

11805274

Université de Montréal

**L'INDEX DE LA N-ACÉTYL- β -D-
GLUCOSAMINIDASE COMME BIOMARQUEUR
PRÉCOCE DE L'INSUFFISANCE RÉNALE
CHRONIQUE CHEZ LE CHAT HYPERHYPERTHYROÏDIEN**

par

Catherine Lapointe

Département des sciences cliniques
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise ès Sciences (M.Sc.)
en sciences vétérinaires
option sciences cliniques

Avril, 2007



SF

607

U54

2007

V-014

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

L'index de la n-acétyl- β -D-glucosaminidase comme biomarqueur précoce de l'insuffisance
rénale chronique chez le chat hyperthyroïdien

présenté par :
Catherine Lapointe

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Pierre Hélie, président-rapporteur
Christian Bédard, directeur de recherche
Marie-Claude Bélanger, codirectrice de recherche
Marilyn Dunn, codirectrice de recherche
Marie-Ève Nadeau, membre du jury

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'utilité diagnostique de l'index de la n-acétyl- β -D-glucosaminidase (NAG_i) dans le dépistage précoce de l'insuffisance rénale chronique (IRC) chez le chat hyperthyroïdien non-traité. Dix chats en santé et vingt-quatre chats hyperthyroïdiens sans évidence biochimique d'IRC et ont été recrutés et évalués pour l'hyperthyroïdie (HT₄) incluant la mesure du NAG_i (Évaluation 1). Les chats hyperthyroïdiens ont reçu un traitement de méthimazole et ont été réévalués à l'atteinte de l'euthyroïdie (Évaluation 2) et trois mois après (Évaluation 3). À la fin de l'étude, trois groupes ont été définis: les chats en santé, euthyroïdiens normaux (NE) et euthyroïdiens avec IRC (ECRI). Le NAG_i de l'Évaluation 1 était significativement différent entre les groupes ($P=.004$) seulement pour les ECRI (médiane, 13.12 U/g) et les chats en santé (médiane, 1.38 U/g). Les valeurs prédictives négative et positive pour l'IRC d'un NAG_i > 2.76 U/g étaient de 77.7% et de 50% et celles de la combinaison d'une densité urinaire (DU) \leq 1.035 et d'une thyroxine totale (T₄) \geq 100 nmol/L étaient de 88.9% et de 83.3%. Le NAG_i a diminué suite au traitement chez les NE seulement. Le NAG_i n'a pas permis de dépister l'IRC au diagnostic de l'HT₄, mais représente un biomarqueur de dommages rénaux actifs lors d'HT₄. La combinaison DU-T₄ est un biomarqueur précoce de l'IRC lors d'HT₄ féline et permet la sélection d'un traitement définitif de l'HT₄. Le NAG_i serait utile pour suivre la fonction rénale au cours d'un traitement médical à long terme.

Mots-clés : Enzymurie; Félin; Densité urinaire; DU; Hyperthyroïdie; Insuffisance rénale chronique; N-acétyl- β -D-glucosaminidase; NAG; NAG_i; Thyroxine.

Abstract

The objective of this study was to investigate the diagnostic utility of the n-acetyl- β -D-glucosaminidase index (NAG_i) in the early identification of chronic renal insufficiency (CRI) in cats with hyperthyroidism (HT₄). Ten healthy cats and twenty-four newly diagnosed hyperthyroid cats without biochemical evidence of CRI were included in the study. All cats were evaluated for HT₄, including measurement of NAG_i (Evaluation 1). Hyperthyroid cats were reevaluated following a treatment with methimazole at euthyroidism (Evaluation 2) and three months later (Evaluation 3). At the end of the study, three groups were defined: healthy cats, normal euthyroid cats (NE) and euthyroid cats newly diagnosed with CRI (ECRI). NAG_i was significantly different between groups ($P=.004$), with only a significantly higher value in ECRI cats (median, 13.12 U/g) compared with healthy cats (median, 1.38 U/g). The negative and positive predictive values for CRI of a NAG_i > 2.76 U/g were 77.7% and 50% and of the combination of a urinary specific gravity (USG) \leq 1.035 with a T₄ \geq 100 nmol/L were of 88.9% and 83.3% respectively. NAG_i decreased between Evaluations 1 and 3 in NE, but not in ECRI. NAG_i did not differentiate NE from CRI cats at the diagnosis, but was found to be a biomarker for active renal damage during HT₄. The combination USG-T₄ is an early biomarker for CRI in feline HT₄ and is useful for identifying good candidates for definitive treatment. NAG_i could also be used to assess renal function during long term medical management.

Keywords : Chronic kidney disease; Chronic renal insufficiency; Enzymuria; Feline; Hyperthyroidism; N-acetyl- β -D-glucosaminidase; NAG; NAG_i; Urinary specific gravity; USG; Thyroxine.

Table des matières

RÉSUMÉ	III
ABSTRACT	IV
LISTE DES TABLEAUX.....	VII
LISTE DES FIGURES.....	VIII
LISTE DES ABRÉVIATIONS	IX
DÉDICACE.....	XI
REMERCIEMENTS	XII
INTRODUCTION.....	1
<u>CHAPITRE PREMIER : RECENSION DE LITTÉRATURE</u>	<u>5</u>
L'INSUFFISANCE RÉNALE CHRONIQUE (IRC) CHEZ LE CHAT HYPERTHYROÏDIEN.....	6
<i>Prévalence de l'IRC dans la population générale.....</i>	<i>6</i>
<i>Prévalence de l'IRC lors du diagnostic d'hyperthyroïdie (HT₄).....</i>	<i>7</i>
<i>Prévalence de l'IRC suite au traitement de l'HT₄.....</i>	<i>7</i>
<i>Pathophysiologie de l'IRC lors d'HT₄.....</i>	<i>8</i>
<i>Le diagnostic de l'IRC et de l'HT₄ concomitantes</i>	<i>13</i>
<i>Détection des dommages rénaux lors d'HT₄.....</i>	<i>14</i>
L'ENZYMURIE	16
<i>Généralités</i>	<i>16</i>
<i>L'enzymurie tubulaire proximale</i>	<i>16</i>
LA N-ACÉTYL-β-D-GLUCOSAMINIDASE	19
<i>Caractéristiques</i>	<i>19</i>
<i>L'index de la n-acétyl-β-D-glucosaminidase.....</i>	<i>20</i>
LA NAG COMME BIOMARQUEUR DE DOMMAGES RÉNAUX.....	23
<i>Dommages rénaux aigus</i>	<i>23</i>
<i>Dommages rénaux chroniques</i>	<i>26</i>
<u>CHAPITRE DEUXIÈME : PRÉSENTATION DE L'ARTICLE</u>	<u>31</u>
"N-ACETYL-β-D-GLUCOSAMINIDASE INDEX AS AN EARLY BIOMARKER FOR CHRONIC RENAL INSUFFICIENCY IN CATS WITH HYPERTHYROIDISM"	31
ABSTRACT	32
MATERIALS AND METHODS	36
<i>Cats</i>	<i>36</i>

<i>Study design</i>	36
<i>Data collection and analysis</i>	37
<i>Statistical analysis</i>	38
RESULTS	39
<i>Cats</i>	39
<i>Data from evaluation 1</i>	39
<i>NAG, over time</i>	41
DISCUSSION	42
CONCLUSION.....	48
TABLES	49
FIGURES.....	51
FOOTNOTES.....	56
FOOTNOTES.....	56
REFERENCES	57
<u>CHAPITRE TROISIÈME : DISCUSSION</u>	62
CONCLUSION	70
BIBLIOGRAPHIE	72

Liste des tableaux

Chapitre premier : Révision de littérature

Tableau I Molécules impliquées dans la pathophysiologie de l'insuffisance rénale chronique lors d'hyperthyroïdie.....	10
Tableau II Proportion de l'activité enzymatique de la n-acétyl-β-D-glucosaminidase conservée (%) suite à la congélation des échantillons d'urine à -20°C et à -70°C pour différentes périodes de temps.....	22

Chapitre second : Présentation de l'article

Table I Medians of n-acetyl-β-D-glucosaminidase index, serum creatinine, total thyroxine and urinary specific gravity from Evaluation 1 in healthy, normal euthyroid cats and euthyroid chronic renal insufficient cats.....	49
Table II Positive predictive value and negative predictive value of n-acetyl-β-D-glucosaminidase index, serum creatinine, total thyroxine and urinary specific gravity from Evaluation 1 to predict chronic renal insufficiency in cats with hyperthyroidism.	50

Liste des figures

Chapitre premier : Recension de littérature

Figure 1 Pathogénèse de l'augmentation du débit cardiaque par l'excès de triiodothyronine	11
---	----

Chapitre second : Présentation de l'article

Fig. 1 Median n-acetyl- β -D-glucosaminidase index (U/g) at Evaluation 1 in healthy (n=10), normal euthyroid (n=17) and euthyroid chronic renal insufficient cats (n=7). N-acetyl- β -D-glucosaminidase index was significantly higher in normal euthyroid and euthyroid chronic renal insufficient cats compared to healthy cats ($P=.004$). The horizontal line represents the upper limit of n-acetyl- β -D-glucosaminidase established in this study (≤ 2.76 U/g).	51
Fig. 2 Median urinary specific gravity at Evaluation 1 in healthy (n=10), normal euthyroid (n=17) and euthyroid chronic renal insufficient cats (n=7). USG was significantly higher in normal euthyroid compared with euthyroid chronic renal insufficient cats ($P=.024$). The horizontal line represents the lower limit of normal for urinary specific gravity established in this study (>1.035).	52
Fig. 3 Median total thyroxine (nmol/L) at Evaluation 1 in normal euthyroid (n=17) and euthyroid chronic renal insufficient cats (n=7). Total thyroxine was significantly higher in normal euthyroid compared to euthyroid chronic renal insufficient cats ($P=.047$). The horizontal line represents total thyroxine values lower than 100 nmol/L.	53
Fig. 4 Mean n-acetyl- β -D-glucosaminidase (U/g) over time with treatment in normal euthyroid cats (n=17). N-acetyl- β -D-glucosaminidase was significantly different between Evaluations 1 and 3 ($P=.0008$). Error bar represents standard deviation.	54
Fig. 5 Mean n-acetyl- β -D-glucosaminidase (U/g) over time with treatment in euthyroid chronic renal insufficient cats (n=7). N-acetyl- β -D-glucosaminidase was not significantly different between Evaluations 1 and 3 ($P<.05$). Error bar represents standard deviation.	55

Liste des abréviations

^{131}I :	<i>radioactive iodine</i>
AAP :	alanine aminopeptidase
Ang II :	angiotensine II; <i>angiotensin II</i>
CRI :	<i>chronic renal insufficiency</i>
CR _s :	créatinine sérique; <i>serum creatinine</i>
DU :	densité urinaire
ECRI :	chats euthyroïdiens atteints d'IRC; <i>euthyroid chronic renal insufficient cats</i>
Epo :	érythropoïétine
ET :	euthyroïdie; <i>euthyroidism</i>
GFR :	<i>glomerular filtration rate</i>
GGT :	γ-glutamyl-transférase
GN :	glomérulonéphrite
HT ₄ :	hyperthyroïdie; <i>hyperthyroidism</i>
I ¹³¹ :	iode radioactif
IRC :	insuffisance rénale chronique
LDH :	lactate deshydrogénase
NAG :	n-acétyl-β-D-glucosaminidase; <i>n-acetyl-β-D-glucosaminidase</i>
NAG _i :	index de la n-acétyl-β-D-glucosaminidase; <i>n-acetyl-β-D-glucosaminidase index</i>
NAG-A :	isoenzyme A de la n-acétyl-β-D-glucosaminidase
NAG _i -A :	index de l'isoenzyme A de la n-acétyl-β-D-glucosaminidase
NAG-B :	isoenzyme B de la n-acétyl-β-D-glucosaminidase
NAG _i -B :	index de l'isoenzyme B de la n-acétyl-β-D-glucosaminidase
NE :	chats euthyroïdiens normaux; <i>normal euthyroid cats</i>
NPV :	<i>negative predictive value</i>
OVH :	ovariohystérectomie
PAL :	phosphatases alcalines
PDGF :	<i>platelet derived growth factor</i>
PMN :	polymorphonucléaires

PPV :	<i>positive predictive value</i>
SRAA :	système rénine-angiotensine-aldostérone
T ₄ :	thyroxine totale; <i>total thyroxine</i>
TGF-β1 :	<i>transforming growth factor-β1</i>
TFG :	taux de filtration glomérulaire
USG :	<i>urinary specific gravity</i>
VPN :	valeur prédictive négative
VPP :	valeur prédictive positive

*À Matthew,
pour tout l'amour, l'humour, la perspicacité
et la remise en perspective...*

Remerciements

Un projet naît, on apprend à le connaître et le défi est de le maîtriser. À certains moments il nous dépasse, à d'autres il devient notre complice. Puis, il évolue et prend forme. Vers la fin, on le voit et le veut terminé, mais c'est aussi là qu'il nous réserve le plus de surprise. À la veille de son issue, on n'a plus envie de le quitter...

Il incline la tête et plisse les yeux : rien ne va plus, il a détecté quelque chose qui cloche... À chaque analyse, son œil de lynx détectait quelque chose à investiguer, à paufiner, à retravailler. Merci pour l'esprit critique de mon directeur, Christian Bédard. Grâce à lui, j'ose regarder les statistiques quand je lis un article!

Merci pour le dynamisme et l'optimisme de ma co-directrice, Marie-Claude Bélanger. Elle a cru en moi dès départ et m'a fait envisager et accomplir de nouveaux défis, comme la présentation des résultats de cette recherche à la conférence de l'*ACVIM*.

Merci pour la logique et la générosité de ma co-directrice, Marilyn Dunn. Elle a su être le fil conducteur de ce beau projet depuis le début.

Merci à Maxim Moreau pour les statistiques et la patience d'avoir refait, refait et refait encore les figures.

Merci à Diane Blais qui m'a encouragée à débiter, puis à poursuivre; qui est un modèle pour moi depuis longtemps et qui m'a fait connaître tout ses protégés.

Merci à Novartis Animal Health Canada et à la Faculté de médecine vétérinaire sans qui ce projet n'aurait pu débiter.

Introduction

L'hyperthyroïdie féline (HT₄) est récemment devenue l'endocrinopathie la plus fréquemment rencontrée chez les chats d'âge moyen à avancé.¹ L'excès prolongé d'hormones thyroïdiennes endommage le tissu rénal en diminuant la résistance vasculaire des artéριοles^{2,3} et en augmentant l'activité de la rénine.^{4,5} Ces deux mécanismes résultent en une augmentation de l'activité du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) et sont ainsi responsables de niveaux augmentés d'angiotensine II (AII) chez le chat hyperthyroïdien. L'excès d'AII fait croître et active directement les fibroblastes et les myocytes au niveau rénal et indirectement par l'intermédiaire de l'augmentation de différents facteurs de croissances, dont le *transforming growth factor-β1*.^{6,7} L'AII induit également une vasoconstriction locale directe et la promouvoie indirectement par l'augmentation de production d'endothéline. En somme, l'AII induit des processus fibrogéniques au niveau rénal⁶, ce qui peut mener à une néphrite tubulo-interstitielle.^{6,8} En conséquence, la proportion de chats hyperthyroïdiens souffrant de maladie rénale chronique est plus élevée que dans la population féline gériatrique.^{9,10} En réalité, plus de 15% des chats nouvellement diagnostiqués avec l'HT₄ sont atteints d'insuffisance rénale chronique (IRC).¹¹⁻¹⁴

La fonction rénale du chat hyperthyroïdien est modifiée aussi longtemps que l'HT₄ perdure.^{15,16} L'augmentation des hormones thyroïdiennes élève le taux de filtration glomérulaire (TFG) et le débit sanguin rénal et ce faisant, diminue les niveaux de créatinine sérique (Cr_s) et d'urée. En conséquence, le niveau de Cr_s lors du diagnostic de l'HT₄ n'est pas un outil fiable pour prédire quelle sera la fonction rénale suite au contrôle de l'HT₄ puisque la Cr_s est faussement abaissée par l'hyperthyroxinémie. Concrètement, près de 35% des chats ayant des paramètres biochimiques rénaux normaux au moment du diagnostic de l'HT₄ seront atteints d'IRC à l'euthyroïdie (ET) puisque l'HT₄ masque l'IRC.^{13,16-18}

Les maladies rénales chroniques étaient la première cause de mortalité ou d'euthanasie dans une étude rétrospective de 251 chats traités à l'iode radioactif (I¹³¹)¹⁹ et après l'âge, le deuxième facteur pré-traitement associé négativement à la survie.¹¹ L'identification de maladies rénales chroniques chez le chat nouvellement diagnostiqué avec l'HT₄ est donc

cruciale afin d'améliorer son devenir: elle permet la sélection éclairée du traitement de l'HT₄ (définitif à l'aide de l'ablation chirurgicale ou du traitement à l'iode radioactif ou réversible à l'aide d'un traitement médical au méthimazole) et le début hâtif de traitements protecteurs de la fonction rénale. Depuis quelques années, plusieurs marqueurs ont été considérés afin d'identifier l'IRC dès le diagnostic de l'HT₄. Parmi ceux-ci, la densité urinaire^{13,16,20}, la cystatine C sérique²¹, le TFG et la Cr_s¹⁶⁻¹⁸ ont été évalués. Actuellement, aucun biomarqueur fiable et pratique n'existe pour identifier l'IRC chez le chat hyperthyroïdien.

L'enzymurie est la présence d'enzymes dans l'urine. Ces enzymes originent du plasma et sont filtrées par le glomérule, ou originent du glomérule, du tubule contourné proximal ou distal, de l'anse de Henle, du tubule collecteur, de la vessie ou de la prostate.²²

La n-acétyl-β-D-glucosaminidase (NAG) est une glycosidase lysosomale des cellules épithéliales du tubule contourné proximal. Elle est reconnue comme étant un marqueur spécifique de dommages tubulaires proximaux chez plusieurs espèces.²³⁻²⁵ Son augmentation dans l'urine par rapport à la normale reflète des dommages actifs aux cellules épithéliales. La NAG peut donc être utilisée comme marqueur dans le diagnostic de différentes pathologies rénales et dans le suivi de maladie rénale aiguë ou chronique. Puisque l'excrétion urinaire de la Cr_s est relativement constante dans le temps, la NAG est exprimée par l'index de la n-acétyl-β-D-glucosaminidase (U/g) (NAG_i), qui représente son ratio par rapport à la créatinine urinaire.^{26,27} Il a été démontré, chez l'homme et l'animal, que le NAG_i peut servir à identifier précocement une multitude de maladies rénales chroniques.²⁸⁻³⁰ Lors de glomérulonéphrite chronique ou de néphrite tubulo-interstitielle, le NAG_i est également prometteur pour évaluer la réponse au traitement et aurait une valeur comme indicateur pronostic.^{31,32} Une étude de *Sato et al.* chez le chat a révélé un NAG_i significativement plus élevé lors d'IRC comparativement à celui de chats en santé.³³

Le premier objectif de cette étude était d'identifier un marqueur pré-traitement de l'IRC chez le chat hyperthyroïdien qui a une Cr_s inférieure à 180 μmol/L au moment du diagnostic de l'HT₄. La sensibilité du NAG_i pour identifier les dommages tubulaires

proximaux et la prévalence élevée d'IRC chez le chat hyperthyroïdien suite au traitement de l'HT₄ nous a mené à émettre l'hypothèse que les chats hyperthyroïdiens ayant un NAG_i normal au moment du diagnostic auraient une fonction rénale normale à l'atteinte de l'ET. Par ailleurs, les chats ayant une maladie rénale masquée au moment du diagnostic de l'HT₄ auraient un NAG_i élevé et seraient en IRC à l'ET. Le deuxième objectif de cette étude était d'évaluer si le NAG_i est un bon biomarqueur de dommages tubulaires actifs chez le chat hyperthyroïdien. Puisqu'une élévation du NAG_i représente des dommages aux cellules épithéliales tubulaires, la correction de l'HT₄ devrait résulter en une diminution du NAG_i comparativement à l'état d'HT₄.

Chapitre premier : Recension de littérature

L'insuffisance rénale chronique (IRC) chez le chat hyperthyroïdien

La médecine vétérinaire et les outils diagnostiques et thérapeutiques à la disposition du praticien vétérinaire se sont grandement développés depuis quelques décennies. Les animaux de compagnie se voient dorénavant jouir d'une identification plus rapide des maladies pouvant les affecter et de traitements plus efficaces. En conséquence, les populations félines et canines vieillissent et une augmentation de la prévalence de certaines maladies gériatriques est observée. Parmi celles-ci, l'hyperthyroïdie (HT₄) féline connaît une augmentation de prévalence marquée depuis les 20 dernières années.

Chez le chat hyperthyroïdien, la maladie rénale était respectivement la première¹⁹ et la deuxième³⁴ cause de mortalité ou d'euthanasie dans deux études rétrospectives incluant 251 et 524 chats traités à l'iode radioactif (I¹³¹). Dans la première étude, l'insuffisance rénale chronique (IRC) et la néoplasie étaient les deux seuls facteurs associés négativement à la survie. Dans la seconde étude, l'IRC a causé 30% des décès. Dans une troisième étude¹¹, la présence d'une maladie rénale avant le début du traitement pour l'HT₄ était le seul facteur pré-traitement associé négativement à la survie chez 167 chats. Ainsi, les complications rénales reliées à l'HT₄ méritent une investigation afin de diminuer les décès qui y sont reliés.

Prévalence de l'IRC dans la population générale

Une étude multicentrique regroupant 23 écoles vétérinaires en Amérique du Nord a démontré qu'entre 1980 et 1990, la prévalence de l'IRC chez le chat est passée de 0,4% à 1,6%.³⁵ Une attention particulière aux patients gériatriques a révélé que 63% des chats atteints d'IRC ont 10 ans ou plus. Cette étude a aussi révélé que 7,7% des chats âgés de 10 ans ou plus sont atteints d'IRC et ce pourcentage augmente à 15,3% chez les chats de plus de 15 ans. Un recensement de 226 chats présentés dans 5 établissements vétérinaires du Minnesota et du Dakota du sud entre 1992 et 1994 a révélé une prévalence de 1,9% pour l'IRC.¹⁰ Une autre étude rétrospective a démontré que 31% des chats de plus de 15 ans présentés au Veterinary Medical Teaching Hospital de l'Université du Minnesota souffrent

d'IRC.⁹ Une étude plus récente rapporte une prévalence de 5,8% dans la population féline australienne.³⁶

Prévalence de l'IRC lors du diagnostic d'hyperthyroïdie (HT₄)

Une publication sur l'HT₄ féline publiée en 1980 n'a identifié aucun cas d'IRC chez les 10 chats hyperthyroïdiens étudiés.³⁷ Par la suite, trois études sont parues dans lesquelles 20% de 131¹², 23% de 202²⁰ et 15,5% de 58 chats hyperthyroïdiens¹³ démontraient une augmentation de la créatinine sérique (Cr_s) au moment du diagnostic de l'HT₄. La densité urinaire de ces chats n'est toutefois pas spécifiée. Il est donc impossible de déterminer si ces patients étaient réellement atteints d'IRC.

D'autres études ont cité directement la présence de maladie rénale au moment du diagnostic de l'HT₄. Dans une première, entre 1985 et 1990, la prévalence d'IRC était de 5% chez 231 nouveaux cas d'HT₄.¹⁹ Dans une seconde, la prévalence d'azotémie rénale était de 27% avant le début du traitement chez 22 chats hyperthyroïdiens.¹⁴ Enfin, 14% de 167 chats hyperthyroïdiens étaient atteints de maladie rénale avant le début du traitement.¹¹ Les critères définissant l'azotémie rénale ou la maladie rénale ne sont pas mentionnés dans ces études.

Dans les études énumérées ci-haut, 123 des 821 chats hyperthyroïdiens (15%) seraient potentiellement en IRC au moment du diagnostic de l'HT₄. Par contre, cet estimé peut être biaisé par les critères d'inclusion de l'IRC des différentes études citées. Bien que discordantes quant à leur méthodologie et à leurs résultats, ces études suggèrent que la prévalence de l'IRC chez le chat hyperthyroïdien non traité est plus élevée que dans la population générale. Un chat hyperthyroïdien est plus à risque de développer de l'IRC qu'un chat ne souffrant pas de cette endocrinopathie.

Prévalence de l'IRC suite au traitement de l'HT₄

Plusieurs chats hyperthyroïdiens n'ayant pas d'évidence biochimique d'IRC au moment du diagnostic (Cr_s < 180 nmol/L et/ou densité urinaire > 1,035) sont atteints d'IRC à l'atteinte de l'euthyroïdie (ET). Une attention particulière est portée à ce phénomène depuis 1994.

Une première publication rapportait que 46% de 13 chats hyperthyroïdiens ont développé une augmentation de la Cr_s et 30,7% de l'urée 30 jours après une thyroïdectomie.¹⁷ Par la suite, chez 13¹⁸ et 231¹⁹ chats hyperthyroïdiens ayant un profil biochimique rénal normal au moment du diagnostic et qui ont ensuite été traités à l'I¹³¹, 38,5% et 33% étaient respectivement diagnostiqués en IRC suite au traitement. En 2000, une étude incluant 12 chats hyperthyroïdiens traités au méthimazole a révélé que 17% d'entre eux démontraient une augmentation de la Cr_s et une densité urinaire inférieure à 1,035 à l'atteinte de l'ET.¹⁶ Enfin, 63% de 16 chats atteints d'HT₄ et traités à l'I¹³¹ étaient atteints d'IRC un mois après le traitement.³⁸

En moyenne, près de 35% des chats de ces publications ayant un profil biochimique rénal normal au moment du diagnostic d'HT₄ étaient en IRC à l'atteinte de l'ET. Ce pourcentage étant supérieur à la prévalence de l'IRC dans la population féline générale de même âge, il est stipulé que l'HT₄ favorise le développement d'IRC.

Pathophysiologie de l'IRC lors d'HT₄

Plusieurs changements hémodynamiques surviennent lors d'HT₄, dont une activation du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) et une augmentation du débit cardiaque et de la pression sanguine systémique. Ces paramètres, en induisant principalement des dommages tubulo-interstitiels, mais également glomérulaires, peuvent mener à l'IRC.

Activation du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA)

Deux mécanismes sont responsables de l'activation du SRAA lors d'HT₄. Premièrement, la triiodothyronine relaxe les cellules musculaires lisses au niveau des artérioles de la circulation périphérique.³ La diminution de résistance périphérique qui s'ensuit active le SRAA. Deuxièmement, l'excès de triiodothyronine augmente la sensibilité des récepteurs β -adrénergiques de l'appareil juxtaglomérulaire rénal.^{5,39} La liaison β -adrénergique à ce niveau stimule la relâche de rénine. Le SRAA est directement activé par l'augmentation de l'activité de la rénine.^{3,4} L'activation du SRAA chez le chat hyperthyroïdien fait suite à différents mécanismes, augmentant d'autant plus ses effets néfastes sur la fonction rénale.

Le SRAA, l'angiotensine II et la fibrose tubulo-interstitielle

On croyait antérieurement que l'activation du SRAA induisait une hypertension systémique qui était à elle seule responsable des dommages rénaux.^{2,40} L'hypertension systémique induit effectivement une hypertension glomérulaire, et des dommages mécaniques aux capillaires glomérulaires en résultent.⁴¹ Des études récentes démontrent toutefois que l'hypertension systémique n'est pas la principale responsable des dommages rénaux lors de l'activation du SRAA, mais qu'un second mécanisme entre en jeu.

En fait, l'initiation de la détérioration de la fonction rénale lors de l'activation du SRAA repose principalement sur les effets de l'angiotensine II (AII). Celle-ci joue un rôle primordial en favorisant la fibrose tubulo-interstitielle.^{6,7}

Premièrement, l'AII se lie à ses récepteurs rénaux, dont le récepteur de type 1 de l'AII. Cette liaison induit une vasoconstriction directe, entre autres au niveau de l'artère rénale efférente. Cette vasoconstriction mène à une augmentation de pression intra-glomérulaire, résultant en dommages mécaniques directs et en protéinurie qui peut endommager davantage le néphron (voir explication dans la section suivante). De plus, la liaison de l'AII à ses récepteurs induit localement une stimulation de la croissance et une activation des fibroblastes et des myocytes. L'AII active ainsi directement la fibrogenèse rénale.

Deuxièmement, l'AII augmente l'expression des gènes codant pour le *platelet derived growth factor* (PDGF) et le *transforming growth factor-β1* (TGF-β1). Le PDGF stimule la production supplémentaire de TGF-β1 et la prolifération mésangiale. Le TGF-β1 attire et stimule les fibroblastes et stimule la production d'endothéline. L'augmentation du nombre de cellules mésangiales favorise une augmentation proportionnelle de production de rénine. Enfin, le TGF-β1 stimule aussi la synthèse et inhibe la dégradation de protéines matricielles. Puisque l'augmentation d'endothéline et de protéines matricielles mènent à la fibrose, l'augmentation des niveaux d'AII suite à l'activation du SRAA mène à la fibrose du tissu interstitiel rénal et à la néphrite tubulo-interstitielle.⁶⁻⁸

Tableau I Principales molécules impliquées dans la pathophysiologie de l'insuffisance rénale chronique lors d'hyperthyroïdie

Molécule	Provenance	Effet
Triiodothyronine	HT ₄	↓ résistance vasculaire périphérique ↑ activité de la rénine ↑ débit cardiaque ↑ pression systolique
SRAA	↓ résistance vasculaire périphérique ↑ activité de la rénine	↑ réabsorption sodique ⇒ ↑ volume sanguin ↑ AII
Rénine	HT ₄ Prolifération mésangiale accrue	Activation SRAA
AII	SRAA	Vasoconstriction locale directe ↑ croissance/active fibroblastes et myocytes ↑ production de cytokines pro-fibrotiques
PDGF	AII	↑ prolifération mésangiale ⇒ ↑ rénine ↑ TGF-β1
TGF-β1	PDGF AII	↑ endothéline ↑ fibroblastes ↑ synthèse et ↓ dégradation des protéines matricielles

L'augmentation du débit cardiaque et de la pression sanguine systémique et les dommages tubulo-interstitiels

L'excès en triiodothyronine résulte en une élévation du débit cardiaque par quatre principaux procédés résumés dans la figure 1.^{2-5,39} Premièrement, l'augmentation de consommation périphérique d'oxygène et des besoins en nutriments cause indirectement une augmentation de contractilité cardiaque pour combler les besoins. Deuxièmement, tel qu'expliqué précédemment, la diminution de la résistance vasculaire périphérique mène à l'activation du SRAA, ce qui augmente le volume sanguin et donc le débit cardiaque. Troisièmement, la triiodothyronine stimule la production d'érythropoïétine (EPO), ce qui augmente le volume sanguin et conséquemment le débit cardiaque. Enfin, la triiodothyronine augmente directement la stimulation β-adrénergique, ce qui fait augmenter l'inotropie et la chronotropie cardiaques.

Tout ces phénomènes sont responsables de l'hypertension systémique qui peut survenir.^{2,40} Plusieurs études rapportent cette hypertension systémique légère à modérée lors d'HT₄ féline.⁴ Dans une étude ciblant la prévalence d'hypertension chez des chats hyperthyroïdiens, la pression systolique ou diastolique était élevée chez 87% des 39 chats hyperthyroïdiens avant l'institution du traitement.⁴ Une seconde équipe a étudié la fréquence de rétinopathie hypertensive chez des chats hyperthyroïdiens ou en IRC. La prévalence d'hypertension chez les chats hyperthyroïdiens était de 20%.⁴² Plus récemment, on rapportait une incidence d'hypertension de 12 à 48% pour le chat hyperthyroïdien avant le début du traitement.⁴⁰ Bien que les données initiales aient laissé croire à une prévalence élevée d'hypertension lors d'HT₄ féline, les études plus récentes dénombrent moins de patients atteints.

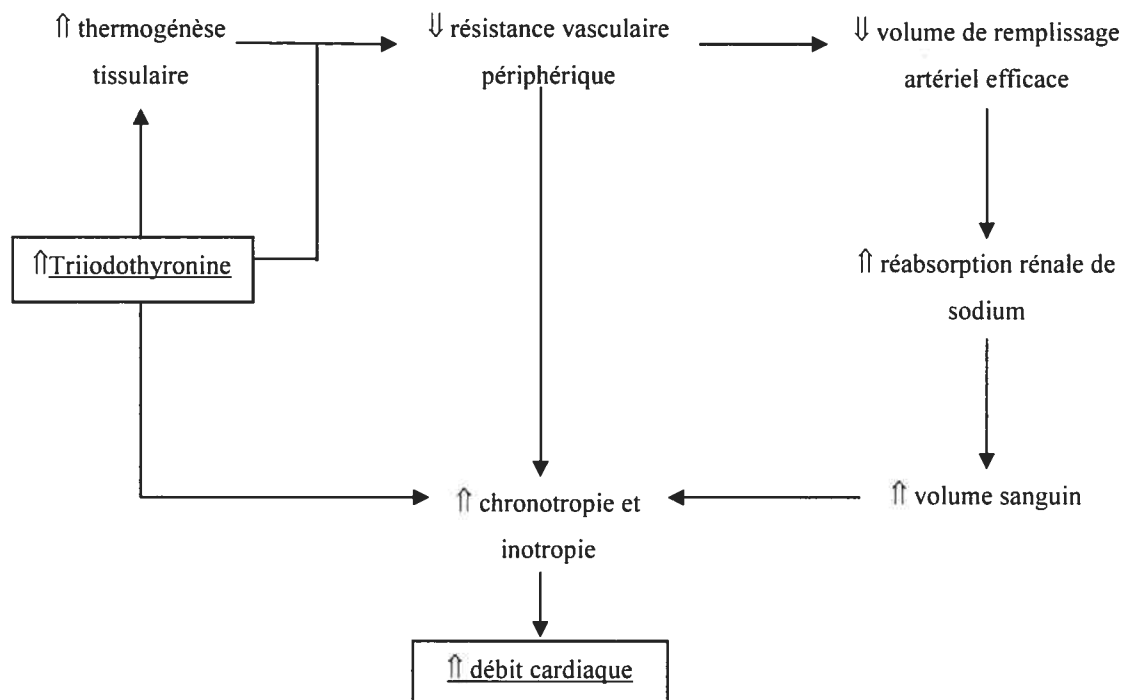


Figure 1 Pathogénèse de l'augmentation du débit cardiaque par l'excès de triiodothyronine (Traduction de *Effects of Thyroid Hormone on Cardiovascular Hemodynamics* de Klein³)

Si elle est présente, l'hypertension systémique peut toutefois contribuer à la progression des dommages rénaux vers l'IRC. En effet, elle induit une hypertension glomérulaire qui peut faire progresser la maladie rénale par deux mécanismes. Premièrement, l'hypertension glomérulaire endommage mécaniquement les capillaires glomérulaires.⁴¹ Si l'hypertension persiste, de la sclérose glomérulaire en résulte. Deuxièmement, l'augmentation de la pression rénale augmente le TFG, ce qui induit de la protéinurie.

La protéinurie et la progression des dommages tubulo-interstitiels

Lors d'hypertension, la protéinurie d'origine glomérulaire endommage principalement l'espace tubulo-interstitiel et elle contribue davantage à la perte de néphrons que ne le font les dommages mécaniques aux glomérules.^{7,8,40,43,44} De plus, chez le chat hyperthyroïdien, les dommages glomérulaires induits par l'hypertension sont probablement moins fréquents que ne le sont les dommages tubulo-interstitiels induits par la protéinurie. En effet, l'hypertension systémique n'est pas essentielle à l'augmentation du TFG : malgré que le TFG augmente principalement suite à l'hypertension rénale, les hormones thyroïdiennes peuvent aussi faire augmenter le TFG sans que l'hypertension systémique ne soit présente.^{15,40} Ce phénomène contribue aux dommages tubulo-interstitiels par la protéinurie.

En effet, la présence de protéines de haut poids moléculaire, d'albumine et de protéines de faible poids moléculaire se retrouvant en quantité élevée dans la lumière tubulaire sont réabsorbées par les cellules épithéliales tubulaires proximales majoritairement.⁸ Cette réabsorption induit potentiellement des dommages cytotoxiques directs et peut être responsable de l'apoptose des cellules épithéliales, peut activer des médiateurs de fibrose, tels des cytokines inflammatoires et des facteurs de croissance (TGF- β 1) et enfin peut induire une réponse immunitaire à médiation cellulaire et mener à des dommages interstitiels. La protéinurie peut donc être un facteur de progression de la détérioration de la fonction rénale chez le chat hyperthyroïdien.⁴⁰

En somme, l'activation du SRAA présente lors d'HT₄, les changements hémodynamiques et la protéinurie semblent principalement résulter en l'apparition de dommages tubulo-interstitiels rénaux. C'est lorsque ces changements perdurent que le chat hyperthyroïdien développe de l'IRC.

Le diagnostic de l'IRC et de l'HT₄ concomitantes

Certains phénomènes viennent compliquer le diagnostic précoce d'HT₄ ou d'IRC lorsque ces deux conditions surviennent en même temps.

L'HT₄ risque d'être diagnostiquée tardivement chez des chats ayant un certain niveau de dommages rénaux. En effet, le niveau de thyroxine sérique diminue en présence de certaines maladies non thyroïdiennes, dont l'IRC.² Le diagnostic retardé perpétue les dommages rénaux déjà présents.

Lorsque l'HT₄ est diagnostiquée tardivement, les dommages rénaux ont eu plus de temps pour progresser et mener à l'IRC. Pourtant, au diagnostic de l'HT₄, la maladie rénale peut être masquée. Ce dernier phénomène semble être secondaire à deux procédés métaboliques indépendants.

Premièrement, lors d'HT₄, il y a une augmentation de l'élimination rénale de la Cr_s par l'augmentation du TFG et de la sécrétion tubulaire.⁴⁵ Chez le chat, une étude a évalué le TFG chez des chats normaux suite à l'induction d'HT₄ par l'administration de thyroxine.¹⁵ Bien qu'ayant une fonction rénale normale, ces chats avaient une augmentation significative de leur TFG, prouvant l'effet de la T₄ sur la fonction rénale. De plus, suite à l'induction d'HT₄, les chats avaient une diminution significative des niveaux d'urée et de Cr_s. D'autres études, celles-ci effectuées chez des chats hyperthyroïdiens de fonction rénale inconnue, ont démontré une diminution significative du TFG suite au traitement de l'HT₄.^{16,17,21} Ces études démontrent que lors d'HT₄, le TFG pourrait être suffisamment élevé pour que l'urée et la Cr_s soient bien excrétés, même si le patient a une maladie rénale chronique lui ayant fait perdre plus de 75% de ses néphrons. L'azotémie serait masquée par le TFG augmenté. Par ailleurs, une étude de clairance urinaire chez l'homme atteint d'HT₄ a révélé que 43% de l'excrétion urinaire de la créatinine n'est pas d'origine glomérulaire.⁴⁵ Cette trouvaille appuie l'hypothèse d'une excrétion tubulaire accélérée lors d'HT₄.

Deuxièmement, l'HT₄ induit un catabolisme protéique chez le chat non-traité, ce qui a pour conséquence de diminuer la masse musculaire et la Cr_s du chat hyperthyroïdien.⁴⁵

Lors de l'évaluation biochimique initiale du chat hyperthyroïdien, les dommages rénaux, s'ils sont présents, peuvent donc être masqués par ces phénomènes. Ceci explique la disparité entre la prévalence d'IRC au diagnostic de l'HT₄ et à l'atteinte de l'ET.^{13,17-19,45}

Suite à l'institution du traitement de l'HT₄, le patient regagne de la masse musculaire et la Cr_s est normalisée. Le TFG diminue, l'urée et la Cr_s sont moins efficacement éliminées et leurs valeurs augmentent. Le traitement de l'HT₄ dévoile l'IRC. Puisque l'IRC est un facteur lié négativement à la survie des chats hyperthyroïdiens, il pourrait être utile de pouvoir minimiser les conséquences de son traitement sur la condition rénale de certains patients. Pour y arriver, il faudrait toutefois connaître le niveau de dommages rénaux préalablement au traitement.

Détection des dommages rénaux lors d'HT₄

Tel que cité précédemment, les valeurs d'urée et de Cr_s sont peu utiles pour la détection précoce de l'IRC chez le chat lors d'HT₄. Ces valeurs augmenteront et dévoileront l'IRC seulement à l'atteinte de l'ET dans plusieurs cas. Ainsi, au fil du temps, différentes méthodes diagnostiques ont été mises de l'avant pour tenter un diagnostic précoce de l'IRC chez le chat hyperthyroïdien. Parmi celles-ci, les mesures de la densité urinaire^{13,16,20}, de la cystatine C sérique²¹, du TFG et de la Cr_s^{13,15-18,20} ont été investigués. Les mesures du ratio des protéines sur la créatinine urinaires ou de la microalbuminurie sont des techniques de plus en plus utilisées en médecine féline comme marqueurs reliés négativement à la survie et pourraient être utiles pour évaluer la présence de dommages rénaux lors d'HT₄.⁴⁶⁻⁴⁸

La densité urinaire peut difficilement être utilisée afin de prédire l'apparition d'IRC chez le chat hyperthyroïdien: l'HT₄ chez le chat mène souvent à la polyurie et à la polydipsie. La présence d'une densité urinaire inférieure à la normale n'est pas nécessairement due à une diminution de capacité de concentration des néphrons.¹⁵

Le TFG a été amplement investigué lors d'HT₄.^{15-18,40,45} Par contre, seulement une de ces études a pu établir des valeurs de spécificité et de sensibilité pour l'IRC lors d'HT₄. Un TFG inférieur à 2,25 ml/kg/min mesuré par scintigraphie avait une sensibilité de 100% et une spécificité de 78% pour le diagnostic de l'IRC.¹⁸ Ces résultats sont prometteurs, mais cette technique diagnostique est limitée par l'accessibilité à l'imagerie nucléaire. Ainsi, à l'extérieur d'un contexte académique, cette méthode diagnostique demeure peu accessible, d'autant plus que le diagnostic d'HT₄ et le traitement de cette maladie se fait le plus fréquemment auprès de vétérinaires généralistes. Dans ce contexte, une méthode diagnostique plus pratique, moins dispendieuse et moins invasive est recherchée pour la détection précoce de l'IRC chez le chat hyperthyroïdien.

La cystatine C sérique est proposée en médecine humaine pour être un meilleur marqueur de TFG que la Cr_s. Cette épreuve diagnostique ne requérant qu'une ponction veineuse pourrait être particulièrement utile et pratique dans la détection précoce d'IRC.^{21,49} Une étude a donc été menée afin d'évaluer lequel de la Cr_s ou de la cystatine C sérique corrélait le mieux au TFG chez le chat hyperthyroïdien.²¹ Malheureusement, cette étude conclut que la Cr_s chez 19 chats hyperthyroïdiens est un meilleur indicateur du TFG que ne l'est la cystatine C et cette protéine n'est donc pas un biomarqueur précoce de l'IRC lors d'HT₄. Aucun biomarqueur précoce, pratique et fiable pour identifier l'IRC lors d'HT₄ n'a été identifié jusqu'à présent. L'enzymurie est proposée afin de palier à ce manque.

L'enzymurie

Généralités

L'enzymurie est la présence d'enzymes dans l'urine. Ces enzymes originent soit du plasma et se retrouvent dans le filtrat glomérulaire, ou originent du système uro-génital et proviennent des glomérules, des tubules contournés proximaux et distaux, de l'anse de Henle, des tubules collecteurs, du pelvis, des uretères, de la vessie, de l'urètre ou de la prostate.^{23.50-53} Au niveau rénal, leur localisation est intra-cellulaire ou membranaire. Une enzymurie rénale peut être secondaire à l'excrétion des enzymes, à une augmentation de perméabilité membranaire ou à la dégénérescence cellulaire.

L'enzymurie peut être physiologique ou pathologique. Aucune étude n'a mis en évidence une sécrétion enzymatique active au niveau des cellules rénales. L'enzymurie physiologique est donc secondaire au renouvellement cellulaire normal. L'enzymurie pathologique fait suite à des dommages au niveau des cellules épithéliales rénales ou à leur présence anormalement élevée dans le plasma et leur passage au travers du glomérule.⁵¹

À chaque type de cellule rénale correspond un ensemble spécifique d'enzymes. Lors d'HT₄, la première structure rénale à être affectée est le tubule contourné proximal. C'est pourquoi on s'intéresse à l'enzymurie comme marqueur précoce de dommages rénaux.

L'enzymurie tubulaire proximale

Les enzymes détectables dans l'urine et répertoriées comme provenant des tubules contournés proximaux sont la n-acétyl- β -D-glucosaminidase (NAG), la γ -glutamyl-transférase (GGT), la β -galactosidase, la phosphatase alcaline (ALP), la phosphatase acide, la leucine aminopeptidase, la β -glucuronidase, la β -glucosidase, l'alanine aminopeptidase (AAP), la glutathione S-transférase, la lactate deshydrogénase (LDH), la fructose-1,6-biphosphatase et l'aspartate aminotransférase.^{23.24.51.52.54.55} Aucune de ces enzymes n'est totalement spécifique aux tubules contournés proximaux, mais certaines d'entre elles s'y retrouvent en plus grande proportion comparativement aux autres régions du néphron. La

NAG, la GGT et l'ALP se retrouvent principalement au niveau des cellules épithéliales des tubules contournés proximaux.^{22.52}

L'ALP, la GGT et, à un moindre degré, la NAG sont retrouvées physiologiquement dans le plasma. La contribution des enzymes plasmatiques à l'enzymurie physiologique et pathologique est toutefois très faible, voire négligeable grâce à la réabsorption tubulaire des enzymes sériques et au poids moléculaire élevé de l'ALP, de la GGT et de la NAG. En effet, les enzymes sériques sont des protéines qui sont normalement réabsorbées au niveau tubulaire si leur poids moléculaire leur a permis de passer au travers des pores glomérulaires.^{23.51} L'ALP, avec un poids moléculaire de 200 kDa, la GGT avec ses 126 kDa et la NAG avec ses 130 kDa ne passent les glomérules que si ces derniers sont gravement endommagés.^{25.31.53.56} Même lors de dommages glomérulaires significatifs, l'augmentation d'excrétion rénale de la NAG serait due à une augmentation de libération de l'enzyme par les cellules tubulaires proximales, et non par l'augmentation de filtration au niveau des capillaires glomérulaires endommagés.⁵⁷

L'enzymurie physiologique de la NAG est habituellement minime et ne résulte pas de la filtration glomérulaire du plasma, mais plutôt des processus d'exocytose normaux.³¹ L'enzymurie pathologique de la NAG résulte d'un dommage tubulaire. Bien que la NAG se retrouve en quantité minime au niveau du foie, celle-ci n'augmente pas suite à une choléstase ou à un dommage hépatocellulaire. Par contre, puisque la GGT et l'ALP sont présentes dans le plasma lors de choléstase, leur augmentation dans l'urine peut être secondaire à un dommage glomérulaire sévère. Ces enzymes sont donc moins spécifiques des dommages tubulaires que ne l'est la NAG.

La localisation de l'ALP, de la GGT et de la NAG au sein des cellules épithéliales tubulaires détermine la facilité avec laquelle elles pourraient se retrouver dans l'urine.^{25.50} La GGT et l'ALP sont considérées comme des enzymes membranaires et se retrouvent au niveau de la bordure en brosse des cellules épithéliales et ont été identifiées à ce niveau par des procédés histochimiques.⁵⁰ À cause de leur emplacement, un dommage épithélial léger peut suffire à l'augmentation de la GGT et de l'ALP urinaire. La NAG est une enzyme

lysosomale des cellules épithéliales. Un dommage cellulaire significatif est donc requis pour produire une élévation de la NAG.

Enfin, les caractéristiques de conservation de la GGT, de l'ALP et de la NAG font de cette dernière l'enzyme de choix comme marqueur pratique des dommages tubulaires. En effet, il a été démontré que l'ALP et la GGT demeurent stable dans l'urine pour seulement 24h lorsqu'elles sont conservées à 4°C, mais qu'elles perdent rapidement leur activité si elles sont congelées.⁵⁸ Pour sa part, la NAG demeure relativement stable dans l'urine pendant un an si elle est congelée à -70°C.

Parce que son augmentation plasmatique n'influence pas son niveau urinaire, parce qu'elle est spécifique de dommages épithéliaux significatifs au sein des tubules contournés proximaux et parce que sa conservation est pratique, la NAG apparaît être le biomarqueur enzymatique le plus adéquat pour la détection de dommages tubulaires proximaux. Elle mérite une revue plus en profondeur afin d'évaluer ses qualités en tant que potentiel biomarqueur précoce d'IRC chez le chat hyperthyroïdien.

La n-acétyl- β -D-glucosaminidase

Caractéristiques

Tel que mentionné précédemment, la NAG est une glycosidase lysosomale de poids moléculaire d'environ 130 kDa. Elle consiste en plusieurs isoenzymes, dont les deux principales sont retrouvées majoritairement au niveau rénal (isoenzyme A ou NAG-A) et au niveau hépatique (isoenzyme B ou NAG-B). Le haut poids moléculaire de la NAG-B hépatique prévient son passage au travers des capillaires glomérulaires. La NAG urinaire provient donc uniquement des reins.

Les autres isoenzymes de la NAG, les isoenzymes I₁ et I₂ (NAG-I) sont présentes en quantité négligeable au niveau des néphrons, tandis que l'isoenzyme P est présente chez les femelles gestantes seulement et l'isoenzyme C se retrouve au niveau du système nerveux.^{22,33,59,60} Chez l'homme et le rat en santé, la NAG-A consiste en 80 à 90% de la NAG urinaire totale et la NAG-B en représente 10-20%.⁶⁰⁻⁶² Ces proportions sont semblables à ce qui a récemment été identifié chez le chat.³³

Les glycosidases lysosomales NAG-A et -B sont présentes au niveau rénal, préférentiellement au niveau des tubules contournés proximaux. Au sein du néphron du lapin et du rat, la NAG-A est retrouvée en quantité de 2,5 à 4 fois plus importantes dans les tubules contournés proximaux par rapport aux autres régions du néphron. La NAG-B est pour sa part détectable tout au long du néphron, mais en quantité négligeable par rapport à la NAG-A. Par contre, dans les tubules contournés proximaux, la NAG-B représente de 20 à 30% de la NAG totale et est de 3,5 à 9 fois plus concentrée que dans les autres segments du néphron.^{22,63,64} La présence de ces isoenzymes au niveau des tubules contournés proximaux pourrait être expliquée par la contribution de ce segment de néphron à la réabsorption et la dégradation des glycoprotéines, puisque la NAG est une glycosidase.^{22,50,63,64} Puisque la répartition de la NAG au sein du néphron est similaire dans les différentes études et chez différentes espèces (rat, lapin, homme), ces données sont extrapolées aux autres mammifères.

Lors d'un dommage tubulaire, les proportions de NAG-A et de NAG-B changent dans l'urine et la NAG totale augmente de façon parallèle à la NAG-B. Une augmentation de la NAG totale ou de la NAG-B reflète donc principalement des dommages tubulaires proximaux.²² Ce phénomène est expliqué par le fait que la NAG-A se retrouve à l'intérieur des lysosomes, dans leur portion hydrosoluble, alors que la NAG-B se retrouve au sein de leur membrane cellulaire, dans leur portion liposoluble. La NAG-A est ainsi excrétée continuellement lors d'exocytose physiologique, tandis que la NAG-B se retrouve dans l'urine que lorsque les cellules tubulaires sont endommagées.³³

L'index de la n-acétyl- β -D-glucosaminidase

Prélèvement et conservation de l'urine

En plus de sa spécificité à identifier les dommages tubulaires proximaux, la NAG a des caractéristiques biochimiques qui font d'elle un biomarqueur pratique à utiliser dans un contexte clinique. Par contre, certaines limites et précautions sont à considérer lors de sa mesure. En effet, certains facteurs *in vivo* et *in vitro* peuvent influencer la valeur de la NAG urinaire.²³

In vivo, le pH urinaire, l'âge, le sexe des patients et la contamination de l'urine par des selles ou du sperme influencent la NAG.

Premièrement, une urine alcaline inhibe l'activité enzymatique de la NAG-A, diminuant les niveaux de NAG totale. Chez un animal présentant un pH urinaire supérieur à 8, l'activité de la NAG-B, plutôt que de la NAG totale, devra être mesurée.⁶⁰

Deuxièmement, chez la souris et chez l'homme, l'enzymurie physiologique de la NAG augmente avec l'âge.⁶⁵⁻⁶⁸ Chez l'enfant, elle est aussi élevée avant l'âge de 2 ans. Entre ces deux périodes, les valeurs de la NAG sont stables chez les individus en santé.⁶⁹ La comparaison de la NAG avec des valeurs de référence pour les différents groupes d'âge est recommandée.

Troisièmement, les cellules épithéliales du tractus urogénital ne sont pas une source importante de NAG. Par contre, les sécrétions glandulaires de la prostate (sperme) en sont une source importante chez le chien intact, doublant l'enzymurie physiologique de la NAG par rapport aux femelles.^{68,70} Chez le chat, l'enzymurie physiologique de la NAG n'était pas significativement différente entre 16 mâles et 19 femelles entiers et en santé.³³

Enfin, certains inhibiteurs enzymatiques présents dans l'urine doivent rapidement être retirés avant la mesure de l'enzymurie pour plusieurs enzymes, mais ce n'est pas le cas pour la NAG.²³ Une attention particulière doit toutefois être portée à la contamination de l'échantillon par les selles du patient puisque celles-ci peuvent contenir une certaine quantité d'enzymes et diminuer la spécificité des résultats.^{23,52}

Afin d'éliminer ces facteurs diminuant la spécificité des mesures de la NAG, les échantillons d'urine doivent être prélevés par cystocentèse et centrifugés immédiatement après le prélèvement. La NAG est mesurée sur le surnageant.^{23,58}

Une fois l'urine prélevée, certains facteurs *in vitro* peuvent aussi influencer la NAG. Matteucci et Giampietro ont évalué l'effet de deux de ces facteurs sur la NAG, soient la température et la durée de conservation (tableau I).⁵⁸ Dans cette étude, on a également évalué l'effet de la centrifugation des échantillons d'urine sur la conservation de la NAG. On retire de cette recherche que lorsqu'un échantillon d'urine est gardé entre 4 et 20°C pour moins de 24h, la centrifugation ne semble pas nécessaire puisque l'activité enzymatique de la NAG est conservée. Par contre, lorsque l'urine est conservée pour des périodes prolongées (plus de 1 mois), la centrifugation est recommandée. Pour la conservation prolongée (un an), la congélation à -70°C est indiquée.

Tableau II Proportion de l'activité enzymatique de la n-acétyl-β-D-glucosaminidase conservée (%) suite à la congélation des échantillons d'urine à -20°C et à -70°C pour différentes périodes de temps

Temps de conservation (jours)	-20°C	-70°C
	Proportion de l'activité enzymatique (%)	
32	81,9	87,8
67	86,7	63,7
105	39,6	97,0
165	104,2	64,8
230	82,0	91,6
332	50,8	84,6

Expression de la NAG

Puisque des variations circadiennes du débit urinaire peuvent survenir chez le chat comme chez le chien, la NAG totale devrait être mesurée sur la totalité de l'urine produite par un individu en 24 heures.^{52,71,72} Cette méthodologie n'est toutefois pas pratique dans un contexte clinique et peut induire des erreurs de mesure suite à une perte ou à une contamination des échantillons. Puisque la filtration de la créatinine est relativement constante dans le temps, elle corrèle bien le volume urinaire produit. Ainsi, la mesure de la créatinine urinaire peut être utilisée pour annuler l'effet du volume d'urine sur les concentrations de la NAG. Cette correction s'exprime par le ratio de la NAG (U/L) sur la créatinine urinaire (g/L) et se nomme l'index de la NAG (U/g) (NAG_i).^{26,27,52,73} Par contre, si la NAG est exprimée par son index avec la créatinine urinaire, les valeurs de la créatinine sérique doivent être considérées. En effet, certaines conditions peuvent diminuer anormalement les niveaux de créatinine urinaire, augmentant faussement le NAG_i. C'est le cas lors de cachexie.^{27,52} Alors que certaines études sur la NAG sont menées avec le NAG_i, d'autres rapportent la NAG seulement. Dans cet ouvrage, les termes NAG ou NAG_i seront utilisés dépendamment de la nature des études citées.

La NAG comme biomarqueur de dommages rénaux

L'augmentation de la NAG-B et/ou du NAG_i est reconnue comme un indicateur spécifique potentiel de dommages tubulaires proximaux chez plusieurs espèces, dont l'homme²⁵, le rat⁶², le chien³⁰, le chat³³, le mouton⁷⁴, la vache⁷⁵ et la poule⁷⁶. Leur élévation pourrait indiquer des dommages rénaux aigus ou chroniques actifs et pourrait nous guider dans l'élaboration d'un plan de traitement ou lors d'un suivi pour un patient particulier.

Dommages rénaux aigus

La NAG lors de dommages rénaux aigus a été étudiée chez plusieurs espèces dans diverses conditions. Parmi celles-ci, la néphrotoxique, les désordres néonataux, les vasculites, les chirurgies cardiaques, la lithotrypsie, les transplantations rénales, les uropathies obstructives, le pyomètre et l'hospitalisation dans un contexte de soins intensifs.^{25,30,77}

La NAG et la néphrotoxique

Cette catégorie de dommages rénaux est probablement celle qui a été la plus étudiée. La NAG serait utile chez l'homme^{25,61,78,79}, le rat⁶², le mouton⁷⁴, le chien^{26,80} et le chat lors de néphrotoxicité aux aminoglycosides, au chlorure mercurique,⁸¹ au netilmicin,²³ à l'acide maléique,⁸² aux sulfonamides³³ et à l'éthylèneimine.⁸³

Chez l'homme, une première étude a établi une relation entre le potentiel néphrotoxique de la gentamicine et l'augmentation rapide de la courbe des valeurs de la NAG suite au début du traitement. Selon les auteurs, une augmentation rapide de la NAG au début d'un traitement de gentamicine serait un indice de néphrotoxicité.^{25,78} La NAG chez des patients atteints de fibrose kystique et recevant de la gentamicine en inhalation a été évaluée.⁸⁴ Cette étude a également mis en évidence une corrélation significative entre la NAG et la dose cumulée de la gentamicine et a mené les auteurs à recommander l'évaluation répétée des niveaux de la NAG lors d'un traitement à la gentamicine chez les patients atteints de fibrose kystique. Bien que plusieurs auteurs s'accordent sur la corrélation de l'élévation de la NAG avec les dommages tubulaires induits par les aminoglycosides, deux études mettent cette corrélation en doute. Les aminoglycosides feraient appel aux qualités de la NAG

comme glycosidase et ainsi provoqueraient la synthèse préférentielle des formes de la NAG-I et de la NAG-B au niveau du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi afin de favoriser l'élimination de l'antibiotique. Ce processus d'excrétion serait responsable de l'augmentation de la NAG totale. L'élévation de la NAG serait donc physiologique et non pathologique. L'étude menant à ces conclusions impliquait 19 patients.⁶¹ La même équipe a réévalué ces conclusions en interprétant les résultats d'une deuxième étude impliquant 88 patients. Les résultats de la seconde étude stipulent que la NAG-B pourrait être un marqueur spécifique de la néphrotoxicité induite par les aminoglycosides.⁷⁹

Chez le rat, lors de néphrotoxicité induite par les aminoglycosides, les variations des isoenzymes de la NAG et l'excrétion des protéines ont été évaluées. Cette étude a révélé une augmentation de la NAG-B chez les rats traités et une corrélation positive entre l'excrétion maximale de la NAG et l'augmentation maximale de la microalbuminurie. Les auteurs concluent que la mesure de la NAG-B peut être un indicateur de la nature et de la sévérité des dommages induits par la néphrotoxicité de certains antibiotiques.⁶²

Chez le mouton souffrant de néphrotoxiose aiguë induite par la gentamicine, une augmentation du NAG_i a révélé des dommages tubulaires plusieurs jours avant l'apparition de changements rénaux fonctionnels.⁷⁴

Chez le chien, une première étude a évalué l'effet d'un traitement à la gentamicine additionné de furosémide sur les niveaux d'élévation de différentes enzymes, dont la NAG, ainsi que sur les changements histopathologiques induits par ces traitements.⁸⁰ Les résultats ont révélé qu'une augmentation de la NAG a précédé l'élévation de l'urée et de la créatinine chez ces chiens. Par contre, malgré l'apparition de nécrose tubulaire massive, la corrélation entre les niveaux de nécrose et de la NAG n'a pas été évaluée. Enfin, une étude a évalué la corrélation entre la NAG excrétée en 24h et le NAG_i chez des chiens durant l'administration de fortes doses de gentamicine.²⁶ Les auteurs concluent en une corrélation entre la NAG totale excrétée en 24h et le NAG_i.

Suite à l'administration de lysine par voie intraveineuse chez 4 chiens, une IRA avec augmentation de la NAG a été observée.⁸⁵ L'examen histopathologique des reins de ces chiens a révélé une hypertrophie des tubules contournés proximaux ainsi qu'une dégénérescence et une desquamation des cellules épithéliales des tubules proximaux. Les auteurs de cette étude concluent que la lysine peut produire une IRA et que les dommages primaires induits par la lysine et menant à l'insuffisance rénale sont reliés à une toxicité tubulaire proximale. La NAG pourrait donc être utilisée comme biomarqueur de dommages aigus lors d'administration de lysine chez le chien.

Aucune étude chez le chat n'a été menée quant à la néphrotoxicité des aminoglycosides et le NAG_i. Par contre, suite à l'induction d'insuffisance rénale aigue par l'administration de sulfonamide, le NAG_i-B et le NAG_i totale ont augmenté alors que le NAG_i-A est demeuré semblable aux valeurs initiales.³³

Le NAG_i et les dommages rénaux lors de pyomètre

Sato *et al.* ont évalué le NAG_i chez 2 chiennes atteintes d'un pyomètre comme outil pour évaluer leur fonction rénale suite à l'ovariohystérectomie (OVH).³⁰ Les résultats obtenus ont menés les auteurs à conclure qu'un NAG_i normal avant et après l'OVH était corrélé à une fonction rénale normale, tandis qu'un NAG_i élevé avant l'OVH prédisait une insuffisance rénale après la chirurgie.

Le NAG et les dommages rénaux lors lithotripsie

Lors de lithotripsie extracorporelle (ESLW) chez 10 chiens, l'effet de la réapplication d'onde de choc sur le NAG_i a été évalué. Cette étude a démontré que l'application de la ESLW produit des dommages rénaux aigus si nous tenons compte de l'élévation transitoire du NAG_i. Elle retourne à la normale à l'intérieur d'une semaine suite à l'application des ESWL. De plus, lorsque l'ESLW est réappliquée à l'intérieur de 24h suite à la première application, le NAG_i demeure la même, indiquant qu'une seconde application ne produit pas de dommages supplémentaires à la première.⁸⁶ Dans cette étude, le NAG_i a servi d'indicateur de dommages rénaux, mais n'a pu indiquer le niveau de ces dommages.

La NAG et la transplantation rénale

L'utilité de la NAG pour détecter la réjection de greffe lors de transplantations rénales chez l'homme a été amplement évaluée. Une première étude portant sur 181 patients a révélé que la NAG était légèrement élevée immédiatement après la transplantation, mais que les niveaux diminuaient rapidement en l'absence de complication.⁸⁷ Dans cette étude, une élévation de la NAG de 50% ou plus était corrélée au rejet aigu (90 jours et moins après la greffe) dans 92% des cas de rejet et a su prédire le rejet dans 70% des cas. Ces résultats révèlent que la NAG constitue un indicateur précoce de rejet. Une augmentation de 50% des valeurs initiales de la NAG indiquent des dommages rénaux et un possible rejet imminent. Des résultats semblables ont été rapportés chez 6 autres patients ayant subi une transplantation rénale.⁶⁹

Le NAG_i dans un contexte de soins intensifs

L'enzymurie a été évaluée pour la détection précoce d'IRA chez 26 patients hospitalisés dans une unité de soins intensifs.⁷⁷ Au cours des 7 premiers jours d'hospitalisation, 4 d'entre eux ont développé une IRA. Chez ces patients, le NAG_i était plus élevé à l'admission que chez les autres patients. Les auteurs concluent qu'au moment de l'admission, la mesure de l'enzymurie tubulaire, entre autres du NAG_i, est utile pour prédire l'IRA.

Domages rénaux chroniques

La NAG a été évaluée dans plusieurs conditions rénales chroniques, dont les néphropathies diabétiques, le reflux vésico-urétral, les syndromes néphrotiques, les glomérulonéphrites³¹, les néphrites tubulo-interstitielles^{33,75}, les pyélonéphrites chroniques³⁰, l'hypertension⁸⁸⁻⁹⁰, l'hypercalciurie, les urolithiases et la néphrocalcinose.^{24,25,52,69,91}

La NAG lors de néphropathie diabétique

L'apparition de néphropathie est une complication fréquente du diabète mellitus en médecine humaine et reflète un contrôle inadéquat de la glycémie à long terme. Bien que la microalbuminurie soit un indicateur sensible des dommages rénaux, la détection de son élévation devient possible seulement quand les dommages sont trop extensifs pour prévenir

l'apparition d'IRC. Plusieurs marqueurs sont investigués depuis des décennies afin de détecter plus précocement l'apparition de ces néphropathies et tenter de retarder leur apparition. La mesure régulière de la NAG a été amplement investiguée comme détecteur précoce des dommages rénaux et a souvent été comparée à la mesure de la microalbuminurie.⁹²⁻⁹⁶ Les études à ce sujet révèlent une corrélation positive entre le degré de néphropathie et la NAG. Certaines études révèlent que l'augmentation de la NAG a été un facteur indépendant de prédiction pour le développement de néphropathie diabétique, et ce avant l'apparition de la microalbuminurie. Une étude en particulier a même révélé que la NAG a prédit le développement d'une néphropathie diabétique chez des adolescents, cinq ans avant que la microalbuminurie ne soit détectable.³²

La NAG lors de glomérulonéphrite

Lors de glomérulonéphrite (GN), les dommages tubulaires et l'IRC qui s'ensuivent sont hypothétiquement secondaires à la protéinurie.⁸ Diverses études ont évalué la NAG comme marqueur de dommages tubulaires lors de GN afin de définir si la protéinurie crée réellement des dommages tubulaires, mais aussi afin de déterminer si la NAG est un marqueur précoce de dommages tubulo-interstitiels lors de GN.

Bazzi *et al.* ont évalué la capacité de réabsorption tubulaire lors de GN et si le NAG_i correspondait non seulement aux niveaux de protéinurie, mais aussi aux niveaux de certaines protéines reflétant le degré de dommages de la microcirculation glomérulaire (IgG) et la capacité de réabsorption tubulaire (alpha-1-microglobulines).³¹ Les résultats de cette étude menée chez 198 patients atteints de différents types de GN ont révélé que le NAG_i était un marqueur fiable de protéinurie dans les stades initiaux de la maladie. La même équipe a également évalué si le NAG_i était un bon indicateur pronostic pour le développement d'IRC ou pour la réponse au traitement chez ces patients. Leurs résultats ont démontré que les patients qui avaient un NAG_i au-dessus de la valeur seuil avaient plus de chances de développer une IRC s'ils n'étaient pas traités, comparativement aux patients qui avaient un NAG_i sous la valeur seuil.

Ces résultats sont en accord avec une seconde étude qui a révélé que la NAG chez 150 patients atteints de GN reflète les niveaux de dommages tubulaires détectés histopathologiquement alors que la fonction rénale de ces patients était la plupart du temps intacte.⁹⁷

Une troisième étude converge également vers les mêmes conclusions.⁶⁹ Dans celle-ci, le NAG_i chez 50 enfants atteints de différentes glomérulopathies a été évaluée en fonction de leur besoin d'un traitement immunosuppresseur pour contrôler leur maladie. Les enfants en rémission avaient un NAG_i significativement plus bas que les autres enfants. De plus, le NAG_i était corrélé à la protéinurie.

Chez 38 patients atteints d'une néphropathie à IgA, le NAG_i était significativement corrélé à l'évolution clinique et au niveau de glomérulosclérose.⁹⁸

Enfin, la NAG était un marqueur plus sensible que d'autres enzymes urinaires, que la créatinine sérique, que l'excrétion de protéines dans l'urine et que le taux de filtration glomérulaire pour détecter une dysfonction rénale chez 25 patients atteints de glomérulonéphrite chronique et d'IRC secondaire.⁹¹

Kuzniar *et al* ont proposé une explication pour l'augmentation de la NAG lors de GN.²⁹ Leur hypothèse était basée sur le fait que les granules basophiles des leucocytes polymorphonucléaires (PMN) contiendraient de la NAG et l'activation des leucocytes au cours de la maladie induirait leur dégranulation. Ainsi, l'augmentation de la NAG lors de GN proviendrait des PMN activés. Ils ont donc évalué le rôle de la dégranulation des PMN dans l'augmentation de la NAG lors de GN. Leurs résultats démontrent une augmentation significative de la NAG chez les 91 patients atteints de GN. Par contre, l'élastase, une enzyme présente majoritairement au sein des PMN, est demeurée normale chez la majorité des patients atteints. Ainsi, les auteurs concluent que l'augmentation de la NAG lors de GN est secondaire à l'atteinte tubulaire proximale et non à la dégranulation des PMN.

La NAG_i lors maladie rénale tubulo-interstitielle

Vu la présence de la NAG au sein des tubules contournés proximaux, cette enzyme peut principalement servir de marqueur de dommages à ce niveau. Chez 8 patients atteints de maladie rénale tubulo-interstitielle, le NAG_i était élevé, bien qu'ils aient démontré une protéinurie absente ou très faible.⁶⁹ Cette trouvaille est en contradiction avec la corrélation du NAG_i et de la protéinurie chez des patients atteints de GN dans la même étude. Chez l'homme, lors de néphropathies à IgA menant à des dommages tubulo-interstitiels significatifs, les niveaux d'érythropoïétine (Epo) et de NAG_i ont été comparés comme marqueurs possibles de ces dommages.⁹⁸ Dans cette étude, 38 patients ayant une fonction rénale normale à la biochimie ont été évalués pour la corrélation entre leurs niveaux d'Epo et leur NAG_i et le degré de fibrose tubulo-interstitielle évaluée par biopsie rénale. Les résultats de cette étude ont révélé une corrélation positive significative entre le degré de fibrose et le NAG_i, mais pas avec les niveaux d'Epo. Le NAG_i est donc considéré comme un marqueur utile pour évaluer la progression de néphropathies à IgA.

Le NAG_i lors de maladies rénales diverses chez le chien et le chat

Chez le chien, Sato *et al.* ont suivi le NAG_i chez 7 chiens atteints de diverses maladies rénales chroniques.³⁰ Ces chiens avaient initialement des valeurs de BUN et de Cr_s légèrement augmentés. Leur NAG_i était significativement plus élevée que chez des chiens normaux et il n'était pas corrélé aux niveaux de BUN et de Cr_s. De plus, le suivi de ces chiens a démontré une détérioration graduelle de leur condition rénale. L'étiologie de la maladie rénale de ces chiens et la présence de protéinurie n'est pas citée dans l'étude.

Chez 4 chats atteints d'IRC, le NAG_i n'était pas corrélé aux niveaux de BUN, de Cr_s ou à la protéinurie.³³ Certains chats de cette étude ont également démontré une élévation du NAG_i avant l'apparition d'azotémie. L'étiologie de la maladie rénale de ces chats et la présence de protéinurie n'est pas citée dans l'étude.

La NAG lors d'hypertension

Alors que certaines études suggèrent que l'hypertension pourrait induire une élévation de la NAG, ce qui pourrait indiquer précocement des dommages rénaux lors de maladie hypertensive, d'autres études n'ont pas réussi à démontrer de relation entre la pression artérielle et la NAG.

Une première étude a comparé le NAG_i entre 84 hommes souffrant d'hypertension primaire, 102 individus normotensifs et 97 patients souffrant d'hypertension secondaire à diverses maladies rénales.⁹⁰ Le NAG_i de patients souffrant d'hypertension primaire était similaire à celui de patients normotensifs. Les patients atteints de maladie rénale avaient un NAG_i significativement plus élevé que les deux autres groupes et corrélé à la protéinurie. Suite au traitement médical de leur hypertension, seuls les patients atteints de maladie rénale ont vu leur NAG_i diminuer significativement.

Chez 82 patients humains atteints de néphropathie hypertensive, le NAG_i était significativement augmenté par rapport au groupe contrôle.⁹⁹ Chez 80 patients atteints d'hypertension primaire sans évidence de dommages rénaux, le NAG_i était significativement augmenté et corrélé à la pression systolique.¹⁰⁰ Chez 181 jeunes femmes de race noire, le NAG_i était corrélé à la pression systolique.⁶⁷

Par contre, chez 7 patients souffrant d'hypertension, seulement 2 ont démontré une élévation minime du NAG_i .⁶⁹ Enfin, dans une étude évaluant le NAG_i chez 423 patients souffrant d'hypertension légère, le NAG_i n'était pas significativement augmenté.⁸⁸

Chapitre deuxième : Présentation de l'article

“N-acetyl- β -D-glucosaminidase index as an early biomarker for chronic renal insufficiency in cats with hyperthyroidism”

Catherine Lapointe, Marie-Claude Bélanger, Marilyn Dunn, Maxim Moreau, and Christian Bédard

Abstract

Background: Hyperthyroid cats are at risk of developing chronic renal insufficiency (CRI) and diagnostic tools currently used to screen for renal insufficiency in hyperthyroid cats are either not reliable or impractical.

Hypothesis: Hyperthyroid cats with an increased n-acetyl- β -D-glucosaminidase index (NAG_i) and a normal renal biochemical profile at diagnosis of hyperthyroidism (HT₄) will suffer from CRI upon achieving euthyroidism (ET).

Animals: Twenty-four newly diagnosed hyperthyroid cats with a normal renal biochemical profile and ten healthy cats.

Methods: All cats were evaluated for HT₄. Hyperthyroid cats were started on methimazole upon their first evaluation (Evaluation 1) and were reevaluated once they achieved ET (Evaluation 2). Three months later (Evaluation 3), three groups were defined: healthy cats, normal euthyroid cats (NE) and euthyroid cats with CRI (ECRI). Serum creatinine and total thyroxine, systolic blood pressure, urinary specific gravity (USG), microalbuminuria and NAG_i were compared among groups at Evaluation 1. NAG_i between evaluations 1, 2 and 3 was also evaluated in NE and ECRI.

Results: NAG_i was significantly different between groups ($P=.004$), with a significantly higher value only in ECRI (median, 13.12 U/g) compared with healthy cats (median, 1.38 U/g). A NAG_i > 2.76 U/g had a negative predictive value (NPV) of 77.7% and a positive predictive value (PPV) of 50%. The combination of a USG \leq 1.035 and a T₄ > 100 nmol/L gave a NPV of 88.9% and a PPV of 83.3%. NAG_i decreased between Evaluations 1 and 3 in NE (mean, 8.0 and 1.3 respectively; $P = .0008$), but not in ECRI.

Conclusion and clinical relevance: NAG_i did not differentiate NE from ECRI at the time of diagnosis, but NAG_i appears to be a biomarker of active renal damage during HT₄. The USG and the T₄ could be used to identify appropriate candidates for a definitive treatment of HT₄. NAG_i could also be used to assess renal function during medical treatment allowing the clinician to adjust methimazole dosage accordingly.

Key words: Chronic kidney disease; Enzymuria; Feline hyperthyroidism; Total thyroxine; Urinary specific gravity.

Feline hyperthyroidism (HT₄) has recently become the most commonly encountered endocrinopathy in cats greater than 8 years of age.¹ The excess in thyroid hormones leads to kidney damage by decreasing the vascular resistance of arterioles^{2,3} and increasing renin activity.^{4,5} These two mechanisms are responsible for the increase in activity of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) and the increase in angiotensin II (AII) found in feline HT₄. AII promotes the activation and growth of fibroblasts and myocytes in the kidney directly and indirectly, through the increased secretion of different growth factors, most notably the transforming growth factor- β 1.^{6,7} AII also promotes local vasoconstriction directly and indirectly, through the induction of endothelin production. Increased amounts of AII in feline HT₄ has the potential to activate renal fibrogenesis which results in tubulo-interstitial nephritis and fibrosis⁶, one of the most common post-mortem findings in hyperthyroid cats.⁸ Therefore, the incidence of chronic renal disease, presumably secondary to tubulo-interstitial nephritis, is higher in hyperthyroid cats than in the general age-matched cat population.^{9,10} In fact, over 15% of newly diagnosed hyperthyroid cats already have biochemical evidence of chronic renal insufficiency (CRI).¹¹⁻¹⁴

As well as causing renal damage, untreated HT₄ modifies renal function rendering the diagnosis of CRI a challenge.^{15,16} Thyroid hormones cause an increase in glomerular filtration rate (GFR) and renal blood flow and a decrease in serum creatinine (Cr_s) and blood urea nitrogen levels. Consequently, predicting the renal function of hyperthyroid cats after treatment is difficult based on initial blood work. In fact, nearly 35% of cats without biochemical evidence of renal disease at the time of diagnosis of HT₄ will be identified with CRI once euthyroid.^{a,13,16-18}

Kidney disease was the first cause of death or euthanasia in a retrospective study of 251 hyperthyroid cats treated with radioactive iodine (¹³¹I).¹⁹ Kidney disease was also the second pretreatment factor, following age, that was negatively associated with survival in a study of 167 cats that had received various HT₄ treatment options.¹¹ Therefore, identifying underlying kidney disease in newly diagnosed hyperthyroid cats is crucial in order to improve patient outcome by early implementation of renal salvage therapies and allowing the appropriate selection of thyroid treatment (permanent with surgical thyroidectomy or

^{131}I treatment versus reversible therapy with methimazole). Adams *et al.* evaluated pretreatment GFR measurement in hyperthyroid cats as a diagnostic tool to predict renal failure once euthyroid.¹⁸ Their results showed that a value of less than 2.25 ml/kg/min predicted CRI with a sensitivity of 100% and a specificity of 78%. Although promising, GFR measurement is expensive and impractical in a clinical setting. Previously, urinary specific gravity (USG)^{13,16,20}, serum cystatin C^b, GFR and Cr_s^{a,16-18} have also been studied using the same rationale. As of yet, no practical early biomarker currently exists to reliably identify underlying CRI in newly diagnosed hyperthyroid cats.

Enzymuria is the presence of enzymes in urine. These enzymes can be found in the plasma before being filtered by the glomerulus or can come from the uro-genital tract and arise from the glomerulus, proximal or distal convoluted tubules, loop of Henle, collecting tubules, pelvis, ureters, bladder, urethra or prostate.^{21,22}

One such urinary enzyme is n-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG), a lysosomal glycosidase found primarily in epithelial cells of the proximal convoluted tubule.²³ It is known to be a specific marker of proximal tubular damage in many species.²⁴⁻²⁶ Because creatinine excretion is relatively constant over time, NAG is expressed as a ratio over urinary creatinine which yields the NAG index (U/g) (NAG_i).^{27,28} An increase in NAG_i reflects active epithelial cell damage. In humans and animals, it has been demonstrated that this enzyme can serve in the early detection of an array of renal diseases.²⁹⁻³¹ In chronic glomerulonephritis and tubulo-interstitial nephritis, NAG_i has also shown promise in assessing response to treatment and as a prognostic indicator.^{32,33} In cats, Sato *et al.* found significantly higher NAG_i values in cats with CRI compared to healthy cats.³⁴

The first objective of this study was to identify a practical early biomarker for CRI in hyperthyroid cats that do not have biochemical evidence of renal insufficiency prior to treatment with methimazole. The apparent sensitivity of NAG_i as a marker of proximal tubular damage as well as the increased incidence of CRI in hyperthyroid cats once euthyroidism (ET) is reestablished led us to hypothesize that hyperthyroid cats with a NAG_i within our reference range prior to treatment should have a normal renal function once

euthyroid. Similarly, cats with a NAG_i higher than the upper limit of our reference range at baseline should be in CRI once euthyroid. The second objective of this study was to assess if NAG_i is a good biomarker of active tubular damage in hyperthyroid cats. Since an increased NAG_i represents tubular epithelial cell damage, the treatment of HT_4 should result in a lower NAG_i at ET.

Materials and Methods

Cats

This study was performed at the Veterinary Teaching Hospital of the University of Montreal between May 2005 and September 2006. Animals were cared for according to guidelines provided by the Canadian Council on Animal Welfare. Ten healthy, client-owned cats over the age of 8 years presenting for health exams were recruited. They were judged healthy based on physical examination, hematology, biochemistry, total thyroxine (T₄), urinalysis and systolic indirect blood pressure (Doppler flow detector). The upper limit for systolic blood pressure was established at 160 mmHg.

During the same period, 24 client-owned cats with newly diagnosed and untreated HT₄ were recruited for the study. A diagnosis of HT₄ was based on an elevated T₄ (reference range 12-57 nmol/L) or a T₄ in the upper limit of the reference range accompanied by a palpable thyroid gland and the presence of typical clinical signs. Hyperthyroid cats with biochemical evidence of CRI (Cr_s > 180 µmol/L and USG < 1.035) or with a concomitant endocrinopathy were excluded.

Study design

At baseline (Evaluation 1), healthy and hyperthyroid cats were evaluated by physical examination, hematology, biochemistry, urinalysis with microalbuminuria and NAG_i measurements, T₄ and systolic blood pressure. Only hyperthyroid cats were reevaluated and all subsequent evaluations included the same parameters.

Hyperthyroid cats were treated with oral methimazole. The treatment was started after evaluation 1 and cats initially enrolled in the study were treated according to their weight: cats weighing less than 4.5 kg received 2.5 mg twice a day and cats weighing more than 4.5 kg received 2.5 to 5 mg twice a day depending on their clinical response.

Data was again collected at ET (Evaluation 2). ET was obtained by adjusting methimazole dose every three weeks until the T_4 was below 57 nmol/L for cats with an initial T_4 higher than the reference range and below 20 nmol/L for cats that had a T_4 in the upper limit of the reference range at Evaluation 1.

Evaluation 3 was performed three months after ET was reached. If HT_4 recurred, the methimazole dose was adjusted and a recheck was scheduled every three weeks until ET was achieved. At Evaluation 3, hyperthyroid cats were placed in either one of the following 2 groups: normal euthyroid cats (NE) and euthyroid cats with CRI (ECRI). The NE group was characterized by a T_4 value between 0 and 57 nmol/L and normal kidney function. All cats with biochemical evidence of CRI were included in the ECRI group. Thus, at the end of the study, we had three groups of cats: healthy cats, NE and ECRI.

Data collection and analysis

Urine was collected by cystocentesis and was preserved at 4°C until the sample was processed. Urine samples were centrifuged at 15°C at 2 000 G for 10 minutes. Urinalysis (biochemistry and urine sediment) was completed within 12 hours of sample collection. Three millilitres of supernatant were frozen at -20°C for further analysis of NAG. Supernatants were thawed at room temperature and processed for NAG measurements within 3 months of sample collection.

Laboratory methods

Urinary creatinine was measured by the Jaffé reaction.

NAG activity was measured kinetically by colorimetry^c on a Synchron CX5^d at 15°C. The reaction consists of 3-cresolsulfonphthaleinyl-N-acetyl- β -D-glucosaminide hydrolyzed by NAG with the release of 3-cresol-sulfonphthalein, a sodium salt (3-cresol purple), which is measured photometrically at 580 nm.

Microalbuminuria was determined using the Heska colorimetric test^e with one millilitre of urine supernatant within 8 hours of sample collection.

Statistical analysis

Data analysis was performed using NCSS statistical package^f. In healthy cats, mean and standard deviation were calculated for NAG_i . A Kruskal-Wallis one-way ANOVA was used to test for statistical difference among groups at Evaluation 1 for medians of age, weight, NAG_i , Cr_s , systolic blood pressure and USG. To determine which groups were significantly different from each other, a multiple-comparison Z-value adjusted with a Bonferroni test was performed. The difference between groups for T_4 was evaluated with a Wilcoxon rank-sum test. Chi-Square analysis was used to test for statistical difference for sex and microalbuminuria (negative or positive) between groups at Evaluation 1. When a statistical difference between NE and ECRI groups was present for one of the markers of renal disease (Cr_s , microalbuminuria, USG, T_4), blood pressure or NAG_i , the negative predictive value (NPV) and the positive predictive value (PPV) of the test by itself or combined with other markers were determined with a two by two table. For comparison purposes, the upper limit of the reference range for NAG_i in this study was set as the upper NAG_i level obtained in healthy cats. The upper limit of normal for USG was set at 1.035 and a limit of 100 nmol/L was set as a cutoff for T_4 . A Spearman test was used to screen for the presence of correlations between NAG_i and the markers for which a significant difference was present between NE and ECRI groups. A Friedman test on repeated measures was used to evaluate the effect of treatment on NAG_i (mean and standard deviation) over time in NE and ECRI. The level of significance was set at $P < .05$.

Results

Cats

Healthy cats consisted of 6 neutered males and 4 spayed females (1 Siamese, 2 domestic long-haired cats and 7 domestic short-haired cats). Age ranged from 9.9 to 14.2 years (mean, 11.8 years) and body weight from 3.8 to 6.7 kg (mean, 5.2 kg).

Twenty-four hyperthyroid cats without biochemical evidence of CRI were enrolled in the study (Evaluation 1). At Evaluation 2, hyperthyroid cats consisted of 20 NE and 4 ECRI based on biochemical renal values. At Evaluation 3, there were 17 NE and 7 ECRI (5 domestic long-haired cats and 19 domestic short-haired cats).

There were 8 neutered males and 9 spayed females in the NE group and 4 neutered males and 3 spayed females in the ECRI group. Age of NE ranged from 8.1 to 16.1 years (mean, 11.9 years) and age of ECRI ranged from 11.1 to 18.0 years (mean, 14.3 years). The body weight of NE ranged from 2.8 to 6.3 kg (mean, 4.4 kg) and body weight of ECRI from 2.6 to 4.8 kg (mean, 3.6 kg). There was a significant difference in weight between the groups ($P=.017$) with healthy cats being significantly heavier than ECRI. There was no significant difference between groups in regards to sex and age ($P>.05$).

Mean NAG_i in the 10 healthy cats was 1.39 ± 0.70 and ranged between 0.28-2.76 U/g. Thus, the upper limit of the reference range for NAG_i in this study was established at 2.76 U/g.

Data from evaluation 1

NAG_i , Cr_s , T_4 , USG and blood pressure from healthy, NE and ECRI from Evaluation 1 are presented in Table I.

There was a significant difference between the three groups for NAG_i ($P=.004$; Fig I). The difference was significant between ECRI (median, 13.12 U/g) and healthy cats (median,

1.38 U/g) and between NE (median, 3.34 U/g) and healthy cats, but not between ECRI and NE.

Cr_s concentrations were significantly different among the three groups ($P = .001$). Cr_s concentrations were higher in healthy cats than in NE and ECRI (median, 149, 111 and 105 $\mu\text{mol/L}$ respectively). T₄ concentrations were significantly different between NE and ECRI ($P = .047$; Fig II). T₄ concentrations were significantly higher in ECRI than in NE (median, 155 nmol/L and 96 nmol/L respectively). USG was significantly different among the three groups (median, $P=.02$). USG was significantly lower in ECRI than in NE (median, 1.028 and 1.048 respectively; Fig III). There was no difference in the prevalence of microalbuminuria between healthy, NE and ECRI. Twelve (50%) hyperthyroid cats (9/17 NE and 3/7 ECRI) were hypertensive at baseline, but systolic blood pressure was not significantly different among groups ($P>.05$).

The presence of a correlation was evaluated between NAG_i and T₄, NAG_i and systolic blood pressure and NAG_i and USG in NE and ECRI. The presence of a correlation was evaluated between NAG_i and systolic blood pressure and NAG_i and USG in healthy cats. There was a positive correlation of NAG_i with the T₄ ($P=.01$) in NE and with the systolic blood pressure in healthy cats ($P=.04$).

Significant differences between the NE and ECRI were detected for T₄ and USG. PPV and NPV for NAG_i, T₄ and USG alone and combined are reported in Table II. The combination of tests that rendered the highest PPV and NPV for the identification of the greatest number of cats as NE was the USG-T₄ combination (PPV: 83.3% ; NPV: 88.9%) with 75% of the cats classified as NE, including two cats which had been falsely classified. Adding the NAG_i to this combination did not improve the PPV or the NPV and permitted the identification of as many cats. Although the evaluation of the T₄ alone did render a better NPV for CRI (90.0% with one cat falsely classified), it did not permit the identification of as many NE (41.7%).

NAG_i over time

NAG_i levels in NE were significantly higher at Evaluation 1 than at Evaluation 3 (mean, 8.0 and 1.3 respectively; $P = .0008$; Fig IV). There was no difference in NAG_i levels between Evaluation 1 and 2 or 2 and 3. At Evaluation 1, 11/17 (64.7%) of NE had a NAG_i higher than our upper limit of the reference range (>2.76 U/g), while at Evaluation 3, only 3/17 (17.6%) had a NAG_i higher than 2.76 U/g. There was a similar tendency in the ECRI group, but the difference was not significant (mean, 22.6 and 3.73 U/g; $P > .05$; Fig V).

Discussion

This study tested the hypotheses that a high NAG_i upon diagnosis of HT_4 would be predictive of CRI once ET is reached with medical treatment and that a normal NAG_i would exclude the possibility of CRI. Our first hypothesis was rejected as NAG_i did not allow us to differentiate NE from ECRI. However, USG and T_4 from Evaluation 1 were significantly different between NE and ECRI and allowed to predict the occurrence of CRI at ET.

NAG_i from Evaluation 1 was not significantly different between NE and ECRI, however, it was significantly higher in NE and ECRI compared to age-matched healthy cats. A NAG_i lower than 2.76 U/g had a NPV for CRI of 77.7%. This finding was expected since an increase in NAG_i reflects active tubular damage. In HT_4 , renal hemodynamic changes can result in damage to the nephrons, especially the proximal convoluted tubule. Thus, a cat with a NAG_i lower than 2.76 U/g had a lesser risk of developing CRI and would then be a good candidate for definitive treatment of HT_4 . Based on NAG_i results from Evaluation 1, 9/24 hyperthyroid cats (37.5%) had a NAG_i lower than 2.76 U/g and would have been selected for a definitive treatment upon diagnosis. Of these, two developed CRI at ET. In total, 2/24 (8.3%) of hyperthyroid cats from this study would have received inappropriate treatment if only NAG_i from Evaluation 1 had been considered as a predictor of CRI. NAG_i 's apparent lack of sensitivity in detecting CRI in these cats could not be explained. In comparison, if a definitive treatment had been given to all hyperthyroid cats that had normal renal biochemical values at Evaluation 1 (24/24), 7 cats would have been inappropriately treated (29.2%). In order to assess if NAG_i is a sensitive indicator for CRI in cats, larger scale studies evaluating NAG_i during the follow-up of chronic renal insufficient cats of all ages are warranted. Moreover, the number of cats included in this study possibly limited the power of our statistical analysis. Perhaps if we had more cats, we may have revealed the capacity of NAG_i to differentiate between NE and ECRI at Evaluation 1.

There was a significant difference at Evaluation 1 for USG and T₄ between NE and ECRI. A USG greater than 1.035 or a T₄ lower than 100 nmol/L ruled out CRI in 87.5% and 90% of the cases respectively. Based on the evaluation of USG alone, more of our hyperthyroid cats (66.7%) would have been selected for a definitive treatment upon the diagnosis of HT₄ compared to the evaluation of the T₄ alone (41.7%). Although, the probability of mistreating a cats with a definitive treatment was lower with the evaluation of the T₄ (4.2%) compared to the USG (8.3%). These results suggest that a cat just diagnosed with HT₄ that has a T₄ lower than 100 nmol/L could undergo a definitive treatment with ¹³¹I or surgical thyroidectomy. Nevertheless, the USG should also be evaluated if the T₄ is higher than or equal to 100 nmol/L.

If we combine the USG and the T₄, a USG lower or equal to 1.035 and a T₄ greater or equal to 100 nmol/L predicted CRI at ET in 83.3% of the cases. If either one, or both, of these criteria were not met, it was determined that 88.9% of the cats had a normal renal function three months after ET was reached. With this combination, two more cats were correctly identified as NE compared to the evaluation of the USG alone, permitting the definitive treatment of 18/24 (75%) of hyperthyroid cats with 8.3% receiving an inappropriate treatment. These results suggest that if the T₄ is higher than or equal to 100 nmol/L and the USG is higher than 1.035 at the diagnosis of HT₄, a definitive treatment could be chosen with a low risk of CRI three months after ET. The evaluation of the T₄ alone or with the combination of USG appears to be the most useful tool for treatment selection of newly diagnosed cats with HT₄.

The difference between pre and post-treatment USG and T₄ between study groups was unexpected. USG has previously been evaluated in hyperthyroid cats^{13,16-18} but these studies did not evaluate predictive values. The data from 12 hyperthyroid cats with a normal renal biochemical profile prior to treatment was available in one of these studies.¹⁶ We calculated both the positive and negative predictive values and found a PPV of 50% and a NPV 87.5%. These values are very similar to our findings. To our knowledge, T₄ has never been evaluated as a predictor of CRI in hyperthyroid cats. The difference in T₄ between NE and ECRI suggests that severely hyperthyroid cats are more likely to suffer severe renal

damage. Nevertheless, severe HT₄ at baseline does not always lead to CRI as shown in one NE that had a T₄ level of 308.9 nmol/L. Because these tests are both practical and available, we recommend further investigation of USG and T₄ as markers of CRI in hyperthyroid cats.

Our second hypothesis was verified: following treatment for HT₄, NAG_i decreased over time. Therefore, given that an increased NAG_i represents active tubular cell damage, the correction of HT₄ appears to decrease associated renal damage. In ECRI, even though the difference between Evaluation 1 and 3 did not reach statistical significance, a tendency was present. This suggests that the progression of renal disease associated with HT₄ may be slowed if the latter is well controlled. Additionally, NAG_i in the majority of ECRI never reached the levels within our reference range. An explanation for this finding is that renal damage acquired by these cats during HT₄ could be important enough to continuously generate mild tubular injuries through the presence of tubulo-interstitial nephritis, proteinuria and/or hypertension once HT₄ has been resolved. Furthermore, NAG_i tends to decrease within our reference range in the majority of NE. While it is known that cardiovascular function may improve with treatment of HT₄, this new data demonstrates that renal function may also benefit from early treatment. In humans, NAG_i is used to monitor the progression and response to treatment of kidney disease.^{35,36} Similarly, NAG_i could be investigated to determine its use as a potential marker for the monitoring of chronic renal insufficient hyperthyroid cats receiving methimazole in order to detect the progression of kidney disease.

Body weights of ECRI at Evaluation 1 were significantly lower compared to healthy cats and tended to be lower compared to NE. Hyperthyroid cats had significantly lower Cr_s levels compared to healthy cats. This may be a result of decreased muscle mass in HT₄, especially in ECRI. However, the evaluation of the body weight in regard to each cat's size would have been necessary to conclude that lower Cr_s is secondary to decreased muscle mass. Although it can also be hypothesized that lower body weight, combined with increased GFR and tubular secretion of creatinine³⁷, may have resulted in the delay in identifying CRI at Evaluation 1.

The possible impact of weight gain following treatment on urinary creatinine and hence on the NAG_i was not investigated. It could be argued that the decrease in NAG_i over time following treatment could be due in part to increased Cr_s values resulting in increased urinary creatinine levels. Nevertheless, when we looked at the urinary creatinine levels over time in each cat (data not shown), it tended to remain stable in most cats through Evaluations 1 to 3.

At Evaluation 3, 17 (70.3%) of the cats still had normal biochemical renal function while 7 cats (29.2%) were diagnosed with CRI. This percentage is lower than what is reported in Adam's study in which 5 of 13 (38.5%) of hyperthyroid cats with normal pretreatment renal values were diagnosed with CRI 30 days following treatment with ^{131}I .¹⁸ Other studies report rates of 17-63% with an average of 35% of CRI in cats following treatment for HT_4 .^{a,16,17,19} At Evaluation 2, 4/7 (57%) of ECRI were diagnosed with CRI. The remaining ECRI were identified at Evaluation 3. Hence, only 57% of ECRI were diagnosed with CRI soon after correction of HT_4 at ET. Contrary to previous recommendations³⁸, our findings reveal that normal renal values at ET are insufficient to ensure adequate renal function. Consequently, because a cat with a USG less than or equal to 1.035 and a T_4 greater than or equal to 100 nmol/L upon diagnosis has a 83.8% chance of being in CRI three months after reaching ET, we recommend that ET be maintained medically for 3 to 6 months before opting for definitive treatment.

In humans, the relationship between hypertension and increased NAG_i is the subject of much debate. While some studies report that NAG_i is not influenced by hypertension if renal function is normal³⁹, others suggest there might be a relationship between these two parameters.⁴⁰ Glomerular hypertension damages the kidneys in two ways. Firstly, it directly causes injury to the glomerular capillary bed which results in glomerulosclerosis.⁴¹ Secondly, glomerular hypertension increases GFR resulting in glomerular proteinuria. This second phenomenon causes damage to the tubulo-interstitial tissue, and results in more nephron loss than glomerulosclerosis alone.⁴² Although 50% of hyperthyroid cats in our study were hypertensive at Evaluation 1, systolic blood pressure was not different between NE and ECRI and did not predict the occurrence of CRI at ET. The belief that the majority

of hyperthyroid cats suffer from hypertension⁴ has recently been challenged by studies in which only 5-48% of HT₄ cats were hypertensive upon diagnosis.^{43,44} Our results support these latter studies. Furthermore, there was no correlation between NAG_i and systolic blood pressure in our hyperthyroid cats.

Microalbuminuria at Evaluation 1 was not statistically different between NE and ECRI and did not predict the incidence of CRI at ET. This finding is in agreement with another study⁸ in which proteinuria was evaluated as a marker of CRI in hyperthyroid cats with normal renal biochemical values prior to treatment. In that study, baseline proteinuria was not statistically different between hyperthyroid cats that were in CRI after six months of treatment compared with cats that did not develop CRI. Microalbuminuria has been associated with disease processes commonly found in the cat population affected by HT₄.^h Recent findings show that chronic renal insufficient cats tend to have only mild proteinuria.⁴⁵ This is in agreement with kidney histopathological findings of hyperthyroid cats having mostly tubulo-interstitial nephritis instead of glomerular disease.⁸ Therefore, microalbuminuria does not seem to be a specific marker for CRI in hyperthyroid cats. Nevertheless, proteinuria is known to be a risk factor for the progression of CRI in humans⁷, and it has recently been associated negatively with survival in cats.⁴⁵ Consequently, if microalbuminuria is detected in an hyperthyroid cat, a urinary protein : creatinine ratio (UPC) should be assessed and investigation of the underlying cause should be performed.⁴⁶

One limitation of this study is the possible impact that the excess of thyroid hormones has on the excretion of NAG from the renal tubular epithelial cells. The number of NE (10/17) with a NAG_i higher than the upper limit of our reference range at Evaluation 1 could suggest that other mechanisms could be responsible for the increased levels of NAG in the urine. Some researchers have evaluated the possible physiologic shedding of NAG in humans.⁴⁷ It was suggested that increased NAG in the urine could be secondary to a dynamic process of synthesis for the tubular elimination of different toxins or drugs. Others have also suggested that HT₄ could induce an increased urinary NAG in humans, but the

exact mechanism could not be determined.⁴⁸ Thus, further evaluation of NAG_i in cats with induced HT_4 and concurrent evaluation of renal histopathology is warranted.

Another limitation of this study is the cutoff value for Cr_s used to define CRI (180 $\mu\text{mol/L}$). Had we used the IRIS classification¹ to define chronic kidney disease, we probably would have included more cats in the ECRI group. Nevertheless, because aging cats tend to have increased Cr_s levels compared with younger cats,⁹ we think that a Cr_s cutoff of 180 $\mu\text{mol/L}$ better suited the goals of this study.

Conclusion

In conclusion, we have shown that NAG_i does not appear to be an early biomarker of CRI in newly diagnosed cats with HT_4 . Nevertheless, the combination of USG and T_4 offers good predictive values and is more useful than NAG_i alone or combined to identify CRI in hyperthyroid cats. NAG_i could be an interesting tool to monitor progressive renal damage during medical therapy of HT_4 . Larger scale studies and normal ranges for NAG_i in cats are needed. Our study also revealed that other markers of renal damage (Cr_s and microalbuminuria) and systolic blood pressure are not reliable to detect masked CRI in hyperthyroid cats. Our data showed that if the T_4 is higher than or equal to 100 nmol/L, the USG should be evaluated. In the presence of a USG is lower than or equal to 1.035, a medical treatment with methimazole for at least 3 to 6 months should be favored before instituting a definitive treatment by either surgical thyroidectomy or ^{131}I .

Tables

Table I Medians of n-acetyl- β -D-glucosaminidase index, serum creatinine, total thyroxine and urinary specific gravity from Evaluation 1 in healthy, normal euthyroid cats and euthyroid chronic renal insufficient cats.

	Healthy n=10	NE n=17	ECRI n=7	P value
NAG _i (U/g)	1.38*	3.34	13.12	.004
Cr _s (μ mol/L)	149*	111	105	.001
T ₄ (nmol/L)	NA	96.1	155**	.047
USG	1.048	1.048	1.028**	.024
Blood pressure (mmHg)	140	170	160	>.05

* = the difference is significant only between healthy cats and the other groups

** = the difference is significant only between NE and ECRI

Table II Positive predictive value and negative predictive value of n-acetyl- β -D-glucosaminidase index, serum creatinine, total thyroxine and urinary specific gravity from Evaluation 1 to predict chronic renal insufficiency in cats with hyperthyroidism.

	PPV	NPV	Cats considered normal for this parameter
$\text{NAG}_i > 2.76 \text{ U/g}$	50.0%	77.7%	37.5%
$\text{USG} \leq 1.035$	62.5%	87.5%	66.7%
$\text{T}_4 \geq 100 \text{ nmol/L}$	42.9%	90.0%	41.7%
$\text{NAG}_i > 2.76 \text{ U/g}$ and $\text{USG} \leq 1.035$	71.4%	88.2%	70.8%
$\text{NAG}_i > 2.76 \text{ U/g}$, $\text{USG} \leq 1.035$ and T_4 $\geq 100 \text{ nmol/L}$	83.3%	88.9%	75%
$\text{USG} \leq 1.035$ and T_4 $\geq 100 \text{ nmol/L}$	83.3%	88.9%	75%

Figures

Fig. 1 Median n-acetyl- β -D-glucosaminidase index (U/g) at Evaluation 1 in healthy (n=10), normal euthyroid (n=17) and euthyroid chronic renal insufficient cats (n=7). N-acetyl- β -D-glucosaminidase index was significantly higher in normal euthyroid and euthyroid chronic renal insufficient cats compared to healthy cats ($P=.004$). The horizontal line represents the upper limit of n-acetyl- β -D-glucosaminidase established in this study (≤ 2.76 U/g).

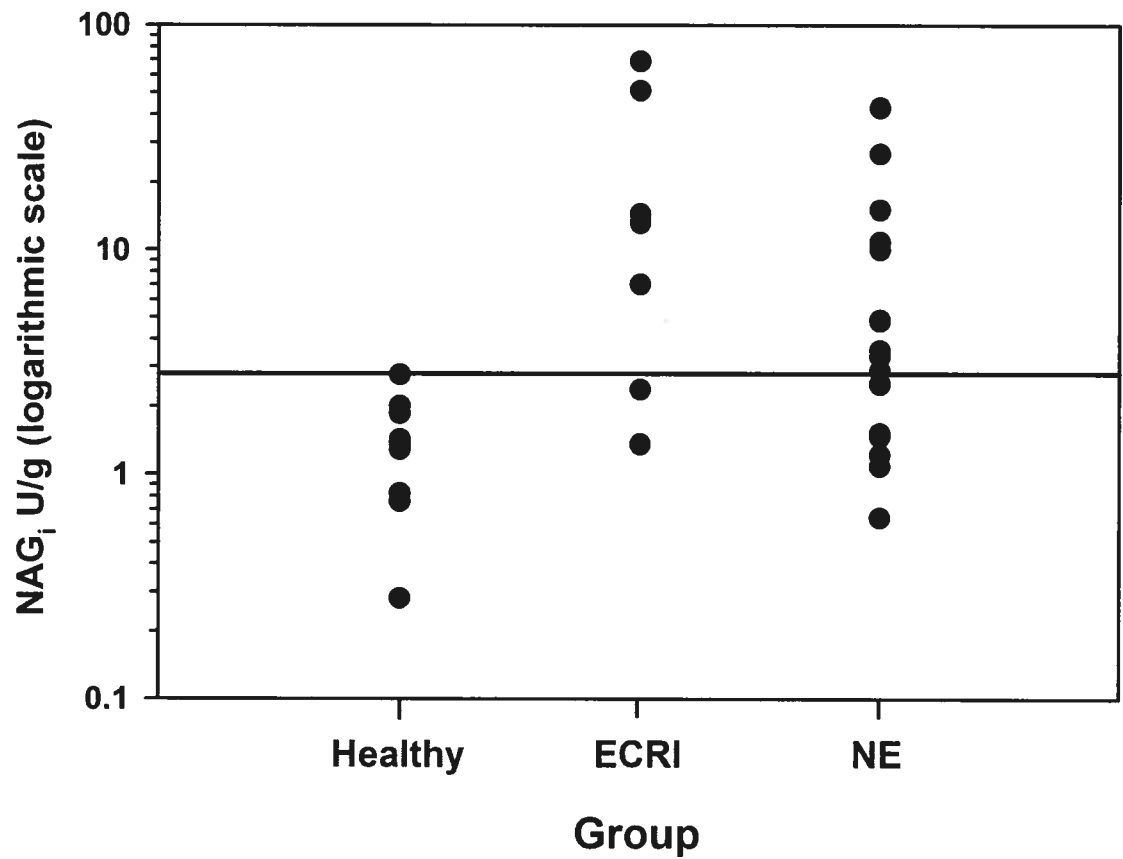


Fig. 2 Median urinary specific gravity at Evaluation 1 in healthy (n=10), normal euthyroid (n=17) and euthyroid chronic renal insufficient cats (n=7). USG was significantly higher in normal euthyroid compared with euthyroid chronic renal insufficient cats ($P=.024$). The horizontal line represents the lower limit of normal for urinary specific gravity established in this study (>1.035).

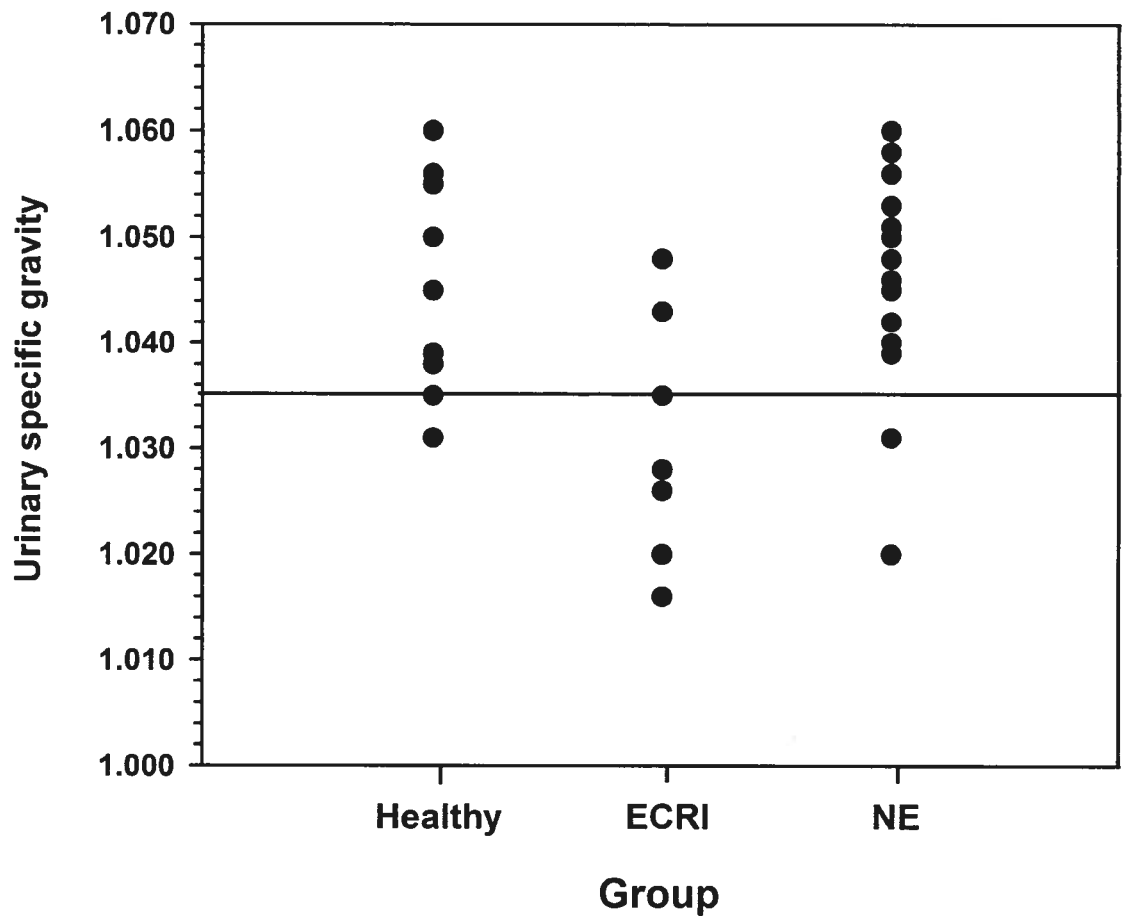


Fig. 3 Median total thyroxine (nmol/L) at Evaluation 1 in normal euthyroid (n=17) and euthyroid chronic renal insufficient cats (n=7). Total thyroxine was significantly higher in normal euthyroid compared to euthyroid chronic renal insufficient cats ($P=.047$). The horizontal line represents total thyroxine values lower than 100 nmol/L.

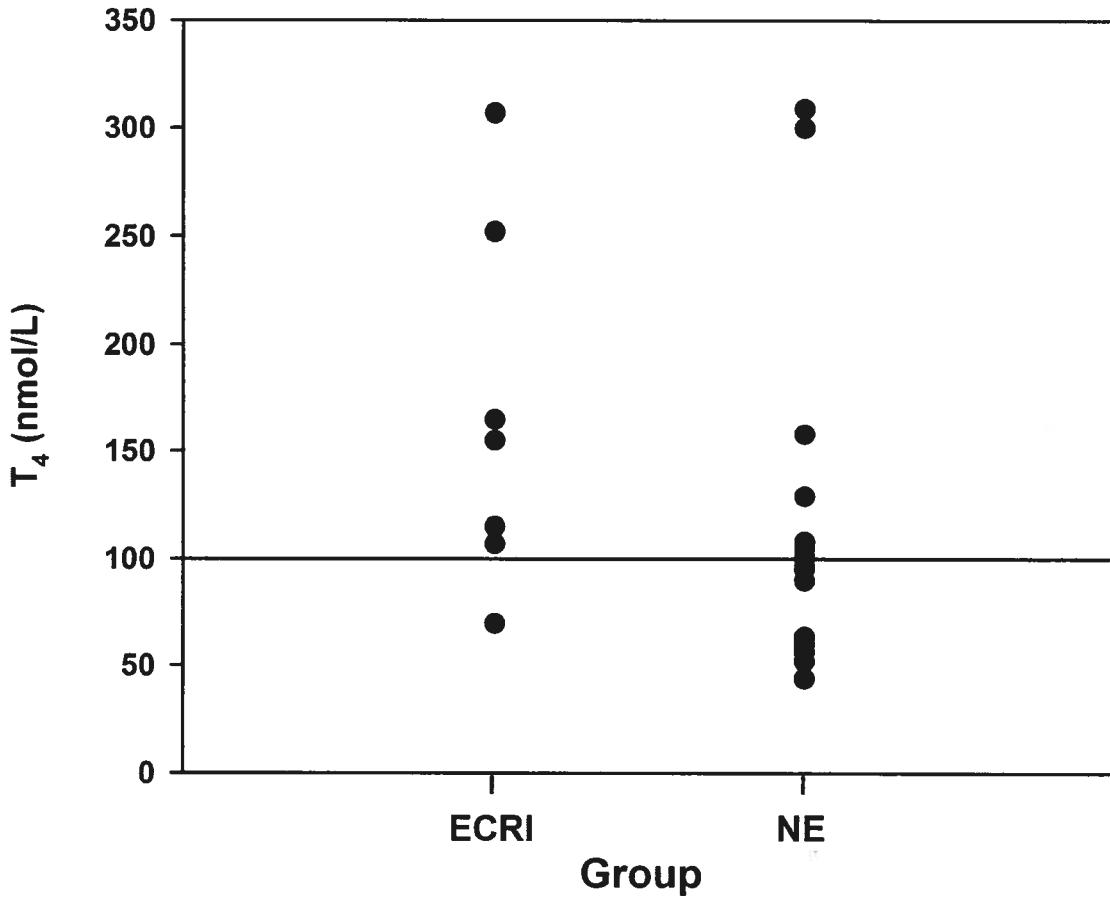


Fig. 4 Mean n-acetyl- β -D-glucosaminidase (U/g) over time with treatment in normal euthyroid cats (n=17). N-acetyl- β -D-glucosaminidase was significantly different between Evaluations 1 and 3 ($P=.0008$). Error bar represents standard deviation.

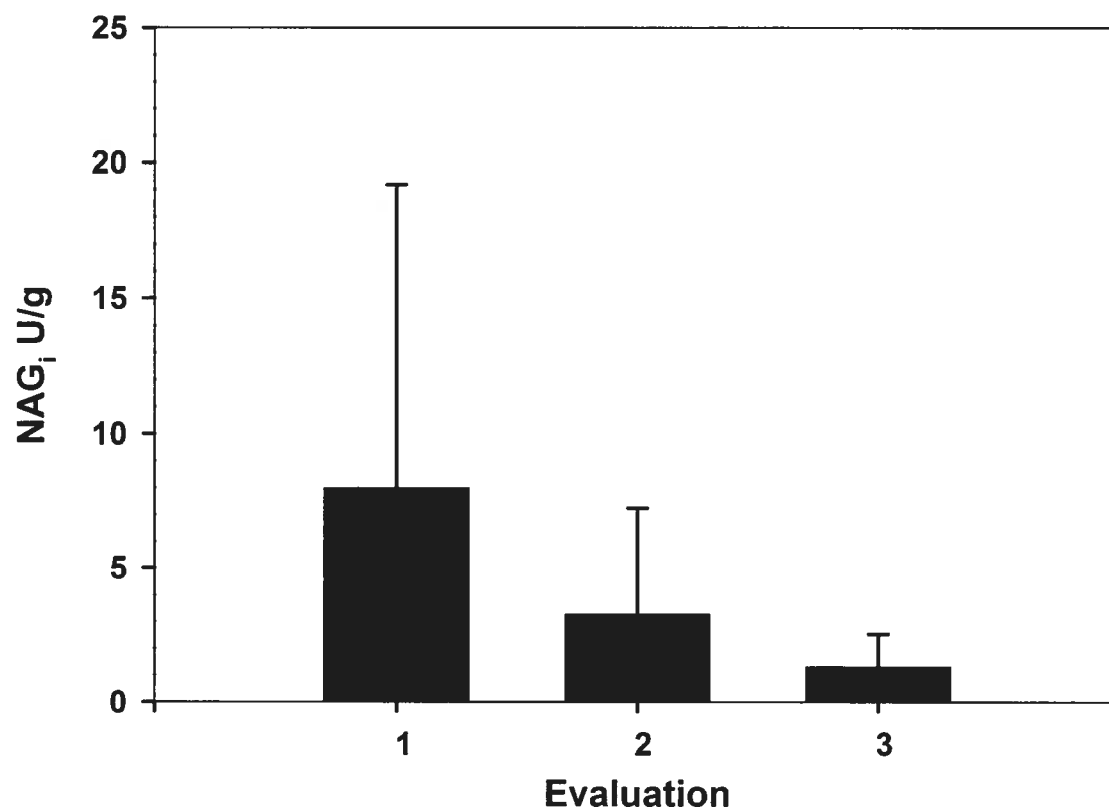
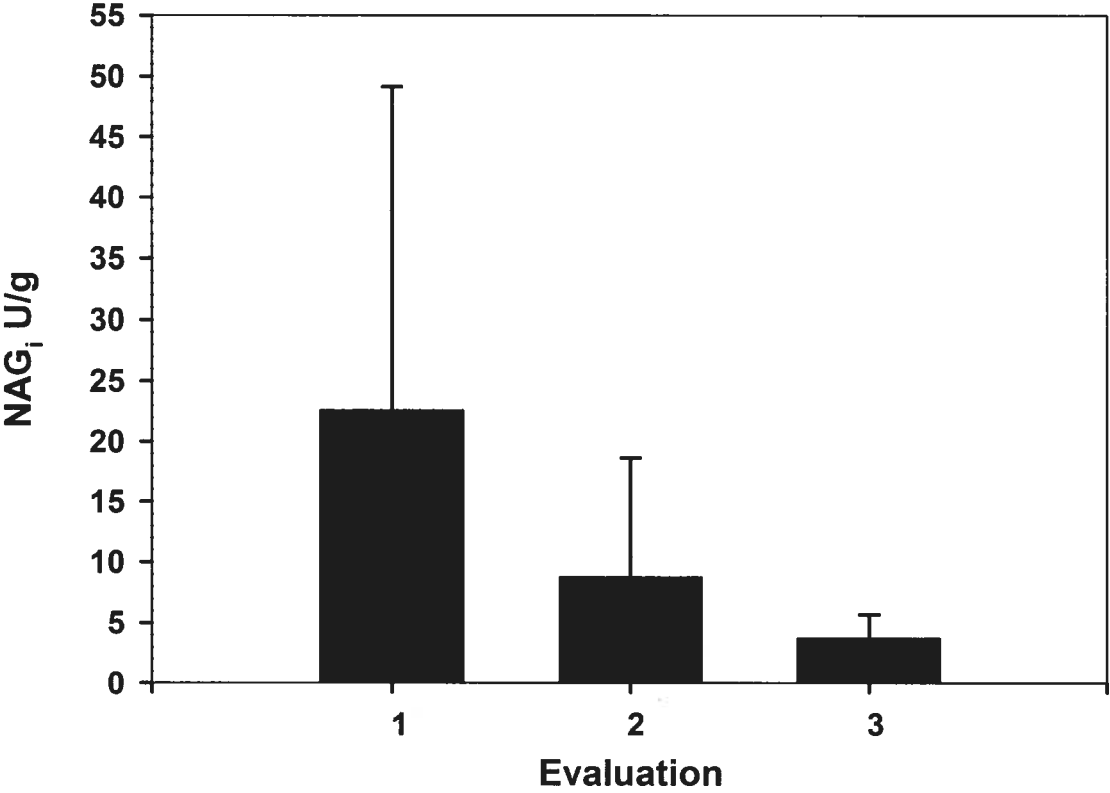


Fig. 5 Mean n-acetyl-β-D-glucosaminidase (U/g) over time with treatment in euthyroid chronic renal insufficient cats (n=7). N-acetyl-β-D-glucosaminidase was not significantly different between Evaluations 1 and 3 ($P<.05$). Error bar represents standard deviation.



Footnotes

- ^a Rogers KS, Burkholder WJ, Slater MR, Bahr AM. Development of and predictors for renal disease and clinical outcomes in hyperthyroid cats treated with ¹³¹I (abstract). J Vet Intern Med 2000;14 :343
- ^b Jepson R, Slater L, Nash S, et al. Evaluation of cystatin C as a marker of GFR in hyperthyroid cats (abstract). J Vet Intern Med 2006;20:740
- ^c N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG) Colorimetric Assay, Roche Applied Sciences, Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN 46250
- ^d Synchron Clinical Systems, Beckman Coulter, Fullerton, CA
- ^e ERD-HealthScreen, Heska Corporation, Fort Collins, CO 80525
- ^f Number Cruncher Statistical System (NCSS) 2001, Kaysville, Utah
- ^g Syme HM, Elliott J. Evaluation of proteinuria in hyperthyroid cats (abstract). J Vet Intern Med 2001;15:299
- ^h http://www.heska.com/erd/manage_test.asp, June, 2007

References

1. Mooney CT. Hyperthyroidism. *In* Ettinger SJ, Feldman EC (eds): Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the dog and cat, 6th ed. St. Louis, Mo.: Elsevier Saunders; 2005;p.1544.
2. Kienle RD, Bruyette D, Pion PD. Effects of thyroid hormone and thyroid dysfunction on the cardiovascular system. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1994;24:495-507.
3. Klein I, Ojamaa K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *N Engl J Med* 2001;344:501-509.
4. Kobayashi DL, Peterson ME, Graves TK, et al. Hypertension in cats with chronic renal failure or hyperthyroidism. *J Vet Intern Med* 1990;4:58-62.
5. Ganong WF. Thyroid hormones and renin secretion. *Life Sci* 1982;30:561-569.
6. Gilbert RE, Wu LL, Kelly DJ, et al. Pathological expression of renin and angiotensin II in the renal tubule after subtotal nephrectomy. Implications for the pathogenesis of tubulointerstitial fibrosis. *Am J Pathol* 1999;155:429-440.
7. Tryggvason K, Pettersson E. Causes and consequences of proteinuria: the kidney filtration barrier and progressive renal failure. *J Intern Med* 2003;254:216-224.
8. Turrel JM, Feldman EC, Nelson RW, et al. Thyroid carcinoma causing hyperthyroidism in cats: 14 cases (1981-1986). *J Am Vet Med Assoc* 1988;193:359-364.
9. Lulich J, Osborne C, O'Brien T, et al. Feline renal failure: questions, answers, questions. *Comp Cont Edu Pract Vet* 1992;14:127-152.
10. Lund EM, Armstrong PJ, Kirk CA, et al. Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States. *J Am Vet Med Assoc* 1999;214:1336-1341.
11. Milner RJ, Channell CD, Levy JK, et al. Survival times for cats with hyperthyroidism treated with iodine 131, methimazole, or both: 167 cases (1996-2003). *J Am Vet Med Assoc* 2006;228:559-563.

12. Peterson ME, Kintzer PP, Cavanagh PG, et al. Feline hyperthyroidism: pretreatment clinical and laboratory evaluation of 131 cases. *J Am Vet Med Assoc* 1983;183:103-110.
13. DiBartola SP, Broome MR, Stein BS, et al. Effect of treatment of hyperthyroidism on renal function in cats. *J Am Vet Med Assoc* 1996;208:875-878.
14. Bucknell D. Feline hyperthyroidism: spectrum of clinical presentations and response to carbimazole therapy. *Aust Vet J* 2000;78:462-465.
15. Adams WH, Daniel GB, Legendre AM. Investigation of the effects of hyperthyroidism on renal function in the cat. *Can J Vet Res* 1997;61:53-56.
16. Becker TJ, Graves TK, Kruger JM, et al. Effects of methimazole on renal function in cats with hyperthyroidism. *J Am Anim Hosp Assoc* 2000;36:215-223.
17. Graves TK, Olivier NB, Nachreiner RF, et al. Changes in renal function associated with treatment of hyperthyroidism in cats. *Am J Vet Res* 1994;55:1745-1749.
18. Adams WH, Daniel GB, Legendre AM, et al. Changes in renal function in cats following treatment of hyperthyroidism using ¹³¹I. *Vet Radiol Ultrasound* 1997;38:231-238.
19. Slater MR, Geller S, Rogers K. Long-term health and predictors of survival for hyperthyroid cats treated with iodine 131. *J Vet Intern Med* 2001;15:47-51.
20. Broussard JD, Peterson ME, Fox PR. Changes in clinical and laboratory findings in cats with hyperthyroidism from 1983 to 1993. *J Am Vet Med Assoc* 1995;206:302-305.
21. Stonard MD, Gore CW, Oliver GJ, et al. Urinary enzymes and protein patterns as indicators of injury to different regions of the kidney. *Fundam Appl Toxicol* 1987;9:339-351.
22. Price RG. Urinary enzymes, nephrotoxicity and renal disease. *Toxicology* 1982;23:99-134.
23. Bourbouze R, Baumann FC, Bonvalet JP, et al. Distribution of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase isoenzymes along the rabbit nephron. *Kidney Int* 1984;25:636-642.
24. Clemo FA. Urinary enzyme evaluation of nephrotoxicity in the dog. *Toxicol Pathol* 1998;26:29-32.

25. D'Amico G, Bazzi C. Urinary protein and enzyme excretion as markers of tubular damage. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003;12:639-643.
26. Skalova S. The diagnostic role of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) activity in the detection of renal tubular impairment. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 2005;48:75-80.
27. Grauer GF, Greco DS, Behrend EN, et al. Estimation of quantitative enzymuria in dogs with gentamicin-induced nephrotoxicosis using urine enzyme/creatinine ratios from spot urine samples. *J Vet Intern Med* 1995;9:324-327.
28. Wellwood JM, Ellis BG, Price RG, et al. Urinary N-acetyl- beta-D-glucosaminidase activities in patients with renal disease. *Br Med J* 1975;3:408-411.
29. Costigan MG, Rustom R, Bone JM, et al. Origin and significance of urinary N-acetyl-beta, D-glucosaminidase (NAG) in renal patients with proteinuria. *Clin Chim Acta* 1996;255:133-144.
30. Kuzniar J, Marchewka Z, Lembas-Bogaczyk J, et al. Etiology of increased enzymuria in different morphological forms of glomerulonephritis. *Nephron Physiol* 2004;98:p8-14.
31. Sato R, Soeta S, Miyazaki M, et al. Clinical availability of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase index in dogs with urinary diseases. *J Vet Med Sci* 2002;64:361-365.
32. Bazzi C, Petrini C, Rizza V, et al. Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:1890-1896.
33. Kordonouri O, Hartmann R, Muller C, et al. Predictive value of tubular markers for the development of microalbuminuria in adolescents with diabetes. *Horm Res* 1998;50 Suppl 1:23-27.
34. Sato R, Soeta S, Syuto B, et al. Urinary excretion of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and its isoenzymes in cats with urinary disease. *J Vet Med Sci* 2002;64:367-371.
35. Fede C, Conti G, Chimenz R, et al. N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and beta2-microglobulin: prognostic markers in idiopathic nephrotic syndrome. *J Nephrol* 1999;12:51-55.

36. Kunin CM, Chesney RW, Craig WA, et al. Enzymuria as a marker of renal injury and disease: studies of N-acetyl-beta-glucosaminidase in the general population and in patients with renal disease. *Pediatrics* 1978;62:751-760.
37. Shirota T, Shinoda T, Yamada T, et al. Alteration of renal function in hyperthyroidism: increased tubular secretion of creatinine and decreased distal tubule delivery of chloride. *Metabolism* 1992;41:402-405.
38. Feldman EC, Nelson RW. Feline hyperthyroidism (thyrotoxicosis). *In*: Feldman, EC, Nelson, RW (eds): *Canine and feline endocrinology and reproduction*, 3rd ed. St. Louis, Mo.: Saunders Elsevier; 2004; p. 152.
39. Abraham PA, Mascioli SR, Launer CA, et al. Urinary albumin and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase excretions in mild hypertension. *Am J Hypertens* 1994;7:965-974.
40. Alderman MH, Melcher L, Drayer DE, et al. Increased excretion of urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase in essential hypertension and its decline with antihypertensive therapy. *N Engl J Med* 1983;309:1213-1217.
41. Brown SA, Brown CA. Single-nephron adaptations to partial renal ablation in cats. *Am J Physiol* 1995;269:R1002-1008.
42. Remuzzi G, Bertani T. Pathophysiology of progressive nephropathies. *N Engl J Med* 1998;339:1448-1456.
43. Stiles J, Polzin D, Bistner S. The prevalence of retinopathy in cats with systemic hypertension and chronic renal failure or hyperthyroidism. *J Am Anim Hosp Assoc* 1994;30:564.
44. Langston CE, Reine NJ. Hyperthyroidism and the kidney. *Clin Tech Small Anim Pract* 2006;21:17-21.
45. Syme HM, Markwell PJ, Pfeiffer D, et al. Survival of cats with naturally occurring chronic renal failure is related to severity of proteinuria. *J Vet Intern Med* 2006;20:528-535.
46. Lees GE, Brown SA, Elliott J, et al. Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (small animal). *J Vet Intern Med* 2005;19:377-385.

47. Gibey R, Dupond JL, Henry JC. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) isoenzyme profiles: a tool for evaluating nephrotoxicity of aminoglycosides and cephalosporins. *Clin Chim Acta* 1984;137:1-11.
48. Tominaga M, Fujiyama K, Hoshino T, et al. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in the patients with hyperthyroidism. *Horm Metab Res* 1989;21:438-440.

Chapitre troisième : Discussion

Cette étude a testé l'hypothèse selon laquelle au moment du diagnostic de l'HT₄, les chats ayant un NAG_i normal auraient une fonction rénale normale à l'atteinte de l'ET, tandis que les chats ayant un NAG_i augmenté seraient en IRC à l'ET. Notre première hypothèse a dû être rejetée, puisque le NAG_i n'a pu différencier les chats euthyroïdiens normaux (NE) des chats euthyroïdiens atteints d'IRC (ECRI) au moment du diagnostic de l'HT₄. Par contre, la DU et la T₄ de l'Évaluation 1 étaient significativement différentes entre les NE et les ECRI et ont permis de prédire l'apparition de l'IRC à l'ET.

Le NAG_i de l'Évaluation 1 était significativement plus élevé pour les NE et les ECRI comparativement aux chats en santé du même groupe d'âge, mais n'était pas différent entre les deux groupes d'hyperthyroïdiens. Un NAG_i inférieur à 2,76 U/g avait une valeur prédictive négative (VPN) pour l'IRC de 77,7%. Cette trouvaille était prévisible puisque l'élévation du NAG_i fait suite à des dommages tubulaires proximaux actifs et que lors d'HT₄, des changements hémodynamiques endommagent le néphron, et plus particulièrement le tubule contourné proximal. Ainsi, un chat ayant un NAG_i inférieur à 2,76 U/g avait un risque moindre de développer de l'IRC et serait un bon candidat pour un traitement définitif de l'HT₄. Basé sur le NAG_i de l'Évaluation 1, 9 des 24 chats hyperthyroïdiens (37,5%) avaient un NAG_i inférieur à 2,76 U/g et auraient pu être sélectionnés pour avoir un traitement définitif dès le diagnostic. De ces chats, 2 ont développé de l'IRC à l'ET, donc 2 des 24 (8,3%) chats hyperthyroïdiens n'auraient pas été traités de manière appropriée en se fiant au NAG_i seulement. Le manque de sensibilité du NAG_i pour identifier l'IRC chez ces deux ECRI n'a pu être expliquée. Par contre, si un traitement définitif avait été appliqué pour tous les chats hyperthyroïdiens qui avaient un profil biochimique rénal normal au moment du diagnostic de l'HT₄ (24/24), 7 (29,2%) d'entre eux auraient été inconvenablement traités. Afin d'évaluer si le NAG_i est un indicateur sensible de l'IRC chez le chat, de plus amples études évaluant le NAG_i au cours du suivi de chats de tout âges atteints d'IRC seraient requises. De plus, le nombre de chats de cette étude a limité la puissance statistique de nos analyses. En ayant eu plus de chats, nous aurions pu révéler que le NAG_i permet de différencier les NE des ECRI au diagnostic de l'HT₄.

Par ailleurs, la DU et la T_4 étaient significativement différents entre les NE et les ECRI à l'Évaluation 1. Une DU supérieure à 1,035 ou une T_4 inférieure à 100 nmol/L ont respectivement éliminé la possibilité d'IRC à l'ET chez 87,5% et 90% des cas. Si on se base sur la DU uniquement, plus de chats (66,7%) auraient été initialement sélectionnés pour un traitement définitif qu'en se basant sur l'évaluation de la T_4 seulement (41,7%). Toutefois, la probabilité d'un traitement inapproprié était plus élevée en se fiant à la DU (8,4%) qu'en se fiant à la T_4 uniquement (4,2%). Ces résultats suggèrent qu'un chat hyperthyroïdien ayant une T_4 inférieure à 100 nmol/L au moment du diagnostic de l'HT $_4$ peut recevoir un traitement définitif, soit la thyroïdectomie chirurgicale ou le traitement à l'I 131 . Néanmoins, si la T_4 était supérieure ou égale à 100 nmol/L, la DU devrait également être évaluée.

Si on combine la DU et la T_4 , la présence d'une T_4 supérieure ou égale à 100 nmol/L et d'une DU inférieure ou égale à 1,035 a su prédire avec 83,3% de certitude l'apparition d'IRC à l'atteinte de l'ET. Cette combinaison a permis l'identification de deux chats de plus comme NE, permettant le traitement définitif de 18/24 (75%) des chats hyperthyroïdiens dont 2 (8,3%) auraient été traités de façon inappropriée. L'absence d'une de ces conditions a su prédire une fonction rénale normale suite à trois mois d'ET chez 88,9% des chats. Ces résultats suggèrent qu'en présence d'une T_4 supérieure ou égale à 100 nmol/L et d'une DU supérieure à 1,035 au moment du diagnostic de l'HT $_4$, un traitement définitif peut être institué avec un risque peu élevé d'IRC trois mois après l'ET. L'évaluation de la T_4 seule ou de la combinaison DU- T_4 semble donc prometteuse lors du diagnostic de l'HT $_4$ pour la sélection d'un traitement approprié.

Notre étude est la première à révéler la capacité de la DU et de la T_4 à prédire l'absence d'IRC à l'atteinte de l'ET. Ces paramètres ont été précédemment évalués chez les chats hyperthyroïdiens^{13,16-18,38}, mais leurs valeurs prédictives n'avaient jamais été publiées. Dans une de ces études, les données biochimiques de 12 chats hyperthyroïdiens ayant un profil biochimique rénal normal avant l'institution d'un traitement sont détaillées.¹⁶ Nous avons donc évalué les valeurs prédictive positive (VPP) et VPN de la DU pour prédire la présence d'IRC à l'ET. Les résultats obtenus sont similaires aux nôtres (VPP de 50% et VPN de

87,5%). À notre connaissance, la T_4 n'a jamais été évaluée comme prédicteur d'IRC chez le chat hyperthyroïdien. La différence de T_4 obtenue entre les NE et les ECRI suggère que les chats atteints d' HT_4 sévère sont plus enclins aux dommages rénaux sévères. Néanmoins, une HT_4 sévère ne mène pas invariablement à l'IRC. En effet, un des NE de notre étude avait une T_4 de 308,9 nmol/L à l'Évaluation 1. Parce que la DU et la T_4 sont des tests pratiques et disponibles, nous recommandons de plus amples investigations sur leur fiabilité à prédire l'IRC lors d' HT_4 . De plus, nous recommandons l'investigation de la relation entre les niveaux de T_4 et les dommages rénaux lors d' HT_4 .

Notre seconde hypothèse a été vérifiée puisque le NAG_i a diminué suite à l'institution du traitement pour l' HT_4 . Ces résultats suggèrent que la résolution de l' HT_4 diminue les dommages aux cellules épithéliales tubulaires rénaux induits par l'hyperthyroïxémie. Pour les ECRI, même si la différence de NAG_i entre l'Évaluation 1 et 3 n'a pas atteint de niveau significatif, une tendance a été décelée. Cela signifie que la progression des dommages rénaux induits par l' HT_4 devrait diminuer suite au traitement de celle-ci. Le NAG_i de la majorité des ECRI n'a jamais atteint un niveau à l'intérieur des limites de référence de notre étude. Nous émettons donc l'hypothèse que les dommages rénaux induits chez ces chats lors de l' HT_4 sont suffisants pour générer des insultes tubulaires persistantes et actives une fois l' HT_4 résolue. Ces insultes surviendraient par le biais de la protéinurie, de l'hypertension et/ou de l'inflammation tubulo-interstitielle chronique. Par ailleurs, chez la majorité des chats NE, le NAG_i a tendance à revenir à l'intérieur de nos valeurs de référence. Ainsi, alors qu'il est reconnu que la fonction cardiaque puisse s'améliorer avec la résolution de l' HT_4 , ces données et la différence significative de la T_4 entre les NE et les ECRI supportent la prémisse selon laquelle la fonction rénale pourrait également bénéficier d'un traitement hâtif. Chez l'homme, des patients en rémission d'un syndrome néphrotique ou atteints de glomérulopathies, mais qui ont répondu au traitement (corticothérapie), ont un NAG_i significativement plus bas comparativement à des patients chez qui la maladie est instable ou est résistante au traitement.^{69,102} De la même manière, le NAG_i pourrait être investigué afin d'établir son utilité dans le suivi des chats hyperthyroïdiens traités médicalement pour détecter l'apparition ou la progression de la maladie rénale et d'ajuster le traitement au besoin.

Au départ, le poids corporel des ECRI de notre étude était significativement diminué par rapport au poids des chats en santé et une même tendance a été observée par rapport aux NE. Au même moment, les chats HT₄ ont démontré des valeurs de Cr_s significativement plus basses que chez les chats en santé. Ceci pourrait être expliqué par une masse musculaire diminuée chez les chats hyperthyroïdiens, spécialement chez les ECRI. Cependant, l'évaluation des poids corporels en association au gabarit de chaque chat aurait été nécessaire pour suggérer qu'une Cr_s plus basse est secondaire à une diminution de masse musculaire. Ce phénomène déjà rapporté¹⁰³, combiné à l'augmentation du TFG^{13.15.17.18.45} et possiblement à une augmentation de sécrétion tubulaire de Cr_s lors d'HT₄ a rendu inefficace la mesure de la Cr_s pour identifier l'IRC à l'Évaluation 1.

L'impact éventuel d'un gain de poids sur la créatinine urinaire et sur le NAG_i n'a pas été évalué dans la présente étude. Ainsi, la diminution du NAG_i dans le temps pourrait être due, en partie, à une augmentation de la Cr_s menant à l'augmentation de la créatinine urinaire. Par contre, nous ne considérons pas cet aspect de notre étude comme une limite, puisque les valeurs de créatinine urinaire sont demeurées stables entre les Évaluations 1 et 3 chez la majorité des chats (données non exposées).

À l'Évaluation 3, 17 (70,3%) des chats hyperthyroïdiens avaient toujours un profil biochimique rénal normal alors que 7 (29,2%) ont été diagnostiqués en IRC. Cette proportion est légèrement inférieure à celle obtenue par Adams où 5 chats hyperthyroïdiens sur 13 (38,5%) ayant une fonction biochimique rénale normale avant un traitement d'I¹³¹, étaient en IRC 30 jours après le traitement.¹⁸ D'autres études rapportent des proportions de 17-63% avec une moyenne de 35% pour le nombre de chats nouvellement diagnostiqués en IRC, à l'atteinte de l'ET.^{16.17.19} Dans notre étude, alors que 4 chats ECRI sur 7 (57%) ont été décelés à l'Évaluation 2, les autres ECRI ont été identifiés à l'Évaluation 3 seulement. Ainsi, seulement 57% des chats hyperthyroïdiens de notre étude ont été diagnostiqués en IRC tôt après la correction de l'HT₄, à l'ET. Les recommandations actuelles pour l'institution d'un traitement définitif de l'HT₄ stipulent que suite à un traitement médical (méthimazole), si les valeurs biochimiques rénales sont normales à l'atteinte de l'ET, un tel traitement peut être tenté sans craindre l'apparition d'IRC.^{40.103} Nos trouvailles révèlent

toutefois que des valeurs rénales normales à l'ET ont été insuffisantes chez 43% des chats hyperthyroïdiens pour assurer une fonction rénale normale. En conséquence, puisqu'un chat ayant une DU inférieure ou égale à 1,035 et une T₄ supérieure à 100 nmol/L au moment du diagnostic de l'HT₄ a 83,3% de chances de démontrer de l'IRC trois mois suite à l'atteinte de l'ET, les auteurs recommandent un traitement médical à long terme et une durée d'ET de 3 à 6 mois avant d'instituer un traitement définitif pour l'HT₄ chez ces chats.

Chez l'homme, la relation entre l'hypertension et le NAG_i est controversée. Alors que certaines études sont en faveur d'une dissociation de ces deux paramètres^{69,88,90}, d'autres stipulent qu'il pourrait y avoir une relation entre une augmentation du NAG_i et la présence d'hypertension.^{99,100} L'hypertension glomérulaire endommage le parenchyme rénal de deux façons. Premièrement, elle abîme les capillaires glomérulaires, ce qui peut causer de la glomérulosclérose.⁴¹ Deuxièmement, l'hypertension glomérulaire fait augmenter le TFG, induisant une protéinurie d'origine glomérulaire. Ce second phénomène endommage principalement l'espace tubulo-interstitiel et induit une perte de néphrons plus importante que ce que font les dommages mécaniques directs.⁴⁴ Dans la présente étude, il n'y avait pas de relation entre l'hypertension et le NAG_i chez les chats hyperthyroïdiens. Malgré que 50% de tous les chats hyperthyroïdiens étaient hypertendus au moment du diagnostic de l'HT₄, la pression sanguine systolique n'était pas différente entre les NE et ECRI et n'a pu prédire l'apparition de l'IRC à l'ET. Récemment, des études rapportant que 12 à 48% des chats hyperthyroïdiens étaient hypertendus au moment du diagnostic^{40,42} ont semé le doute sur la croyance selon laquelle la majorité des chats hyperthyroïdiens souffraient également d'hypertension.⁴ Nos résultats supportent la première étude. De plus, il n'y avait pas de corrélation entre le NAG_i et le degré d'hypertension chez les chats de notre étude. Ainsi, de plus amples études sont nécessaires chez des chats normotensifs et hypertensifs ayant une fonction rénale normale afin d'établir si la pression artérielle influence les niveaux de NAG_i chez cette espèce. De plus, la pression artérielle ne semble pas être un bon marqueur de l'IRC chez le chat hyperthyroïdien.

La microalbuminurie de l'Évaluation 1 n'était pas différente entre les NE et les ECRI et n'a pu prédire la présence de l'IRC à l'ET. Cette trouvaille est en accord avec les conclusions

d'une autre étude¹⁰⁵ qui a évalué la protéinurie chez des chats hyperthyroïdiens ayant une fonction rénale normale selon la biochimie au moment du diagnostic de l'HT₄. Chez les chats atteints d'IRC six mois après le début du traitement, la protéinurie n'était pas significativement différente comparativement à des chats n'ayant pas démontré d'IRC à l'ET. La microalbuminurie est associée à des maladies fréquemment rencontrées chez la population de chats prédisposés à l'HT₄.¹⁰⁶ De plus, des trouvailles récentes supportent que les chats en IRC ont tendance à démontrer une protéinurie légère seulement.⁴⁶ Cette dernière trouvaille est en accord avec les observations histopathologiques de chats hyperthyroïdiens démontrant surtout une néphrite tubulo-interstitielle plutôt que des changements relatifs à une maladie glomérulaire.¹⁰¹ En présence de ces données, la microalbuminurie n'apparaît pas être un marqueur spécifique d'IRC chez le chat lors d'HT₄. Néanmoins, la protéinurie est reconnue pour être un facteur de risque pour la progression de l'IRC chez l'homme⁷, et a été récemment associée négativement à la survie chez le chat.⁴⁶ En conséquent, si de la microalbuminurie est détectée chez un chat hypothyroïdien, un ratio protéine : créatinine urinaire (PCU) devrait être évalué et l'investigation d'une cause sous-jacente devrait être institué.⁴⁷

Une limite de cette étude est l'impact possible que peut avoir l'excès d'hormones thyroïdiennes sur l'excrétion de la NAG de la part des cellules épithéliales tubulaires. Le nombre de NE (10/17) ayant un NAG_i supérieure à nos valeurs de référence à l'Évaluation 1 pourrait suggérer que d'autres mécanismes sont responsables de niveaux de NAG augmentés dans l'urine. Certains auteurs ont évalué la possible perte physiologique de la NAG lors d'un processus dynamique accru de synthèse de l'enzyme pour suppléer à la demande d'élimination d'une toxine ou d'une drogue.⁶¹ Il a également été spéculé que l'HT₄ pourrait induire une augmentation des niveaux de NAG, mais les auteurs de cet ouvrage ne pouvaient en déterminer la cause.¹⁰⁴ À cet effet, une évaluation du NAG_i de chats chez qui on a induit l'HT₄ serait requise.

Une autre limite de cette étude est la valeur seuil de Cr_s sélectionnée pour définir l'IRC (180 µmol/L). Si nous avions utilisé la classification IRIS¹⁰⁷ pour définir la maladie rénale chronique, probablement que nous aurions inclus plus de chats dans le groupe ECRI.

Néanmoins, puisque les chats âgés ont des valeurs de Cr_s plus élevées que les chats plus jeunes⁹, nous croyons que le 180 $\mu\text{mol/L}$ était approprié pour répondre aux objectifs de cette étude.

Conclusion

En conclusion, nous avons démontré que le NAG_i ne semble pas être un biomarqueur précoce de l'IRC chez les chats nouvellement diagnostiqués avec l'HT₄. Par contre, la combinaison de la DU et de la T₄ offre de bonnes valeurs prédictives et est plus utile que le NAG_i pour identifier l'IRC chez le chat hyperthyroïdien. Par ailleurs, le NAG_i pourrait servir de biomarqueur de la fonction rénale au cours d'un traitement médical pour l'HT₄. De plus amples études et l'établissement de normales pour le NAG_i chez le chat seraient toutefois requises. Notre étude a également révélé que les techniques traditionnelles de détection de dommages rénaux (Cr_s, microalbuminurie) et la pression sanguine systolique ne sont pas fiables pour identifier une IRC masquée lors d'HT₄ féline. Enfin, nos données démontrent que si la T₄ est supérieure ou égale à 100 nmol/L, la DU devrait être évaluée avant d'entreprendre un traitement définitif pour l'HT₄. Si la DU est alors inférieure ou égale à 1,035, un traitement médical réversible (méthimazole) de l'HT₄ devrait être favorisé pour une durée de 3 à 6 mois avant de considérer un traitement définitif tels que la thyroïdectomie ou un traitement à l'I₁₃₁.

Bibliographie

1. Mooney CT. Hyperthyroidism. *In* Ettinger SJ, Feldman EC (eds): Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the dog and cat, 6th ed. St. Louis, Mo.: Elsevier Saunders; 2005;p.1544.
2. Kienle RD, Bruyette D, Pion PD. Effects of thyroid hormone and thyroid dysfunction on the cardiovascular system. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1994;24:495-507.
3. Klein I, Ojamaa K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *N Engl J Med* 2001;344:501-509.
4. Kobayashi DL, Peterson ME, Graves TK, et al. Hypertension in cats with chronic renal failure or hyperthyroidism. *J Vet Intern Med* 1990;4:58-62.
5. Ganong WF. Thyroid hormones and renin secretion. *Life Sci* 1982;30:561-569.
6. Gilbert RE, Wu LL, Kelly DJ, et al. Pathological expression of renin and angiotensin II in the renal tubule after subtotal nephrectomy. Implications for the pathogenesis of tubulointerstitial fibrosis. *Am J Pathol* 1999;155:429-440.
7. Tryggvason K, Pettersson E. Causes and consequences of proteinuria: the kidney filtration barrier and progressive renal failure. *J Intern Med* 2003;254:216-224.
8. D'Amico G, Bazzi C. Pathophysiology of proteinuria. *Kidney Int* 2003;63:809-825.
9. Lulich J, Osborne C, O'Brien T, et al. Feline renal failure: questions, answers, questions. *Comp Cont Edu Pract Vet* 1992;14:127-152.
10. Lund EM, Armstrong PJ, Kirk CA, et al. Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States. *J Am Vet Med Assoc* 1999;214:1336-1341.
11. Milner RJ, Channell CD, Levy JK, et al. Survival times for cats with hyperthyroidism treated with iodine 131, methimazole, or both: 167 cases (1996-2003). *J Am Vet Med Assoc* 2006;228:559-563.
12. Peterson ME, Kintzer PP, Cavanagh PG, et al. Feline hyperthyroidism: pretreatment clinical and laboratory evaluation of 131 cases. *J Am Vet Med Assoc* 1983;183:103-110.
13. DiBartola SP, Broome MR, Stein BS, et al. Effect of treatment of hyperthyroidism on renal function in cats. *J Am Vet Med Assoc* 1996;208:875-878.

14. Bucknell D. Feline hyperthyroidism: spectrum of clinical presentations and response to carbimazole therapy. *Aust Vet J* 2000;78:462-465.
15. Adams WH, Daniel GB, Legendre AM. Investigation of the effects of hyperthyroidism on renal function in the cat. *Can J Vet Res* 1997;61:53-56.
16. Becker TJ, Graves TK, Kruger JM, et al. Effects of methimazole on renal function in cats with hyperthyroidism. *J Am Anim Hosp Assoc* 2000;36:215-223.
17. Graves TK, Olivier NB, Nachreiner RF, et al. Changes in renal function associated with treatment of hyperthyroidism in cats. *Am J Vet Res* 1994;55:1745-1749.
18. Adams WH, Daniel GB, Legendre AM, et al. Changes in renal function in cats following treatment of hyperthyroidism using ¹³¹I. *Vet Radiol Ultrasound* 1997;38:231-238.
19. Slater MR, Geller S, Rogers K. Long-term health and predictors of survival for hyperthyroid cats treated with iodine ¹³¹I. *J Vet Intern Med* 2001;15:47-51.
20. Broussard JD, Peterson ME, Fox PR. Changes in clinical and laboratory findings in cats with hyperthyroidism from 1983 to 1993. *J Am Vet Med Assoc* 1995;206:302-305.
21. Jepson R, Slater L, Nash S, et al. Evaluation of cystatin C as a marker of GFR in hyperthyroid cats. *J Vet Intern Med* 2006;20:740.
22. Bourbouze R, Baumann FC, Bonvalet JP, et al. Distribution of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase isoenzymes along the rabbit nephron. *Kidney Int* 1984;25:636-642.
23. Clemo FA. Urinary enzyme evaluation of nephrotoxicity in the dog. *Toxicol Pathol* 1998;26:29-32.
24. D'Amico G, Bazzi C. Urinary protein and enzyme excretion as markers of tubular damage. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003;12:639-643.
25. Skalova S. The diagnostic role of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) activity in the detection of renal tubular impairment. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 2005;48:75-80.
26. Grauer GF, Greco DS, Behrend EN, et al. Estimation of quantitative enzymuria in dogs with gentamicin-induced nephrotoxicosis using urine enzyme/creatinine ratios from spot urine samples. *J Vet Intern Med* 1995;9:324-327.

27. Wellwood JM, Ellis BG, Price RG, et al. Urinary N-acetyl- beta-D-glucosaminidase activities in patients with renal disease. *Br Med J* 1975;3:408-411.
28. Costigan MG, Rustom R, Bone JM, et al. Origin and significance of urinary N-acetyl-beta, D-glucosaminidase (NAG) in renal patients with proteinuria. *Clin Chim Acta* 1996;255:133-144.
29. Kuzniar J, Marchewka Z, Lembas-Bogaczyk J, et al. Etiology of increased enzymuria in different morphological forms of glomerulonephritis. *Nephron Physiol* 2004;98:p8-14.
30. Sato R, Soeta S, Miyazaki M, et al. Clinical availability of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase index in dogs with urinary diseases. *J Vet Med Sci* 2002;64:361-365.
31. Bazzi C, Petrini C, Rizza V, et al. Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:1890-1896.
32. Kordonouri O, Hartmann R, Muller C, et al. Predictive value of tubular markers for the development of microalbuminuria in adolescents with diabetes. *Horm Res* 1998;50 Suppl 1:23-27.
33. Sato R, Soeta S, Syuto B, et al. Urinary excretion of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and its isoenzymes in cats with urinary disease. *J Vet Med Sci* 2002;64:367-371.
34. Peterson M, Becker D. Radioiodine treatment of 524 cats with hyperthyroidism. *J Am Vet Med Assoc* 1995;207:1422-1428.
35. Polzin DJ OC, Lulich JP, James K Chronic renal failure in cats: diagnosis and management. Proceedings of the 16th Waltham/OSU symposium for the treatment of small animal diseases (Nephrology and urology section) 1992:31-37.
36. Watson A. Indicators of renal insufficiency in dogs and cats presented at a veterinary teaching hospital. *Aust Vet Pract* 2001;31:54-58.
37. Holzworth J, Theran P, Carpenter JL, et al. Hyperthyroidism in the cat: ten cases. *J Am Vet Med Assoc* 1980;176:345-353.

38. Rogers K, Burkholder W, Slater M, et al. Development of and predictors for renal disease and clinical outcomes in hyperthyroid cats treated with ¹³¹I. *J Vet Intern Med* 2000;14:343.
39. Saito I, Saruta T. Hypertension in thyroid disorders. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1994;23:379-386.
40. Langston CE, Reine NJ. Hyperthyroidism and the kidney. *Clin Tech Small Anim Pract* 2006;21:17-21.
41. Brown SA, Brown CA. Single-nephron adaptations to partial renal ablation in cats. *Am J Physiol* 1995;269:R1002-1008.
42. Stiles J, Polzin D, Bistner S. The prevalence of retinopathy in cats with systemic hypertension and chronic renal failure or hyperthyroidism. *J Am Anim Hosp Assoc* 1994;30:564.
43. Hruby Z, Smolska D, Filipowski H, et al. The importance of tubulointerstitial injury in the early phase of primary glomerular disease. *J Intern Med* 1998;243:215-222.
44. Remuzzi G, Bertani T. Pathophysiology of progressive nephropathies. *N Engl J Med* 1998;339:1448-1456.
45. Shirota T, Shinoda T, Yamada T, et al. Alteration of renal function in hyperthyroidism: increased tubular secretion of creatinine and decreased distal tubule delivery of chloride. *Metabolism* 1992;41:402-405.
46. Syme HM, Markwell PJ, Pfeiffer D, et al. Survival of cats with naturally occurring chronic renal failure is related to severity of proteinuria. *J Vet Intern Med* 2006;20:528-535.
47. Lees GE, Brown SA, Elliott J, et al. Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (small animal). *J Vet Intern Med* 2005;19:377-385.
48. Langston C. Microalbuminuria in cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 2004;40:251-254.
49. Uzun H, Ozmen Keles M, Ataman R, et al. Serum cystatin C level as a potentially good marker for impaired kidney function. *Clin Biochem* 2005;38:792-798.
50. Guder WG, Ross BD. Enzyme distribution along the nephron. *Kidney Int* 1984;26:101-111.

51. Loeb W. Markers of renal function and injury, Second ed. Philadelphia: Taylor and Francis; 1999.
52. Price RG. Urinary enzymes, nephrotoxicity and renal disease. *Toxicology* 1982;23:99-134.
53. Stonard MD, Gore CW, Oliver GJ, et al. Urinary enzymes and protein patterns as indicators of injury to different regions of the kidney. *Fundam Appl Toxicol* 1987;9:339-351.
54. Trof RJ, Di Maggio F, Leemreis J, et al. Biomarkers of acute renal injury and renal failure. *Shock* 2006;26:245-253.
55. Piscator M. Markers of tubular dysfunction. *Toxicol Lett* 1989;46:197-204.
56. Heiene RB, WJ. Koeman, JP. Urinary alkaline phosphatase and γ -glutamyl transferase as indicators of acute renal damage in dogs. *Journal of Small Animal Practice* 1991;32:521-524.
57. Hultberg B, Ravnskov U. The excretion of N-acetyl-beta-glucosaminidase in glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 1981;15:33-38.
58. Matteucci E, Giampietro O. To store urinary enzymes: how and how long? *Kidney Int Suppl* 1994;47:S58-59.
59. Beukes HA, Oosthuizen MM, Lambrechts H, et al. Properties of the isoenzyme forms A-1, A-2 and B of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase purified from baboon kidneys. *Int J Biochem* 1991;23:239-251.
60. Morita A, Numata Y, Kosugi Y, et al. Stabilities of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) isoenzymes in urine: advantage of NAG isoenzyme B measurement in clinical applications. *Clin Chim Acta* 1998;278:35-43.
61. Gibey R, Dupond JL, Henry JC. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) isoenzyme profiles: a tool for evaluating nephrotoxicity of aminoglycosides and cephalosporins. *Clin Chim Acta* 1984;137:1-11.
62. Sanchez-Bernal C, Vlitos M, Cabezas JA, et al. Variation in the isoenzymes of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and protein excretion in aminoglycoside nephrotoxicity in the rat. *Cell Biochem Funct* 1991;9:209-214.
63. Le Hir M, Dubach UC, Guder WG. Distribution of acid hydrolases in the nephron of normal and diabetic rats. *Int J Biochem* 1980;12:41-45.

64. Le Hir M, Dubach UC, Schmidt U. Quantitative distribution of lysosomal hydrolases in the rat nephron. *Histochemistry* 1979;63:245-251.
65. Casadevall G, Piera C, Setoain J, et al. Age-dependent enzymuria, proteinuria and changes in renal blood flow and glomerular filtration rate in rats. *Mech Ageing Dev* 1995;82:51-60.
66. Oba K, Hirai M, Ajiro Y, et al. Effect of age on urinary excretion of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase. *Nippon Ika Daigaku Zasshi* 1999;66:33-36.
67. Agirbasli M, Radhakrishnamurthy B, Jiang X, et al. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase changes in relation to age, sex, race, and diastolic and systolic blood pressure in a young adult biracial population. The Bogalusa Heart Study. *Am J Hypertens* 1996;9:157-161.
68. Nakamura M, Itoh T, Miyata K, et al. Difference in urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity between male and female beagle dogs. *Ren Physiol* 1983;6:130-133.
69. Kunin CM, Chesney RW, Craig WA, et al. Enzymuria as a marker of renal injury and disease: studies of N-acetyl-beta-glucosaminidase in the general population and in patients with renal disease. *Pediatrics* 1978;62:751-760.
70. Higashiyama N, Nishiyama S, Itoh T, et al. Effect of castration on urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase levels in male beagles. *Ren Physiol* 1983;6:226-231.
71. Uechi M, Terui H, Nakayama T, et al. Circadian variation of urinary enzymes in the dog. *J Vet Med Sci* 1994;56:849-854.
72. Uechi M, Uechi H, Nakayama T, et al. The circadian variation of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and gamma-glutamyl transpeptidase in clinically healthy cats. *J Vet Med Sci* 1998;60:1033-1034.
73. Gossett KA, Turnwald GH, Kearney MT, et al. Evaluation of gamma-glutamyl transpeptidase-to-creatinine ratio from spot samples of urine supernatant, as an indicator of urinary enzyme excretion in dogs. *Am J Vet Res* 1987;48:455-457.
74. Garry F, Chew DJ, Hoffsis GF. Enzymuria as an index of renal damage in sheep with induced aminoglycoside nephrotoxicosis. *Am J Vet Res* 1990;51:428-432.
75. Sato R, Nakajima N, Soeta S, et al. Urine N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity in healthy cattle. *Am J Vet Res* 1997;58:1197-1200.

76. Forman MF, Beck MM, Kachman SD. N-acetyl-beta-D-glucosaminidase as a marker of renal damage in hens. *Poult Sci* 1996;75:1563-1568.
77. Westhuyzen J, Endre ZH, Reece G, et al. Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:543-551.
78. Donta ST, Lembke LA. Comparative effects of gentamicin and tobramycin on excretion of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase. *Antimicrob Agents Chemother* 1985;28:500-503.
79. Gibey R, Dupond JL, Peltier H, et al. [An early and specific indicator of aminoglycoside nephrotoxicity: isoenzyme B of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG)]. *Pathol Biol (Paris)* 1986;34:342-345.
80. Adelman RD, Spangler WL, Beasom F, et al. Furosemide enhancement of experimental gentamicin nephrotoxicity: comparison of functional and morphological changes with activities of urinary enzymes. *J Infect Dis* 1979;140:342-352.
81. Ellis BG, Price RG, Topham JC. The effect of tubular damage by mercuric chloride on kidney function and some urinary enzymes in the dog. *Chem Biol Interact* 1973;7:101-113.
82. Al-Bander HA, Mock DM, Etheredge SB, et al. Coordinately increased lysozymuria and lysosomal enzymuria induced by maleic acid. *Kidney Int* 1986;30:804-812.
83. Ellis BG, Price RG, Topham JC. The effect of papillary damage by ethyleneimine on kidney function and some urinary enzymes in the dog. *Chem Biol Interact* 1973;7:131-141.
84. Ring E, Eber E, Erwa W, et al. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity in patients with cystic fibrosis on long-term gentamicin inhalation. *Arch Dis Child* 1998;78:540-543.
85. Asanuma K, Adachi K, Sugimoto T, et al. Effects of lysine-induced acute renal failure in dogs. *J Toxicol Sci* 2006;31:87-98.
86. Fortes MA, Andriolo A, Ortiz V, et al. Effect of shock wave reapplication on urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase in canine kidney. *Int Braz J Urol* 2004;30:148-154.

87. Wellwood JM, Davies D, Leighton M, et al. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase assay in renal transplant recipients. *Transplantation* 1978;26:396-400.
88. Abraham PA, Mascioli SR, Launer CA, et al. Urinary albumin and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase excretions in mild hypertension. *Am J Hypertens* 1994;7:965-974.
89. Opsahl JA, Abraham PA, Halstenson CE, et al. Correlation of office and ambulatory blood pressure measurements with urinary albumin and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase excretions in essential hypertension. *Am J Hypertens* 1988;1:117S-120S.
90. Schmieder RE, Rockstroh JK, Munch HG, et al. Elevated serum activity of N-acetyl-beta-glucosaminidase in essential hypertension: diagnostic value and reversal to normal values after antihypertensive therapy. *Am J Kidney Dis* 1991;18:638-648.
91. Jung K, Schulze BD, Sydow K. Diagnostic significance of different urinary enzymes in patients suffering from chronic renal diseases. *Clin Chim Acta* 1987;168:287-295.
92. Abdel Shakour S, el-Hefnawy H, el-Yamani MY, et al. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in children with diabetes as an early marker of diabetic nephropathy. *East Mediterr Health J* 2002;8:24-30.
93. Agardh CD, Agardh E, Isaksson A, et al. Association between urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase and its isoenzyme patterns and microangiopathy in type 1 diabetes mellitus. *Clin Chem* 1991;37:1696-1699.
94. Ikenaga H, Suzuki H, Ishii N, et al. Enzymuria in non-insulin-dependent diabetic patients: signs of tubular cell dysfunction. *Clin Sci (Lond)* 1993;84:469-475.
95. Lorini R, Scaramuzza A, Cortona L, et al. Increased urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase (NAG) excretion in young insulin-dependent diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 1995;29:99-105.
96. Okasaki K oK, Nakano H, Suzuki T. Urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity predicts development of diabetic nephropathy. *Geriatrics and gerontology international* 2005;5:22-28.
97. Holdt-Lehmann B, Lehmann A, Korten G, et al. Diagnostic value of urinary alanine aminopeptidase and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in comparison to alpha 1-

- microglobulin as a marker in evaluating tubular dysfunction in glomerulonephritis patients. *Clin Chim Acta* 2000;297:93-102.
98. Machiguchi T, Yoshida H, Yonemoto S, et al. Does circulating erythropoietin reflect progression of IgA nephropathy? Comparison with urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:635-640.
 99. Tylicki L, Puttinger H, Rutkowski P, et al. Multifactorial analysis of determinators for renal injury in essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2006;20:93-95.
 100. Alderman MH, Melcher L, Drayer DE, et al. Increased excretion of urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase in essential hypertension and its decline with antihypertensive therapy. *N Engl J Med* 1983;309:1213-1217.
 101. Turrel JM, Feldman EC, Nelson RW, et al. Thyroid carcinoma causing hyperthyroidism in cats: 14 cases (1981-1986). *J Am Vet Med Assoc* 1988;193:359-364.
 102. Fede C, Conti G, Chimenz R, et al. N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and beta2-microglobulin: prognostic markers in idiopathic nephrotic syndrome. *J Nephrol* 1999;12:51-55.
 103. Feldman EC, Nelson RW. Feline hyperthyroidism (thyrotoxicosis). *In*: Feldman, EC, Nelson, RW (eds): *Canine and feline endocrinology and reproduction*, 3rd ed. St. Louis, Mo.: Saunders Elsevier; 2004; p. 152.
 104. Tominaga M, Fujiyama K, Hoshino T, et al. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in the patients with hyperthyroidism. *Horm Metab Res* 1989;21:438-440.
 105. Syme HM, Elliott J. Evaluation of proteinuria in hyperthyroid cats. *Journal of veterinary internal medicine* 2001;15:299.
 106. http://www.heska.com/erd/manage_test.asp, juin, 2007.
 107. <http://www.iris-kidney.com>, juillet, 2007.

ACCORD ET PERMISSION DES COAUTEURS D'UN ARTICLE

IDENTIFICATION DE L'ÉTUDIANT

Nom de l'étudiant Catherine Lapointe		Code permanent [REDACTED]
Sigle du programme M.Sc.	Titre du programme Sciences vétérinaires	Option Sciences cliniques

DESCRIPTION DE L'ARTICLE

Auteurs Catherine Lapointe, Marie-Claude Bélanger, Marilyn Dunn, Maxim Moreau, Christian Bédard	
Titre N-acetyl- β -D-glucosaminidase index as an early biomarker for chronic renal insufficiency in cats with hyperthyroidism	
Revue Journal of veterinary internal medicine	Date de publication

DÉCLARATION DES COAUTEURS

Déclaration <i>À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, j'autorise le microfilmage du mémoire et je suis d'accord que Catherine Lapointe inclut cet article dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre L'index de la N-acétyl-β-D-glucosaminidase comme indicateur précoce de l'insuffisance rénale chronique chez le chat hyperthyroïdien.</i>	
Coauteur Marie-Claude Bélanger	Date 10 avril 07
Coauteur Marilyn Dunn	Date 17 avril 07
Coauteur Maxim Moreau	Date 16 avril 07
Coauteur Christian Bédard	Date 16 avril 07

