaire inférieure à celle de l'albumine sérique et est donc considérée comme ayant un faible poids moléculaire. Elle est par conséquent largement filtrée au niveau glomérulaire (Fabris et al. 1992). Une réduction de la filtration glomérulaire associée à un dysfonctionnement rénal devrait donc en réduire la filtration relative et augmenter la concentration sérique de la lipase. Des études plus anciennes chez le chien ont montré que la lipase 1,2-DiG augmente de 2,5 à 4 fois lors d'insuffisance rénale

chronique induite expérimentalement ou spontanément par rapport aux valeurs habituelles (Wagner & Macy 1982 ; Polzin et al. 1983). Il est intéressant de noter, cependant, qu'aucune corrélation n'avait été pu établie entre l'augmentation de la lipase lors l'insuffisance rénale et entre la clairance de l'inuline, la concentration de la créatinine ou la concentration de l'urée. Ainsi, une diminution de l'excrétion rénale de la lipase ne semblait pas être la cause principale de l'augmentation de la concentration sérique de la lipase (Polzin et al. 1983). Cependant, des études plus récentes chez le chien n'ont pas confirmé ces résultats (Huselboch et al. 2015 ; Steiner et al. 2010). En effet, des chiens atteints d'insuffisance rénale chronique induite expérimentalement n'avaient pas d'augmentation cliniquement significative de la concentration sérique de la lipase 1,2-DiG. Il convient de noter, cependant, que dans cette étude les échantillons de sérum ont été analysés près de 20 ans après le stockage à -80 ° C et que la stabilité de la lipase n'a pu être spécifiquement démontrée (Steiner et al, 2010). Il est donc proposé qu'en plus d'un défaut de filtration, les dommages rénaux tubulaires secondaires à une insuffisance rénale peuvent conduire à une diminution de la réabsorption tubulaire de la lipase, provoquant une augmentation ultérieure de sa concentration dans l'urine et donc une diminution de sa concentration sérique.

Jusqu'à ce jour, une seule étude a évalué les concentrations de la lipase DGGR chez le chat lors d'insuffisance rénale. Opplinger et al ont conclu que les deux dosages, DGGR lipase et Spec fPL, sont également affectés par l'azotémie chez les chats, pouvant donc affirmer que l'activité catalytique de la lipase DGGR ne semble pas plus influencée par l'azotémie que Spec fPL (Opplinger, 2013). Par ailleurs, la Spec fPL, ne semblerait pas être augmentée lors de maladie rénale chronique expérimentalement induite (Xenoulis et al. 2009). Toutefois, dans l'étude de Opplinger et al, l'impact de l'azotémie ne pouvait pas être évalué de façon concluante

puisque seul l'accord des tests de lipase entre les chats azotémiques et non azotémiques a été comparé. Contrairement aux études citées précédemment chez le chien et le chat, la lipase DGGR était positivement associée à la créatinine sérique, et la créatinine expliquait 19,6% de la variation de la lipase dans notre étude.

De façon surprenante, contrairement à ce qui est observé avec la créatinine, la lipase DGGR n'était pas associée à la symétrique diméthylarginine (SDMA) dans notre étude. La SDMA est un biomarqueur de la fonction rénale. Elle est excrétée par les reins et reflète ainsi le taux de filtration glomérulaire. La SDMA augmente dès qu'il y a 25% de perte de la fonction rénale (Hall et al. 2014) contrairement à la créatinine qui augmente dès lors que 75% de la fonction rénale est perdue. Ainsi, la SDMA semblerait refléter plus précisément le taux de filtration glomérulaire chez les chats et détecterait de façon plus précoce une baisse du taux de filtration glomérulaire. Toutefois, les facteurs et les comorbidités influençant la SDMA sont encore peu connus. La SDMA n'est pas influencée par certains facteurs extra-rénaux tel que la masse maigre de l'animal, contrairement à la créatinine (Hall et al. 2015). Dans une étude récente, des chats atteints de diabète sucré présentaient des concentrations de SDMA significativement plus faibles que les chats sains (Langhorn et al. 2018). En revanche, les chats atteints de cardiomyopathie présentaient des valeurs de SDMA comparable aux chats sains. Cette constatation nécessite des investigations plus approfondies et devrait être prise en compte lors de l'évaluation de la fonction rénale des chats présentant plusieurs comorbidités (telle qu'une endocrinopathie). L'influence possible d'autres conditions telles que des entéropathies, des (cholangio)-hépatopathies, des affections des voies respiratoires, des troubles hématologiques ou encore des maladies infectieuses, est actuellement inconnue et aurait pu avoir une incidence sur nos résultats, masquant ainsi une association entre la lipase DGGR et la SDMA. De plus,

une erreur de type II est possible considérant la petite taille de notre échantillon sur lequel le SDMA a pu être mesuré.

Outre les maladies rénales, les autres principales affections extra-pancréatiques associées à l'augmentation de l'activité sérique de la lipase 1,2-DiG comprennent les maladies hépatiques, intestinales et néoplasiques, ainsi que l'administration de corticostéroïdes (Washabau. 2013). Pour cette raison, il a été décidé d'exclure les chats traités aux corticostéroïdes dans notre étude. De la même manière, il aurait été idéal d'exclure les chats en insuffisance rénale présentant des comorbidités telles que mentionnées ci-dessus. Notre objectif était d'évaluer une population de patients atteints d'insuffisance rénale dans une situation clinique. Sans surprise, beaucoup de nos chats en insuffisance rénale, de par leur âge en grande partie présentaient des maladies concomitantes. Ainsi, il aurait été difficile de recruter des cas présentant une insuffisance rénale sans autres maladies concomitantes. Par conséquent, un groupe témoin de chats malades sans insuffisance rénale a été utilisé pour l'analyse statistique. La proportion de chats atteints d'entéropathie et/ou de (cholangio)-hépatopathie (conditions sous-jacentes les plus fréquemment répertoriées) était similaire dans chacun des deux groupes. En outre, il n'a pas pu être démontré d'association entre les concentrations sériques de la lipase DGGR et des enzymes hépatiques (ALP, ALT et GGT), de même que l'absence d'association entre la lipase DGGR et certains facteurs colorimétriques tels que la bilirubine et l'hémolyse. Ceci va à l'encontre des études anciennes qui montraient que la lipase 1,2-DiG génère un haut taux de faux positifs et de faux négatifs puisque la présence de maladies gastro-intestinales peut moduler à l'activité de la lipase et ce, même en absence de pancréatite (Washabau. 2013). A la lumière de nos résultats, il est donc peu probable que ces comorbidités aient pu influencer l'interprétation des résultats entre le groupe de chats malades avec insuffisance rénale et le

groupe de chats malades sans insuffisance rénale ; toutefois cela ne peut être exclu de façon définitive. Dans ce contexte, il est alors surprenant de ne pas observer de différence entre les moyennes de lipase DGGR entre les chats malades avec ou sans insuffisance rénale, contrairement à ce qui est observé entre les chats avec insuffisance rénale et les chats sains. Une erreur de type II est possible considérant la petite taille de notre échantillon. En fait, le nombre de sujets requis pour démontrer une différence entre les deux groupes avec une puissance de 80% et un risque d'erreur de 5% est de 40 dans chaque groupe.

Une autre cause extra-pancréatique possible à l'origine de l'augmentation de la lipase DGGR est la macrolipasémie. En médecine humaine, la lipase circulante est sous la forme d'un polymère trop grand pour être facilement extrait par les reins. Les patients présentant cette particularité ont alors un taux sérique élevé de lipase, une valeur basse de lipase urinaire et un ratio $C_{\text{lipase}}/C_{\text{créatinine}}$ inférieure à 1% (Braunswald et al. 2001). La macrolipasémie a été documentée chez quelques patients ayant une cirrhose, un lymphome non hodgkinien, une maladie de Crohn, une maladie céliaque, un lupus érythémateux systémique ou encore une sarcoïdose (Braunswald et al. 2001 ; Duerksen et al. 2000 ; Garcia-Gonzalez et al. 1995 ; Goto et al. 2000 ; Okumura et al. 1998). Chez ces patients, le pancréas apparaît normal à l'échographie et au scanner. Il a été montré que la lipase était complexée avec l'immunoglobuline A en cas de macrolipasémie. Ainsi, la possibilité d'avoir une macrolipasémie doit être envisagée chez les patients ayant des taux élevés de cette enzyme en l'absence d'évidence de pancréatite. A notre connaissance, aucun cas de macrolipasémie n'a été rapporté en médecine vétérinaire. Toutefois, cette hypothèse ne peut être écartée considérant les comorbidités répertoriées pour certains des chats en insuffisance rénale. Il faut également noter les cas particuliers des rares tumeurs du pancréas à cellules acinaires qui sécrètent habituellement de très grande quantité d'enzymes

pancréatiques, entraînant une augmentation très sévère de la lipasémie, plusieurs centaines de fois au-dessus de la limite supérieure de la normale (Lévy 2006).

Enfin, il est possible que certain chats inclus dans notre étude présentaient des pancréatites légères à modérées. En effet, en comparant les résultats des tests lipases avec ceux de l'examen histologique du pancréas chez le chat, la sensibilité du test Spec fPL avec une valeur seuil $\geq 5,4 \mu\text{g} / \text{L}$ pour le diagnostic de l'inflammation pancréatique variait de 42,1% à 61,1%, tandis que le test DGGR-lipase avait une sensibilité de 36,8-66,8% (Oppliger et al. 2016). La valeur dépendait du niveau d'inflammation lymphocytaire qui jusqu'à 10% était considérée comme normale. En ce qui concerne les études de validation du test semi-quantitatif SNAP fPL, le fabricant indique qu'il y a un accord de 92% entre les tests SNAP fPL et Spec fPL lorsque les valeurs se situent dans l'intervalle de référence. Par conséquent, la sensibilité du SNAP fPL devrait théoriquement être élevée et similaire à celle indiquée pour la Spec fPL. Par conséquent, un résultat SNAP fPL normal est un bon indicateur qu'une pancréatite est peu probable. Cependant, il est possible que des chats atteints de pancréatite aient été inclus dans cette étude, car des résultats faussement négatifs chez les chats atteints de pancréatite chronique peuvent indiquer un manque d'activité enzymatique. Il aurait été alors idéal d'exclure une pancréatite en effectuant une échographie abdominale de façon systématique chez tous les patients (réalisée chez 12 sur 31 des patients malades) et idéalement en effectuant une analyse histologique du pancréas. Toutefois, il y a de plus en plus de preuves que l'histologie du pancréas est associée à plusieurs limites importantes et, par conséquent, ne peut pas être considérée comme un gold standard idéal. Les deux principales limites de l'histopathologie sont la possibilité de résultats faussement négatifs en raison de lésions focales et la signification clinique inconnue des lésions

pancréatiques. Il n'y a donc pas de modèle idéal qui permet aujourd'hui de prédire l'état de la maladie.

La présente étude comporte plusieurs limites. Tout d'abord le nombre de cas limité. Ensuite, il aurait été intéressant de réaliser un dosage quantitatif de la Spec fPL, ainsi qu'une échographie abdominale sur tous nos patients afin d'inclure de façon plus certaine des chats sans pancréatite dans notre étude. Par ailleurs, il aurait été intéressant de compléter notre étude par une mesure du débit de filtration glomérulaire pour confirmer l'origine de l'augmentation de la lipase chez les chats atteints d'insuffisance rénale. Une mesure systématique de la SDMA chez tous nos patients aurait également été intéressante. Mieux encore, des études sur des chats présentant une insuffisance rénale induite expérimentalement sans évidence de pancréatite seraient théoriquement nécessaires pour évaluer directement l'influence de l'azotémie sur l'activité de la lipase sérique mais pour des raisons éthiques ne serait pas justifiables. Par ailleurs, nous avons cherché à évaluer une population de chats en insuffisance rénale dans une situation clinique. Il n'est pas surprenant de constater que beaucoup de nos chats, majoritairement âgé, avaient des maladies concomitantes. C'est pourquoi, il aurait été idéal de recruter des chats présentant uniquement une insuffisance rénale sans autre comorbidité ce qui pour des raisons pratiques serait difficilement réalisable. Lors de l'analyse secondaire, nous avons essayé d'éliminer cet effet en supprimant les patients présentant des maladies concomitantes mais le nombre limité de patients dans ce sous-groupe ne nous a pas permis d'en tirer des conclusions suffisantes. Enfin l'intervalle de référence pour la lipase DGGR n'a pas encore été évalué chez des chats en santé au sein de notre laboratoire avec une plus grande population que celle utilisée dans notre étude.

CONCLUSION

Pour conclure, nous avons conclu qu'une valeur de lipase DGGR augmentée devrait être interprétée avec précaution lors d'insuffisance rénale chez le chat. En effet, 37% (6/16) des chats ont des valeurs de lipase DGGR plus élevées que les valeurs de référence établies chez des chats en santé, pouvant ainsi mener à un diagnostic erroné de pancréatite. Un dosage quantitatif de la Spec fPL est donc recommandée dans l'évaluation des pancréatites lorsque la lipase DGGR est augmentée chez un chat présentant une insuffisance rénale. Une pancréatite sera toutefois considérée peu probable si la lipase DGGR est dans les valeurs usuelles lors d'insuffisance rénale.

BIBLIOGRAPHIE

- Adrian AM, Twedt DC, Kraft SL et al. Computed Tomographic Angiography under Sedation in the Diagnosis of Suspected Canine Pancreatitis: A Pilot Study. *J Vet Intern Med* 2015;29:97–103.
- Behrend EN, Kemppainen RJ. Glucocorticoid therapy. Pharmacology, indications, and complications. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1997; 27(2):187–213.
- Cohn-Urbach M, Ruaux CG, Nemanic S. Estimates of biologic variation in specific feline pancreatic lipase concentrations in cats without clinical or ultrasonographic evidence of pancreatitis. *Vet Clin Pathol* 2017; 46(4):615–619
- Collen MJ, Ansher AF, Chapman AB et al. Serum amylase in patients with renal insufficiency and renal failure. *Am J Gastroenterol* 1990;85:1377-1380.
- De Cock HEV, Forman MA, Farver TB et al. Prevalence and histopathologic characteristics of pancreatitis in cats. *Vet Pathol* 2007;44(1):39–49.
- Duerksen DR, TsangM, Parry DM. Chronic hyperlipasemia caused by sarcoidosis. *Dig Dis Sci* 2000;45:1545-1548.
- Fabris C, Basso D, Naccarato R. Urinary enzymes excretion in pancreatic diseases. Clinical role and pathophysiological considerations. *J Clin Gastroenterol* 1992;14(4):281-284.
- Ferreri JA, Hardman E, Kimmel SE et al. Clinical differentiation of acute necrotizing from chronic nonsuppurative pancreatitis in cats: 63 cases (1996-2001). *J Am Med Vet Assoc* 2003;223(4):469–474.
- Forman MA, Shiroma J, Armstrong PJ, et al. Evaluation of feline pancreas-specific lipase

- (Spec fPL) for the diagnosis of feline pancreatitis (abstr). *J Vet Intern Med* 2009; 165:733.
- Forman MA, Marks SL, De Cock HE, et al. Evaluation of serum feline pancreatic lipase immunoreactivity and helical computed tomography versus conventional testing for the diagnosis of feline pancreatitis. *J Vet Intern Med* 2004;18(6):807–815.
- Garcia-Gonzalez M, Defargues-Pons M, Monescillo A et al. Macrolipasemia and celiac disease. *Am J Gastroenterol* 1995;90:2233-2234.
- Goto H, Wakui H, Komatsuda A et al. Simultaneous macroamylasemia and macrolipasemia in a patient with systemic lupus erythematosus in remission. *Intern Med* 2000;39:1115-8.
- Graca R, Messick J, McCullough S et al. Validation and diagnostic efficacy of a lipase assay using the substrate 1,2-o-dilauryl-rac-glycero glutaric acid-(6'methyl resorufin)-ester for the diagnosis of acute pancreatitis in dogs. *Vet Clin Path* 2005; 34(1):39–43.
- Granger LA, Hilferty M, Francis T et al. Variability in the ultrasonographic appearance of the pancreas in healthy dogs compared to dogs with hyperadrenocorticism. *Vet Radiol Ultrasound* 2015; 56(5):540–548.
- Greenberger NJ, Toskes PP. Pancréatites aiguës et chroniques (chap. 304), dans : Braunwald E, Fauci AS Kasper DL et al. *Principes de médecine interne*. 15ème éd. Paris : Flammarion Médecine-Science, 2001;1792-1804.
- Hall JA, Yerramilli M, Obare E, et al. Relationship between lean body mass and serum renal biomarkers in healthy dogs. *J Vet Intern Med*. 2015;29(3):808–814.
- Hall JA, Yerramilli M, Obare E, et al. Comparison of serum concentrations of symmetric

- dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in cats with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med.* 2014;28(6):1676–1683.
- Hou SW, Lee YK, Hsu CY, et al. Increased risk of acute pancreatitis in patients with chronic hemodialysis: a 4-year follow-up study. *PLoS One* 2013;8(8):1–6
- Hill RC, Van Winkle TJ. Acute necrotizing pancreatitis and acute suppurative pancreatitis in the cat. A retrospective study of 40 cases (1976-1989). *J Vet Intern med* 1993;7(1):25–33.
- Hulsebosch SE, Palm CA, Segev G et al. Evaluation of Canine Pancreas-Specific Lipase Activity, Lipase Activity, and Trypsin-Like Immunoreactivity in an Experimental Model of Acute Kidney Injury in Dogs. *J Vet Intern Med* 2016;30(1):192–199.
- Langhorn R, Kieler IN, Koch J. Symmetric Dimethylarginine in cats with hypertrophic cardiomyopathy and diabetes mellitus. *J Vet Intern Med* 2018;32:57-63
- Levine RA, McGuire RF. Corticosteroid-induced pancreatitis: a case report demonstrating recurrence with rechallenge. *Am J Gastroenterol* 1988;83(10):1161–1164.
- Lévy P. Management of elevated pancreatic enzymes discovered by chance. *Gastroentérologie clinique et biologique* 2006;30:421-426.
- Lim SY, Nakamura K, Morishita K et al. Qualitative and Quantitative Contrast-Enhanced Ultrasonographic Assessment of Cerulein-Induced Acute Pancreatitis in Dogs. *J Vet Intern Med* 2014;28:496–503.
- Lim SY, Nakamura K, Morishita K et al. Quantitative Contrast-enhanced Ultrasonographic Assessment of Naturally Occurring Pancreatitis in Dogs. *J Vet Intern Med* 2015;29:71–78.

- Mansfield C, Beths T. Management of acute pancreatitis in dogs: a critical appraisal with focus on feeding and analgesia. *J Small Anim Pract* 2015;56(1):27–39.
- Mawby DI, Whittemore, Fecteau KA. Canine Pancreatic-Specific Lipase Concentrations in Clinically Healthy Dogs and Dogs with Naturally Occurring Hyperadrenocorticism. *J Vet Intern Med* 2014;28(4):1244–1250.
- Ohta H, Morita T, Yokoyama N et al. Serial measurement of pancreatic lipase immunoreactivity concentration in dogs with immune-mediated disease treated with prednisolone. *J Small Anim Pract* 2017;58(6):342–347.
- Okumura Y, Tamba J, Shintani Y et al. Macrolipasemia in Crohn's disease. *Pancreas* 1998;16:205-210.
- Oppliger S, Hartnack S, Reusch CE et al. Agreement of serum feline pancreas-specific lipase and colorimetric lipase assays with pancreatic ultrasonographic findings in cats with suspicion of pancreatitis: 161 cases (2008-2012). *J Am Med Vet Assoc* 2014;244(9):1060–1065.
- Oppliger S, Hartnack S, Riond B, et al. Agreement of the serum Spec fPL™ and 1,2-o-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6'-methylresorufin) ester lipase assay for the determination of serum lipase in cats with suspicion of pancreatitis. *J Vet Intern Med* 2013;27:1077–1082.
- Oppliger S, Hilbe M, Hartnack S, et al. Comparison of Serum Spec fPL™ and 1,2- o-Dilauryl-Rac-Glycero-3-Glutaric Acid-(6'-Methylresorufin) Ester Assay in 60 Cats Using

- Standardized Assessment of Pancreatic Histology. *J Vet Intern Med* 2016;764-770.
- Parent J. Effects of dexamethasone on pancreatic tissue and on serum amylase and lipase activities in dogs. *J Am Med Vet Assoc* 1982;180(7):743–746.
- Polzin DJ, Osborne CA, Stevens JB, et al. Serum amylase and lipase activities in dogs with chronic primary renal failure. *Am J Vet Res* 1983;44:404–410.
- Ruau CG. Feline pancreatitis: diagnosis and treatment, dans : Ettinger SJ, Feldman AC, Côté E eds. *Textbook of veterinary internal medicine*. 8th ed. St Louis: Saunders, 2017;1688–1993.
- Satake K, Kanazawa G, Hiura A et al. Renal function in experimentally induced acute pancreatitis in dogs: how it is affected by the nephrotoxic substance in pancreatic exudate from ascitic fluid. *Jpn J Surg* 1991;21(1):88–95.
- Saunders MH, VanWinkle TJ, Drobatz K et al. Ultrasonographic findings in cats with clinical, gross pathologic, and histologic evidence of acute pancreatic necrosis: 20 cases (1994-2001). *J Am Med Vet Assoc* 2002;221(12):1724–1730.
- Steiner JM, Teague SR, Lees GE et al. Stability of canine pancreatic lipase immunoreactivity concentration in serum samples and effects of long-term administration of prednisone to dogs on serum canine pancreatic lipase immunoreactivity concentrations. *Am J Vet Res* 2009;70(8):1001–1005.
- Steiner JM, Finco DR, Williams DA. Serum lipase activity and canine pancreatic lipase immunoreactivity (cPLI) concentration in dogs with experimentally induced chronic renal

failure. *Vet Res* 2010;3:58–63.

Stockhaus C, Teske E, Schellenberger K. Serial serum feline pancreatic lipase immunoreactivity concentrations and prognostic variables in 33 cats with pancreatitis. *J Am Med Vet Assoc* 2013; 243(12):1713-1718

Thierry FX, Dueymes JM, Vernier I, Conte JJ. Place de l'hémodialyse et des échanges plasmatiques dans l'épuration du méthotrexate. *Presse Med* 1988;17:2356.

Toskes PP, Greenberger NJ. Maladie du pancréas (chap. 303), dans : Braunwald E, Fauci AS Kasper DL et al. *Principes de médecine interne*. 15^{ème} éd. Paris : Flammarion Médecine-Science, 2001;1788-1792.

Wagner AE, Macy DW. Nephelometric determination of serum amylase and lipase in naturally occurring azotemia in the dog. *Am J Vet Res* 1982; 43(4):697-699.

Washabau RJ. Pancreas (chap. 60), dans Washabau RJ, Day MJ *Canine and feline gastroenterology*. St-Louis: Saunders, 2013;799-848.

Williams JM, Panciera DL, Larson MM et al. Ultrasonographic Findings of the Pancreas in Cats with Elevated Serum Pancreatic Lipase Immunoreactivity. *J Vet Intern Med* 2013;27(4):913–918.

Xenoulis PG, Jörg Steiner. Laboratory approach: pancreas, dans Washabau RJ, Day MJ *Canine and feline gastroenterology*. St-Louis: Saunders, 2013;189-195.

Xenoulis PG, Steiner JM. Canine and feline pancreatic lipase immunoreactivity. *Vet Clin pathol* 2012;41(3):312–324.

Xenoulis PG, Finco DR, Suchodolski JS, et al. Serum fPLI and Spec fPL concentrations in cats with experimentally induced chronic renal failure (abstr). J Vet Intern Med 2009; 250:786.

Annexe 1 : Formulaire d'approbation du comité d'éthique de l'utilisation des animaux (CÉUA)



Le 6 mai 2016

Madame Marilyn Dunn
Professeure titulaire
Faculté de médecine vétérinaire – département de sciences cliniques

Madame Dunn,

À la suite de l'évaluation de votre demande d'autorisation d'utiliser des animaux pour le projet :

Projet : 16-Rech-1831
Titre : Concentration sérique de la lipase DGGR lors de maladie rénale chez le chat en l'absence de pancréatite
Date d'échéance de l'autorisation d'utiliser les animaux : 1^{er} mai 2017

Le Comité d'éthique de l'utilisation des animaux (CÉUA) vous remercie pour les réponses fournies et **approuve votre nouveau projet.**

Le secrétariat du CÉUA vous enverra sous peu une fiche d'autorisation d'utiliser des animaux. L'autorisation du CÉUA est valide pour une période **d'un an.**

Je demeure à votre entière disposition pour toute information supplémentaire et vous prie de recevoir, Madame Dunn, mes meilleures salutations.

Le président du CÉUA,

c.c. Anne-Sophie Bua, résidente

- Il est important de noter le numéro de votre projet pour commander vos animaux et réserver des espaces d'hébergement (Normand Lacasse : tél. : 8303, courriel : normand.lacasse@umontreal.ca).
- Toute approbation d'utilisation d'animaux vivants à des fins d'enseignement ou de recherche par le CÉUA est conditionnelle à la disponibilité du personnel technique et animalier (ressources humaines) nécessaires, des locaux et de l'équipement appropriés à l'hébergement des animaux.
- Le CÉUA se réserve le droit de s'assurer que le déroulement du projet en temps réel est conforme au protocole approuvé par le comité dans le cadre de son programme de soutien post-approbation.

Annexe 2 : Formulaire de consentement éclairé.



Consentement Eclairé :
**Participation à l'étude sur la concentration sérique de la lipase DGGR lors de
maladie rénale chez le chat**

Je soussigné _____, propriétaire du chat
_____ (N° Dossier _____) accepte que mon
animal participe à une étude réalisée par le service de Médecine Interne en partenariat avec
le laboratoire de pathologie clinique.

J'accepte que soit réalisé sur mon animal une prise de sang. Cet échantillon est prélevé dans
le but de faire avancer la recherche en médecine vétérinaire, et plus particulièrement dans le
diagnostic de pancréatite chez les chats atteints d'insuffisance rénale. Les risques associés à
la prise de sang sont mineurs et inclus notamment : un hématome cutané. Les risques associés
à la prise d'urine réalisée sous contrôle échographique sont également mineurs et
exceptionnels et inclus : pénétration d'une anse digestive, brèche vésicale et hématome. Le
propriétaire peut retirer son animal de l'étude en tout temps s'il le souhaite.

A Saint-Hyacinthe, le ___/___/___

Signature du propriétaire

Signature du responsable

Coordonnées du responsable de projet à contacter en cas d'urgence ou pour des questions :
Dre Anne-Sophie Bua
Faculté de Médecine Vétérinaire,
3200 Rue Sicotte, Saint-Hyacinthe, QC
/

Annexe 3 : Autorisation de déposer votre mémoire de maîtrise sous la forme d'article.



Faculté de médecine vétérinaire
Secrétariat aux affaires étudiantes

Le 23 juillet 2018

Madame Anne-Sophie Bua
Étudiante à la maîtrise
Faculté de médecine vétérinaire

Matricule :

Programme : 2-581-1-0, M. Sc. sciences vétérinaires
Directrice de recherche : Marilyn Dunn

Objet : Autorisation de déposer votre mémoire de maîtrise sous forme d'article

Madame,

Comme suite à votre demande, j'ai le plaisir de vous autoriser à présenter votre mémoire de maîtrise sous forme d'article. Il est entendu que vous devrez vous soumettre aux conditions minimales de dépôt décrites dans le « Guide de présentation et d'évaluation des mémoires de maîtrise et des thèses de doctorat ». Ce document est disponible sur le site de la FESP. Vous pouvez également vous le procurer à la Librairie de l'Université de Montréal.

Pendant, afin de respecter la loi canadienne sur les droits d'auteurs, vous devrez obtenir les autorisations (accord des coauteurs et permission de l'éditeur) pour tous les articles inclus dans votre mémoire. Ces preuves ne sont toutefois pas exigées lors du dépôt.

Je vous prie d'accepter, Madame, l'expression de mes sentiments les meilleurs.

La vice-doyenne aux affaires académiques et étudiantes,

Marie Archambault, DMV, MSc, PhD, Dipl. ACVM

MA/cb

Copie : Marilyn Dunn
FESP

3200, rue Sicotte
Saint-Hyacinthe, Québec
Canada J2S 2M2

Téléphone : 450 773-8521 - 514 345-8521
1^{er} cycle : postes 8271, 8364
2^e et 3^e cycles : postes 8520, 8224 et 8607

Télécopieur : 450 778-8101
saefmv@medvet.umontreal.ca