

Plan

INTRODUCTION.....	7
1 REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	8
1.1 Mesure du DFG chez le chat par les méthodes de clairance (hors imagerie)	8
1.1.1 Définition du DFG.....	8
1.1.2 Concept de clairance.....	9
1.1.3 Marqueurs du DFG chez le chat	12
1.1.4 Applications cliniques	13
1.2 La créatinine chez le chat.....	16
1.2.1 Biologie.....	16
1.2.2 Métabolisme de la créatinine	16
1.2.3 Méthodes de dosage de la créatinine.....	18
1.2.4 Créatinine basale plasmatique.....	19
1.3 Clairance urinaire et plasmatique de la créatinine	20
1.3.1 Clairance urinaire de la créatinine exogène	20
1.3.2 Clairance plasmatique de la créatinine exogène.....	21
1.3.3 Valeurs physiologiques des clairances urinaires et plasmatiques de la créatinine chez le chat sain	22
2 ETUDE EXPERIMENTALE	25
2.1 Problématique et objectifs	25
2.2 Matériels et méthodes.....	25
2.2.1 Plan expérimental	25
2.2.2 Caractéristiques des chats	26
2.2.3 Substances utilisées	27
2.2.4 Recueil d'urine	27
2.2.5 Recueil d'échantillons de sang.....	28
2.2.6 Traitement des échantillons	29
2.2.7 Dosage de la créatinine	29
2.2.8 Analyse pharmacocinétique.....	31
2.2.9 Analyses statistiques.....	35
2.3 Résultats	36
2.3.1 Bilans plasmatiques individuels.....	36
2.3.2 Rinçage de vessie et de cage.....	37
2.3.3 Pourcentage de créatinine exogène excrétée dans les urines	39
2.3.4 Cinétique d'élimination plasmatique de la créatinine exogène	39
2.3.5 Production quotidienne de créatinine endogène.....	40
2.3.6 Pourcentage de l'aire sous la courbe extrapolée à l'infini	41
2.3.7 Comparaison clairance urinaire et plasmatique de la créatinine exogène.....	41
3 DISCUSSION.....	43
CONCLUSION	46
BIBLIOGRAPHIE	47
LISTE DES FIGURES	53
LISTE DES TABLEAUX.....	54
LISTE DES ENCADRES	55
ANNEXES	56

LISTE DES ABREVIATIONS

ALAT : Alanine aminotransférase

PAL : Phosphatase alcaline

AUC : Aire sous la courbe

CPCE : Clairance plasmatique de la créatinine exogène

CUCE : Clairance urinaire de la créatinine exogène

DFG : Débit de filtration glomérulaire

IV : Intraveineuse

IRC : Insuffisance rénale chronique

SC : Sous-cutanée

INTRODUCTION

Le débit de filtration glomérulaire (DFG) est le meilleur outil pour évaluer la fonction rénale. Il permet une détection plus précise et plus précoce d'un dysfonctionnement rénal que la créatininémie ou l'urémie, par exemple. En effet, ces dernières ne varient que lorsqu'environ 75% des néphrons sont touchés.

La méthode de référence historique pour mesurer le DFG est la clairance urinaire de l'inuline. Cependant, cette technique présente des inconvénients que sont la collecte totale d'urine sur 24 h, un marqueur difficile à obtenir et à doser, ainsi qu'un coût élevé. De ce fait, d'autres approches pour mesurer le DFG en routine ont été développées. La clairance plasmatique est une méthode qui présente l'avantage de nécessiter seulement des prélèvements sanguins. Les marqueurs utilisés sont l'inuline, la créatinine ou l'iohexol.

La créatinine est considérée comme un bon marqueur pour mesurer le DFG. En effet, c'est une substance inerte, filtrée et ni réabsorbée ni sécrétée. La clairance urinaire de la créatinine exogène est reconnue comme une méthode de référence pour évaluer le DFG (Ross et Finco (1981), Rogers et coll (1991), Brown et coll (1996a), Brown et coll (1996b), Miyamoto (2001a), Miyamoto (2001b)). D'après Finco et Barsanti (1982), l'excrétion de la créatinine se fait uniquement par filtration glomérulaire chez le chat.

De ce fait, la clairance plasmatique de la créatinine exogène a déjà été proposée et utilisée pour mesurer le DFG chez le chat (Miyamoto (1998), Le Garreres et coll (2007), Van Hoek et coll (2007) Heiene et coll (2009)). Elle présente l'avantage d'utiliser un marqueur facilement accessible et dosable. Cependant, aucune étude n'a comparé la clairance plasmatique et la clairance urinaire de la créatinine exogène. L'objectif de cette étude a été de comparer la clairance plasmatique (CPCE) et la clairance urinaire (CUCE) de la créatinine exogène chez le chat sain.

La première partie, bibliographique, s'intéresse au débit de filtration glomérulaire et à la créatinine. La deuxième partie présente les matériels et méthodes, les résultats et la discussion de la partie expérimentale.

1 REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Mesure du DFG chez le chat par les méthodes de clairance (hors imagerie)

1.1.1 Définition du DFG

Le DFG est le volume de liquide filtré par le rein par unité de temps. C'est une grandeur qui permet d'évaluer les fonctions de filtration et d'excrétion du rein, et s'exprime en ml/min/kg.

La filtration glomérulaire est une ultrafiltration du plasma au travers des capillaires glomérulaires (mécanisme physique). Le filtrat s'accumule dans l'espace de Bowman avant de s'écouler dans le tube contourné proximal.

Le DFG dépend de la constante d'ultrafiltration (K_f) qui varie avec la surface de filtration et la perméabilité des capillaires (Von Hendy-Willson et Pressler (2011)).

La mesure du DFG est importante pour pouvoir affirmer ou exclure une atteinte rénale. Elle est également utile pour évaluer des atteintes fonctionnelles précoces chez les patients à risques (néphropathies héréditaires), pour ajuster les doses des médicaments excrétés par le rein ou pour le suivi de la fonction rénale des patients souffrant de maladies rénales.

Le DFG est le meilleur paramètre pour évaluer la fonction rénale (Brenner (2008)).

Le DFG global est égal à la filtration totale effectuée par les deux reins, ou à la somme des filtrations de chaque néphron.

Toutefois, en pratique, la créatinine ou l'urée plasmatiques sont préférées comme marqueurs indirects du DFG. Cependant, leurs concentrations n'augmentent que lorsqu'environ 75% des néphrons ne sont plus fonctionnels.

1.1.2 Concept de clairance

La clairance est une constante de proportionnalité entre la quantité éliminée par unité de temps et la concentration plasmatique de la substance.

Elle exprime la capacité du corps (ou d'un organe) à éliminer une substance. Elle s'exprime en volume par unité de temps.

La clairance totale du corps est la somme de tous les processus d'élimination du corps, principalement par le rein et le foie. L'élimination par la salive, la sueur ou les autres voies sont négligeables (Heiene et Moe, 1998). La clairance plasmatique reflète la clairance totale.

$$Cl_p = Cl_h + Cl_u \quad (\text{Equation 1})$$

Cl_p : Clairance plasmatique (ml/min)

Cl_h : Clairance hépatique (ml/min)

Cl_u : Clairance urinaire (ou rénale) (ml/min)

Si la substance est seulement excrétée par le rein, alors la clairance urinaire (ou rénale) est égale à la clairance plasmatique (Heiene et Moe, 1998).

- *La clairance urinaire*

La clairance urinaire Cl_u (ou clairance rénale) d'une substance est égale au rapport du débit d'élimination par le rein sur la concentration plasmatique. Le débit d'élimination du marqueur est égal au débit urinaire V_u multiplié par la concentration urinaire C_u .

$$Cl_u = \frac{V_u \times C_u}{C_p} \quad (\text{Equation 2})$$

V_u : quantité d'urine produite par unité de temps (ml/min)

C_u : concentration du marqueur dans l'urine (mg/ml)

C_p : concentration du marqueur dans le sang (mg/ml)

La clairance urinaire d'un marqueur approprié (voir 1.1.3) permet de déterminer le DFG (équation 3). Le poids de l'animal est utilisé pour indexer le DFG en raison de la variabilité interindividuelle élevée du poids chez le chien et le chat.

$$DFG = \frac{Cu \times V}{Cp \times \text{duree de la collecte}(\text{min}) \times \text{poids de l'animal}(\text{kg})} \quad (\text{Equation 3})$$

DFG : ml/min/kg

Cu : concentration urinaire de la substance (mg/ml)

V : Volume d'urine produite sur la durée de la collecte (ml)

Cp : concentration plasmatique de la substance (mg/ml)

La clairance urinaire présente des inconvénients majeurs. La totalité de l'urine doit être collectée sur 24 h, la vidange vésicale par cathétérisme urétral peut nécessiter une sédation et provoquer en outre une infection du tractus urinaire.

- *La clairance plasmatique*

Pour évaluer ce paramètre, il est nécessaire d'étudier la décroissance du marqueur dans le sang en fonction du temps. Pour cela, le marqueur est injecté par voie intraveineuse (IV), la concentration plasmatique du marqueur est ensuite mesurée à différents temps après l'administration (figure 1).

Concentration plasmatique de créatinine ($\mu\text{mol/l}$)

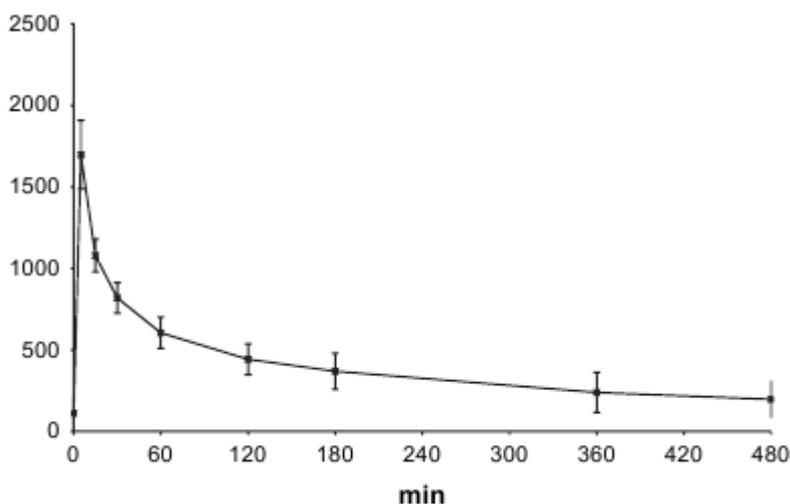


Figure 1 : Profil des concentrations plasmatiques du marqueur (ici, créatinine) en fonction du temps après administration intraveineuse (d'après Le Garreres et coll, 2007)

La clairance plasmatique (Clp) est une constante de proportionnalité entre la vitesse d'élimination et la concentration plasmatique du marqueur (équation 4).

$$Clp = \frac{\text{vitesse d'élimination}}{\text{concentration}} \quad (\text{Equation 4})$$

Soit

$$Clp \times C = \frac{dX}{dt} \quad (\text{Equation 5})$$

Avec :

C, la concentration plasmatique du marqueur

X, la quantité du marqueur à l'instant t

$\frac{dX}{dt}$, la vitesse d'élimination du marqueur dans l'organisme

On intègre entre 0 et ∞ , Cl étant une constante, l'équation devient :

$$\int_0^{\infty} dX = Clp \int_0^{\infty} C \cdot dt \quad (\text{Equation 6})$$

$\int_0^{\infty} dX$ correspond à la quantité totale de substance injectée (soit la dose) et $\int_0^{\infty} C \cdot dt$ à l'aire sous la courbe des concentrations plasmatique en fonction du temps (soit AUC), d'où l'équation 7.

$$Clp = \frac{D}{AUC} \quad (\text{Equation 7})$$

D : dose du marqueur (mg)

AUC : aire sous la courbe des concentrations plasmatiques en fonction du temps (mg.min/ml)

1.1.3 Marqueurs du DFG chez le chat

La mesure du DFG repose sur la mesure de la clairance urinaire ou plasmatique d'une substance, qualifiée de marqueur du DFG.

Ces marqueurs doivent répondre aux critères de Smith (Smith 1951) :

- Absence de liaison aux protéines plasmatiques
- Elimination exclusivement par filtration glomérulaire
- Absence de sécrétion et de réabsorption tubulaire
- Absence de métabolisme dans l'organisme
- Absence de fixation aux cellules sanguines
- Absence d'effet sur le DFG
- Absence de toxicité
- Cinétique linéaire

Outre l'inuline (marqueur historique), les substances suivantes sont utilisées comme marqueurs du DFG : la créatinine (endogène et exogène), l'iohexol, ainsi que des molécules radio-marquées (^{51}Cr -acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA) et $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -acide diéthylène triamine penta acétique (DTPA)) qui sont employées dans les méthodes de mesure du DFG par imagerie.

L'inuline n'est pas utilisable en routine. Son utilisation représente un coût élevé et son dosage est peu disponible. La formulation de l'iohexol est facilement disponible mais le dosage est difficilement réalisable. Les molécules radio-marquées demandent un équipement spécialisé pour mesurer la radioactivité, et donc un coût élevé.

La créatinine est une substance facilement utilisable en routine, peu coûteuse et son dosage est facilement accessible bien qu'aucune formulation ne soit disponible.

Il est important de noter que les méthodes de clairance permettent d'évaluer seulement le DFG global et non le DFG de chaque rein, contrairement aux méthodes par imagerie.

1.1.4 Applications cliniques

- *Insuffisance rénale*

Le dépistage précoce de l'insuffisance rénale chronique (IRC) est l'indication majeure pour la mesure du DFG.

La créatininémie et l'urémie sont des marqueurs peu sensibles d'insuffisance rénale chez le chat (Migawa et coll (2010)). Reynolds et coll (2010) ont montré que ces concentrations sont liées au poids chez le chat.

Une étude réalisée par Miyamoto (2001c) sur 52 chats, montre que l'augmentation de la créatininémie et de l'urémie ne permettent pas de détecter une diminution de la fonction rénale chez les chats suspects d'atteinte rénale alors qu'elle peut être identifiée par une baisse du DFG.

De plus, Le Garreres et coll (2007) ont observé qu'une valeur élevée de la concentration plasmatique de créatinine ne préfigure en rien de la valeur de la clairance plasmatique de la créatinine. Deux chats avec une clairance plasmatique en créatinine similaire (2.5 et 2.3 ml/min/kg) avaient deux concentrations basales en créatinine différentes (139 et 221 $\mu\text{mol/L}$ respectivement). Cela peut s'expliquer par une différence importante de production de créatinine endogène (57 et 83 mg/kg/j respectivement).

Cela montre la nécessité d'un test fonctionnel comme l'étude de la clairance de la créatinine plutôt qu'une simple étude de la créatininémie pour évaluer la fonction rénale.

Les chats atteints d'IRC (n=12) ont un DFG (clairance urinaire de la créatinine endogène) significativement plus faible ($p<0.01$) (0.8 ± 0.4 ml/min/kg de poids corporel), correspondant à 30% du DFG des chats sains (n=6) (2.6 ± 0.2 ml/min/kg de poids corporel) (Deguchi et Akuzawa (1997)).

Schmiedt et coll (2012) ont simulé une insuffisance rénale aiguë (IRA) en provoquant chirurgicalement une ischémie rénale bilatérale. Ils ont évalué le DFG grâce à la clairance plasmatique de l'iohexol. Ils ont observé une diminution significative ($p=0.01$) du DFG un jour après l'ischémie par rapport aux chats du groupe témoin (n=3). Sur les 4 chats testés, seulement 1 a survécu après 7 jours, et son DFG semble ensuite revenir vers sa valeur précédant l'ischémie.

- *Hyperthyroïdie*

La fonction rénale est également évaluée lors de certaines maladies extra-rénales ayant un effet délétère sur la fonction rénale. L'hyperthyroïdie représente chez le chat le meilleur exemple.

Cette maladie touche principalement les chats âgés, tout comme l'IRC. L'excès d'hormones thyroïdiennes entraîne une hyperfiltration glomérulaire qui peut alors masquer une insuffisance rénale. Cette dernière pourra s'exprimer suite au traitement anti-hyperthyroïdien.

Une étude portant sur dix chats en bonne santé a montré que l'augmentation d'hormones thyroïdiennes entraîne une augmentation significative ($p=0.013$) du débit sanguin rénal. De même, le DFG (clairance plasmatique du $^{99m}\text{TC-DTPA}$) augmente de façon significative ($p=0.045$) sous l'effet de la thyroxine. Il passe de 2.9 ± 0.7 ml/min/kg à 3.4 ± 0.8 ml/min/kg sous l'effet des hormones thyroïdiennes (Adams et coll (1997)).

Au contraire, après une thyroïdectomie bilatérale chez treize chats hyperthyroïdiens, le DFG (clairance plasmatique du $^{99m}\text{TC-DTPA}$) a diminué de manière significative ($p<0.0001$) (Graves et coll (1994)).

Les effets du méthimazole (agent anti-hyperthyroïdien) sur la fonction rénale de chats hyperthyroïdiens ont été étudiés par Becker et coll (2000). Douze chats hyperthyroïdiens ont été traités pendant au minimum six semaines avec du méthimazole. Le contrôle de l'hyperthyroïdie a provoqué une diminution significative ($p=0.005$) de 43.7% du DFG (clairance plasmatique de l'iohexol).

Boag et coll (2007) ont évalué l'effet de l'iode radioactif sur le DFG (clairance plasmatique de l'inuline) chez vingt-sept chats hyperthyroïdiens. L'iode radioactif induit une diminution significative ($p<0.001$) de 36% du DFG après un mois de traitement. De plus, il semblerait que la diminution du DFG ne soit pas progressive, mais soit stable après six mois de traitement.

De la même façon, une diminution significative ($p<0.01$) du DFG chez quinze chats hyperthyroïdiens a été observée après 4, 12 et 24 semaines de traitement avec l'iode radioactif. Cette diminution est significative avec trois méthodes différentes de mesures du DFG (clairance plasmatique de la créatinine exogène, de l'exo-iohexol et de l'endo-iohexol). Cependant, 4 semaines après le début du traitement, le DFG ne varie plus. Ainsi pour estimer

la baisse de DFG induite par le traitement, une évaluation du DFG est recommandée après 4 semaines de traitement (Van Hoek et coll (2008)). Une autre étude sur l'effet de l'iode radioactif sur la fonction rénale chez 21 chats a également montré que les changements significatifs de la fonction rénale interviennent dans les 4 semaines suivant le début du traitement anti-hyperthyroïdien (Van Hoek et coll (2009)).

Ces études montrent l'intérêt de l'évaluation du DFG dans les cas d'hyperthyroïdie féline, du fait des nombreuses modifications entraînées par la maladie elle-même, puis par son traitement.

- *Néphrotomie*

Bolliger et coll (2005) ont effectué une étude sur 20 chats sains pendant 78 semaines, en évaluant le DFG par scintigraphie rénale. Ils ont montré que la néphrotomie entraîne une diminution du DFG sur le rein concerné (10 à 20%), mais un effet minime sur le DFG global. King et coll (2006) ont aussi confirmé sur dix chats sains l'absence d'effets de la néphrotomie sur la fonction rénale plus de 12 semaines après la néphrotomie.

- *Adaptation posologique*

La mesure du DFG permet également d'ajuster le schéma posologique de médicaments à élimination rénale. Bailey et coll (2004) ont étudié chez dix chats atteints de tumeurs, la relation entre le DFG (^{99m}Tc - acide diéthylène triamine penta acétique (DTPA)) et les effets myélotoxiques du carboplatine. Ils ont montré que le DFG était un meilleur outil que la surface corporelle pour ajuster la dose de carboplatine.

La dose est calculée à partir de l'équation 8.

$$\text{Dose Carboplatine} = AUC_{\text{cible}} \times 2.6 \times \text{DFG} \times \text{poids de l'animal (kg)} \quad (\text{Equation 8})$$

AUC_{cible} : Aire sous la courbe (concentration plasmatique de carboplatine en fonction du temps) cible (min.mg/ml)

DFG : ml/min/kg (^{99m}Tc - acide diéthylène triamine penta acétique (DTPA))

1.2 La créatinine chez le chat

1.2.1 Biologie

La créatinine est une petite molécule (113 Daltons) non ionique (figure 2).

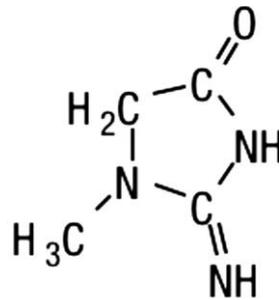


Figure 2 : Formule de la créatinine (Braun et coll, 2003)

Elle est synthétisée à partir de la créatine, de la phosphoryl-créatine ou de la phosphoryl-créatinine (figure 3). Ces réactions de synthèse ne sont pas catalysées par des enzymes, elles sont spontanées et irréversibles.

Environ 20 à 25% de la transformation de phosphoryl-créatine en créatinine passe par l'intermédiaire phosphoryl-créatinine (Wyss et Kaddurah-Daouk, 2000).

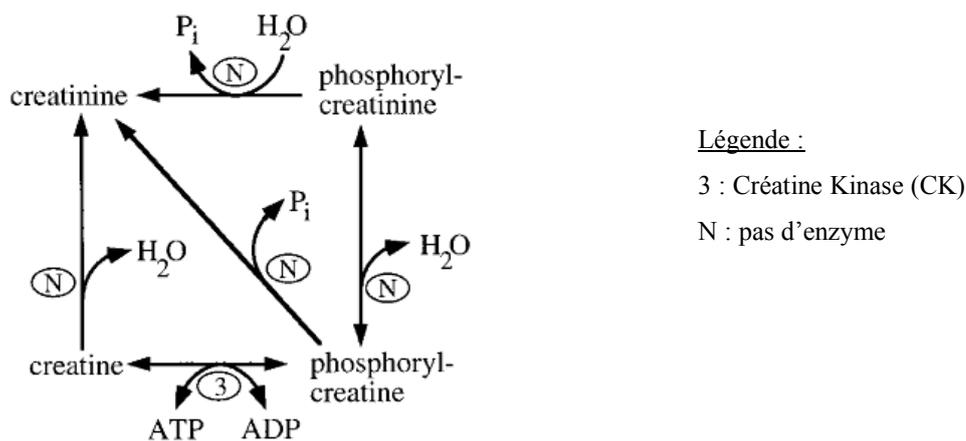


Figure 3 : Formation de la créatinine (Wyss et Kaddurah-Daouk, 2000)

1.2.2 Métabolisme de la créatinine

La principale voie de biosynthèse de la créatine chez les mammifères commence par la formation de guanidinoacétate dans le rein. Il est transporté par voie sanguine jusqu'au foie, où il est transformé en créatine (méthylation). La créatine est ensuite amenée aux tissus par voie sanguine. Il existe également un apport de créatinine exogène par l'alimentation.

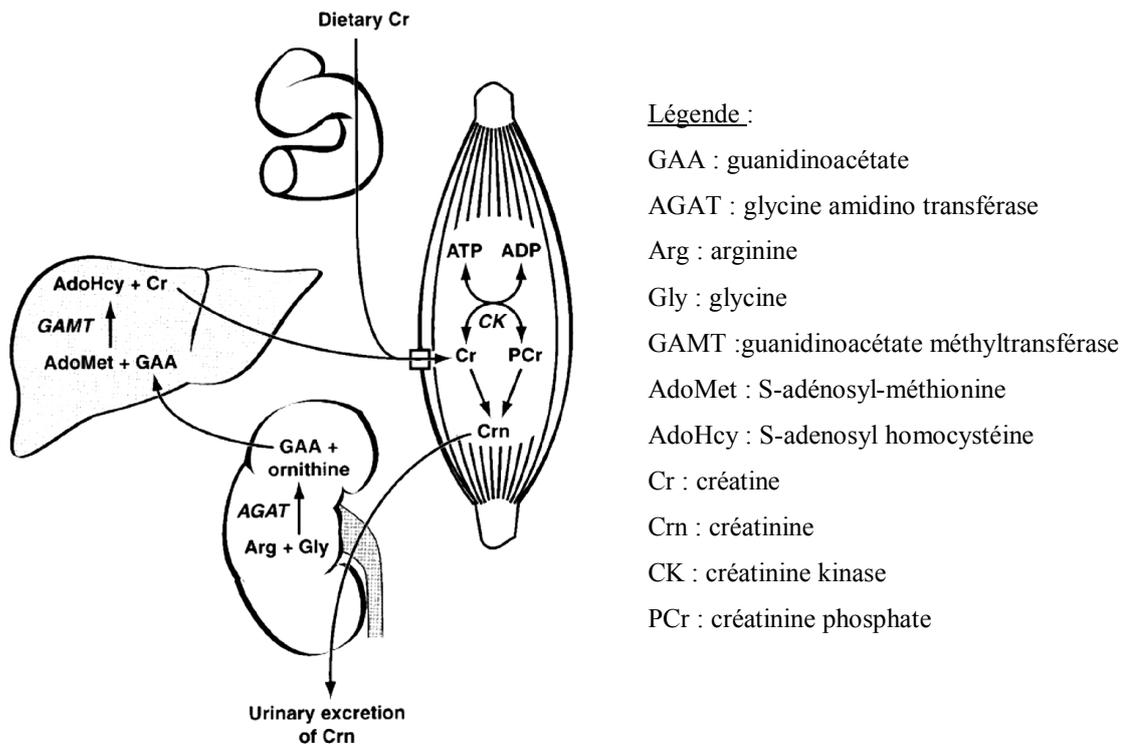


Figure 4: Formation de la créatine et de la créatinine (Wyss et Kaddurah-Daouk, 2000)

La créatine est présente dans les cellules et les tissus à hautes demandes en énergie. Jusqu'à 94% de la créatine totale se trouve dans le tissu musculaire. Des quantités élevées de créatine et de phosphocréatine sont également présentes dans le cœur, les spermatozoïdes ou encore dans les cellules photoréceptrices de la rétine.

La créatine est ensuite transformée en créatinine qui est éliminée principalement dans les urines. L'excrétion de la créatinine dans les urines se fait uniquement par filtration glomérulaire chez le chat. Le néphron et le bas appareil urinaire sont imperméables à la créatinine chez le chat (Finco et Barsanti (1982)).

D'après Le Garreres et coll (2007), la production journalière de créatinine est de 65 ± 23 mg/kg et présente une grande variabilité interindividuelle.

1.2.3 Méthodes de dosage de la créatinine

La créatinine peut être dosée dans le plasma ou l'urine par différentes méthodes :

- La méthode de Jaffé
- La méthode enzymatique
- La chromatographie haute performance en phase liquide

- *Méthode de Jaffé*

Dans des conditions alcalines, la créatinine combinée avec l'acide picrique forme un complexe coloré (orange-rouge). Le mécanisme qui intervient dans cette réaction est encore mal connu. Le principal inconvénient de cette méthode est son manque de spécificité. En effet, de nombreux métabolites peuvent interférer dans la réaction (corps cétoniques, protéines, bilirubine, céphalosporines) (Wyss et Kaddurah-Daouk, 2000).

- *Méthode enzymatique (d'après Creton 2008)*

La créatinine diffuse vers la couche de réactifs où elle est hydrolysée en créatine. La créatine ainsi formée est convertie en sarcosine et en urée par la créatine amidinohydrolase.

La sarcosine, en présence de sarcosine oxydase, est oxydée en glycine, formaldéhyde et peroxyde d'hydrogène. La réaction finale consiste en l'oxydation d'un leucodérivé catalysé par la peroxydase pour former un colorant (figure 5).

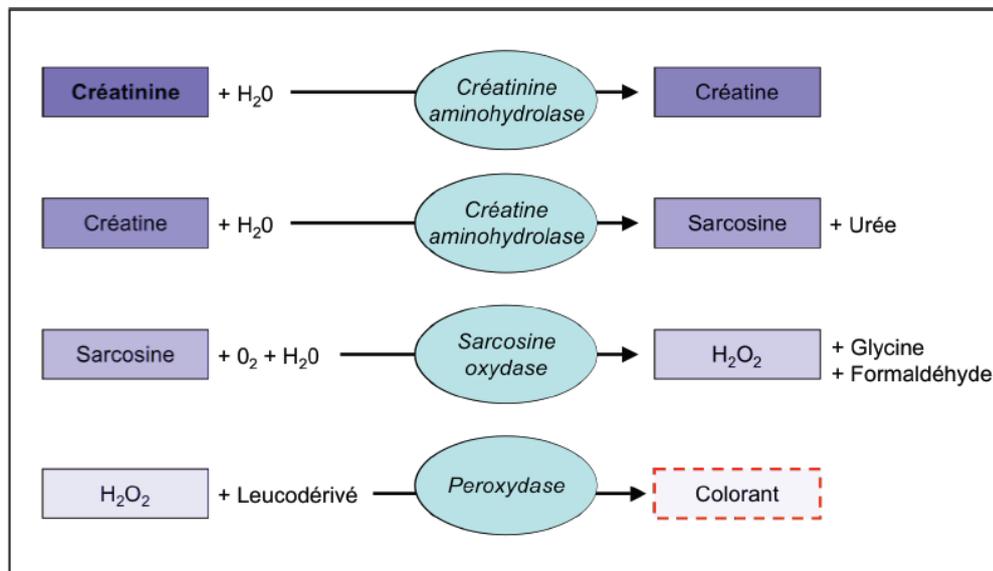


Figure 5 : Réactions chimiques intervenant dans le dosage de la créatinine par la méthode enzymatique

La réflectance est alors mesurée à 3.85 et 5 minutes. La variation entre ces deux lectures est proportionnelle à la concentration contenue dans l'échantillon. La longueur d'onde utilisée est de 670 nm. Les résultats sont obtenus en 5 minutes à une température d'incubation de 37°C.

La principale limite de cette méthode de dosage est la présence possible de substances interférentes (proline, dobutamine, lidocaïne) dans le plasma pouvant biaiser les résultats. Néanmoins, ces interférences analytiques sont beaucoup plus faibles qu'avec la méthode de Jaffé.

- *Chromatographie Haute Performance en phase Liquide (HPLC)*
(Séguret, 2010)

Elle consiste à effectuer une chromatographie en phase liquide après déprotéinisation des échantillons par de l'acide trichloroacétique, et détection UV à 254 nm.

En comparant les différentes méthodes de dosage de la créatinine, Le Garreres et coll (2007) ont montré que si le dosage était effectué avec la méthode de Jaffé, les concentrations plasmatiques basses de créatinine étaient surestimées et les concentrations hautes sous-estimées (en comparaison à la méthode HLPC considérée ici comme référence). La méthode enzymatique donne des résultats fiables et peut être considérée comme équivalente à la méthode HLPC.

1.2.4 Créatinine basale plasmatique

Deux études ont déterminé les intervalles de référence de la créatinine basale plasmatique chez le chat sain. Reynolds et coll (2008) ont déterminé les intervalles de référence pour 13 variables biochimiques chez le chat sain de race européenne (n=95). Pour la créatinine, l'intervalle de référence est [89-207 µmol/l].

Reynolds et coll (2010) ont montré également qu'il existait un effet race significatif ($p < 0.001$) chez le chat sain sur l'intervalle de référence de la créatinine :

Sacré de Birmanie : [91-239 µmol/l], Chartreux : [80-189 µmol/l], Maine Coon : [77-192 µmol/l] et Persan : [80-164 µmol/l].

1.3 Clairance urinaire et plasmatique de la créatinine

1.3.1 Clairance urinaire de la créatinine exogène

Ross et Finco (1981) ont comparé la clairance urinaire de la créatinine exogène avec la clairance urinaire de l'inuline (méthode de référence) chez 11 chats sains. Les valeurs de clairance urinaire de créatinine exogène (2.9 ± 0.3 ml/min/kg) étaient inférieures de 14% en moyenne à celles de clairance urinaire de l'inuline (3.5 ± 0.6 ml/min/kg). Cependant ils ont également trouvé une corrélation très forte entre ces deux méthodes ($r=0.9870$). De même, Brown et coll (1996b) ont montré une très forte corrélation ($R^2=0.979$, $p<0.0001$) entre la clairance urinaire de l'inuline (1.8 ± 0.3 ml/min/kg) et la clairance urinaire de la créatinine exogène (1.7 ± 0.3 ml/min/kg). La clairance urinaire de la créatinine exogène peut être considérée comme une méthode de référence pour estimer le DFG chez le chat sain.

Cependant, de nombreux inconvénients existent. La procédure est laborieuse et demande une récolte totale des urines. Une vidange vésicale et des rinçages vésicaux sont nécessaires en début et fin de période et n'assurent pas une récolte totale des urines. Le cathétérisme vésical est une méthode invasive (demandant une anesthésie) et augmente le risque d'infections du tractus urinaire (Barsanti et coll (1985)). L'utilisation d'une cage à métabolisme implique que celle-ci doit être gardée exempt de nourriture et de fèces. L'encadré 1 présente un exemple de protocole pour la mesure de la clairance urinaire de la créatinine exogène.

Encadré 1 : Exemple de protocole de mesure de la clairance urinaire de la créatinine exogène (Miyamoto (2001a))

Etape 1 : S'assurer que l'animal est en bonne santé et correctement hydraté.

Etape 2 : Animal mis à jeun 12 à 16 h avant le début de l'étude de clairance, eau à volonté.

Etape 3 : Vidange et rinçage de la vessie par cathétérisme urétral sous anesthésie au début et à la fin de chaque séquence.

Etape 4 : Administration d'un bolus de créatinine exogène (60 mg/kg) par voie IV puis perfusion à taux constant de créatinine (16 mg/kg/h).

Etape 5 : Collecte d'urine sur des périodes de 30 minutes répétées 3 fois.

Etape 6 : Mesure de la concentration plasmatique de créatinine entre les temps de collecte d'urine.

Etape 7 : Dosage de la créatinine par méthode de Jaffé.

Pour éviter ces inconvénients liés à la clairance urinaire, l'utilisation de la clairance plasmatique apparaît comme une alternative. Cette méthode ne demande pas d'équipements spéciaux, d'anesthésie ou d'utilisation de radioéléments.

1.3.2 Clairance plasmatique de la créatinine exogène

Miyamoto (1998) a comparé la clairance plasmatique de l'inuline (3.6 ± 0.7 ml/kg/min) et de la créatinine exogène (4.2 ± 1 ml/kg/min) sur dix chats sains. Les valeurs de DFG entre ces deux méthodes étaient significativement différentes ($p < 0.05$).

Cependant, Le Garreres et coll (2007) ont comparé les clairances plasmatiques de l'exo-iohexol et de la créatinine exogène chez six chats sains. Le dosage de la créatinine a été fait par méthode enzymatique. La clairance plasmatique de la créatinine exogène (2.3 ± 0.7 ml/min/kg) était significativement supérieure ($p < 0.001$) à la clairance plasmatique de l'exo-iohexol (1.8 ± 0.3 ml/kg/min). Mais la valeur obtenue est très proche des valeurs de DFG mesurées avec la clairance urinaire de la créatinine exogène (Ross et Finco 1981, Rogers et coll 1991, Brown et coll 1996a, Brown et coll 1996b).

Cette étude est la première à proposer cette méthode pour évaluer le DFG chez le chat.

L'étude de Van Hoek et coll (2007) a montré que l'utilisation de cette clairance était une bonne alternative. La reproductibilité de la méthode est correcte (coefficient de variation inter-jour=17.31%). De plus, il a été observé une différence significative ($p=0.039$) de cette clairance entre les chats sains âgés ($n=6$; 9-12 ans) (2.0 ± 0.6 ml/kg/min) et les chats sains jeunes ($n=6$; 7-12 mois) (2.7 ± 0.5 ml/kg/min). Cela pourrait s'expliquer par une bonne sensibilité de la clairance de la créatinine exogène à détecter les changements de DFG. Chez les chats sains âgés, il n'a pas été montré de différence significative entre la clairance plasmatique de l'exo-iohexol et de la créatinine exogène ($p=0.74$).

L'encadré 2 présente un protocole pour mesurer la clairance plasmatique de la créatinine exogène.

Encadré 2 : Exemple de protocole de mesure de clairance plasmatique de la créatinine exogène chez le chat sain (Le Garreres et coll (2007))

Etape 1 : S'assurer que l'animal est en bonne santé et correctement hydraté.
Etape 2 : Animal mis à jeun 10 h à 12 h avant le début de l'étude de clairance, eau à volonté.
Etape 3 : Administration de créatinine exogène par bolus IV (dose de 40 mg/kg).
Etape 4 : Prélèvements sanguins 5, 15, 30 minutes et 1, 2, 3, 6, 8 heures.
Etape 5 : Dosage de la créatinine par méthode enzymatique, méthode de Jaffé et HPLC.
Etape 6 : Analyse avec un modèle non compartimental.

Chez le chien, l'utilisation de la clairance plasmatique de la créatinine exogène pour estimer le DFG a été validée. Watson et coll (2002) ont comparé la clairance plasmatique de la créatinine exogène avec la clairance urinaire de l'inuline (méthode de référence). Différentes doses de créatinine exogène (40 mg/kg, 80 mg/kg, 160 mg/kg) ont été administrées à 6 chiens sains. Il n'a pas été observé de différences significatives entre la clairance urinaire de l'inuline (2.9 ml/kg/min) et les clairances plasmatiques de créatinine exogène (3.0 ml/kg/min pour 40 mg/kg, 2.9 ml/kg/min pour 80 mg/kg et 3.0 ml/kg/min pour 160 mg/kg).

Cependant aucune étude ne l'a validée chez le chat.

1.3.3 Valeurs physiologiques des clairances urinaires et plasmatiques de la créatinine chez le chat sain

La valeur du DFG dépend (Von Hendy-Willson et Pressler (2011)) :

- du marqueur utilisé
- de la méthode de mesure employée
- des facteurs extra-rénaux : l'âge, le sexe, la race, le régime alimentaire protéique, l'état d'hydratation, l'équilibre en sodium, des rythmes circadiens.

Par conséquent, il n'existe pas d'intervalle de référence universel. Les auteurs des études antérieures ont rapporté chez des chats sains différentes valeurs recensées dans les tableaux 1 et 2 pour les clairances urinaire et plasmatique de la créatinine (endogène et exogène).

Tableau 1 : Valeurs de débit de filtration glomérulaire obtenues chez le chat sain par la méthode de clairance urinaire de la créatinine endogène ou exogène.

Marqueur	Chats	Anesthésie	Injection	Période	Dosage	DFG (ml/min/kg)	Références
Cr-exo	11	Oui	IV	3x20min	Jaffé	2.94±0.32 ^{SD}	Ross et Finco 1981
Cr-exo	6	Oui	IV	3x60min	?	2.56±0.61 ^{SD}	Rogers et coll 1991
Cr-exo	5	Oui	SC	5x30min	Enz	2.7±0.28 ^{SEM}	Brown et coll 1996a
Cr-exo	3	Oui	SC	4x20min	Enz	2.74±0.04 ^{SEM}	Brown et coll 1996b
Cr-exo	4	Oui	IV	3x30min	Jaffé	3.34±0.13 ^{SEM}	Miyamoto 2001a
Cr-exo	10	Oui	IV	3x30min	Jaffé	3.10±0.12 ^{SEM}	Miyamoto 2001b
Cr-endo	35	Oui	/	20min [^]	Jaffé	2.70±1.12 ^{SD}	Osbaldiston et coll 1970
Cr-endo	12	Non	/	2x24h	Jaffé	2.31±0.47 ^{SD}	Russo et coll 1986
Cr-endo	6	Non	/	1x24h	Jaffé	1.81±0.99 ^{SD}	Uribe et coll 1992
Cr-endo	6	?	/	1x60min	Jaffé	2.64±0.22 ^{SD}	Deguchi et coll 1997
Cr-endo	9	Non	/	24h	Enz	1.92±0.37 ^{SD}	Pelligand et coll 2011

Marqueur : Cr-exo : créatinine exogène, Cr-endo : créatinine endogène

Chats : nombre de chats sains dans l'étude

Anesthésie : ? : non documentée

Injection : voie d'injection du marqueur (IV intraveineuse ; SC sous cutanée)

Période : nombre et durée des périodes de collecte d'urine, ^ répétition variable suivant les chats

Dosage : méthode de dosage de la créatinine (Jaffé : méthode de Jaffé, Enz : méthode enzymatique, ? : non documentée)

DFG (Débit de filtration glomérulaire) : Les valeurs sont exprimées en moyenne ±écart-type (SD) ou ± erreur-type de la moyenne (SEM)



Tableau 2 : Valeurs de débit de filtration glomérulaire obtenues chez le chat sain par la méthode de clairance plasmatique de la créatinine exogène. (Séguret, 2010)

Chats	Anesthésie	PS	Durée	Dosage	Modèle	DFG (ml/min/kg)	Références
10	Non	13	240	Jaffé	2-C	4.24 ±0.67 ^{SD}	Miyamoto 1998
6	Non	8	480	Enz	T	2.3 ±0.73 ^{SD}	Le Garreres et coll 2007
12	Non	10	600	Enz	T	2.3 ±0.66 ^{SD}	Von Hoek et coll 2007
51	Non	5	300	Enz	T	2.55 ±0.64 ^{SD}	Heiene et coll 2009
51	Non	5	300	Enz	1-C	3.19 ±1.11 ^{SD}	Heiene et coll 2009

Chats : nombre de chats sains utilisés dans l'étude

PS : nombre de prélèvements de sang

Durée : temps du dernier prélèvement en minutes

Dosage : Enz : méthode enzymatique, Jaffé : méthode de Jaffé

Modèle : modèle pharmacocinétique, 2-C : modèle bicompartimental, T : modèle non compartimental

DFG (Débit de filtration glomérulaire) : les valeurs sont exprimées en moyenne±écart-type (SD)

Cette étude a eu pour objectif de comparer la clairance plasmatique de la créatinine exogène, considérée comme une méthode alternative, à la clairance urinaire de la créatinine exogène, considérée comme une méthode de référence chez le chat sain.

2 ETUDE EXPERIMENTALE

2.1 Problématique et objectifs

La clairance urinaire de la créatinine exogène est considérée comme une méthode de référence pour estimer le DFG chez le chat. Cependant cette méthode est fastidieuse et peu pratique à utiliser. La créatinine chez le chat étant uniquement filtrée, non sécrétée, non réabsorbée (Finco et Barsanti, 1982), la clairance plasmatique de la créatinine exogène apparaît comme une méthode alternative.

L'objectif de cette étude a été d'évaluer si les clairances plasmatique et urinaire de la créatinine exogène sont similaires chez le chat sain.

Les objectifs secondaires ont été de déterminer les autres paramètres pharmacocinétiques de la créatinine plasmatique chez le chat sain.

2.2 Matériels et méthodes

2.2.1 Plan expérimental

Une étude en carré latin a été réalisée avec six chats (A,B,C,D,E,F) sur deux périodes (EN-EX ou EX-EN). Pour chaque chat la quantité de créatinine endogène excrétée dans l'urine (EN) a été mesurée et la clairance urinaire et plasmatique de la créatinine exogène (EX) a été déterminée selon une séquence EN-EX (3 chats) ou EX-EN (3 chats).

Les chats ont été classés par âge puis par poids. Pour une paire de chat, la séquence suivie par le premier chat a été déterminée aléatoirement. Le second chat de la paire a alors suivi l'autre séquence.

Tableau 3 : Plan de l'étude

	Période 1	Période 2
A,C,F	EN	EX
B,D,E	EX	EN

EN : mesure de la quantité de créatinine endogène excrétée

EX : détermination de la clairance plasmatique et urinaire de la créatinine exogène

2.2.2 Caractéristiques des chats

Six chats sains femelles, stérilisés, de race européenne, issus d'une colonie de recherche, ont été utilisés. Leur poids moyen était de 4.0 ± 0.4 kg [3.2 kg-4.5 kg]. Les chats étaient identifiés par tatouage ou puce électronique, avec un collier portant une médaille à leur nom.

Les chats appartenaient à l'unité de nutrition et d'endocrinologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes. Ils étaient habitués à la collecte d'urine qui était une méthode utilisée dans les expérimentations de l'unité. Ces chats vivaient dans un enclos de 5.4 m^2 (16.4 m^3) (maximum 8 chats par enclos) avec un accès libre à un espace extérieur fermé de 5.6 m^2 . Les pièces étaient éclairées 12 heures par jour, de 7 h du matin à 19 h. La température ambiante était maintenue entre 18 et 21°C . Les pièces étaient équipées de deux extracteurs ($250 \text{ m}^2 / \text{heure}$), fonctionnant 12 heures par jour, de 7 h du matin à 19 h.

Pour des raisons pratiques, chaque chat était identifié par une lettre pendant l'étude. On effectue les mesures selon la séquence EN-EX sur les chats A, C, F et selon la séquence EX-EN sur les chats B, D, E.

Tableau 4 : Caractéristiques des chats classés selon les critères de randomisation (par âge puis par poids)

NOM	CODE	SEXE	AGE (année)	POIDS (kg)
ANTHALAHA	B	F	6.5	3.98
AUBADE	F	F	6.5	4.34
LILIROSE	E	F	9.0	4.06
AMBRE	C	F	9.2	3.82
TAGLIATELE	D	F	10.5	3.28
THESEE	A	F	10.5	4.56
Moyenne±écart-type			8.7±1.8	4.0±0.4

Les chats ont été mis à jeun 12 heures avant le début de l'étude. Ils avaient un accès libre à l'eau. Ils ont été pesés, puis placés dans les cages à métabolisme avec un système de récupération de l'urine.

Leur nourriture habituelle qui était les croquettes Royal Canin Young Male (Royal Canin, Aimargues, France) (Energie métabolisable : 3684 kcal/kg ; protéines : 38% ; lipides : 10% ; amidon : 26.2% ; fibres : 11.2%) leur a été proposée pendant une heure de 18 h à 19 h pendant la période de collecte d'urine. Les chats ont été à nouveau mis à jeun jusqu'à la fin de la période.

2.2.3 Substances utilisées

Une solution aqueuse de créatinine (80 mg/ml) a été préparée avec de la créatinine anhydre (créatinine anhydre Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), diluée dans de l'eau distillée stérile. Après la vidange de la vessie par cathétérisme urétral, elle a été administrée à la dose de 20 mg/kg sous forme de bolus intraveineux suivi d'une injection de 2 ml d'une solution de chlorure de sodium 0.9%. L'administration a été faite par le biais d'un cathéter (Surflo I.V cathéter 22Gx1'' Terumo, Leuven, Belgique) posé à la veine céphalique et muni d'un bouchon obturateur (IN-Stopper B Braun, Boulogne, France).

Pour le cathétérisme urétral, une contention chimique a été effectuée avec un mélange de 10 mg de chlorhydrate de kétamine (Chlorkétam 1000, Vétoquinol, Paris, France) et 0.5 mg de diazépam (Valium 10 mg/2 ml, Roche, Neuilly sur Seine, France) injecté par le biais du bouchon obturateur. Cette injection a été immédiatement suivie d'une administration de 0.5 ml de solution de chlorure de sodium 0.9%. Le cathéter urétral a été retiré immédiatement après la vidange vésicale.

2.2.4 Recueil d'urine

- *Vidange vésicale*

Deux vidanges complètes de la vessie par cathétérisme urétral ont été effectuées sur les six chats.

La première vidange a eu pour but d'avoir une vessie totalement vide au départ de l'expérience. L'urine collectée au cours cette vidange n'a pas été conservée. Lors de la deuxième vidange (l'urine a alors été récupérée), trois rinçages de la vessie ont été réalisés avec 10 ml de chlorure de sodium 0.9%. Ces rinçages avaient pour but de récupérer la totalité de l'urine de la vessie.

- *Cage à métabolisme*

Pour récupérer la quantité totale d'urine éliminée par le chat pendant 24 h, les chats ont été placés dans une cage à métabolisme individuelle (75x75x67 cm). L'urine a été récoltée dans un flacon situé sous la cage.

De plus, après ces 24 h, trois rinçages des cages ont été réalisés à 30 minutes d'intervalle chacun, afin de récupérer l'urine potentiellement présente sur les parois de la cage.

A chaque rinçage, les cages ont été rincées avec 100 ml d'eau distillée. Les solutions de rinçage ont été récoltées dans trois pots distincts.

- *Identification des prélèvements*

L'urine récupérée lors de la seconde vidange vésicale a été ajoutée à l'urine émise puis récupérée dans la cage à métabolisme sur 24 h.

Les poids de l'urine et des eaux de rinçage a été déterminé par double pesée. A chaque prélèvement, l'heure a été enregistrée. A chaque chat sont attribués 7 pots (un pour l'urine de la cage avec l'urine de la vidange vésicale, 3 pour les rinçages de vessie, 3 pour les rinçages des cages).

2.2.5 Recueil d'échantillons de sang

Avant chaque vidange vésicale, un prélèvement sanguin a été effectué sur chaque chat. Il a été réalisé à l'embout du cathéter avant la mise en place du bouchon obturateur avec un tube capillaire hépariné (Microvette LiH 200 µL, Sarstedt, Numbrecht, Allemagne).

Pour les chats participant à l'étude « EX », une série de prises de sang a été effectuée successivement à 5, 30 minutes et 1, 2, 3, 5, 8 et 24 heures après l'administration de créatinine.

Le sang a été prélevé à la veine céphalique avec une aiguille de calibre 25 (Neolus 25Gx5/8'' Terumo Europe, Leuven, Belgique) et un tube capillaire hépariné (Microvette LiH 200 µL, Sarstedt, Numbrecht, Allemagne) (Reynolds et coll (2008)). Le temps exact a été enregistré.

2.2.6 Traitement des échantillons

- *Echantillons d'urine*

Le contenu de chaque pot a été homogénéisé, puis 10 ml de chacun des pots ont été prélevés et mis à centrifuger (3000 g, 10 min). Le surnageant a été récupéré et divisé en 10 échantillons de 1 ml dans des tubes Eppendorf. Tous les échantillons ont été immédiatement congelés à -80 °C.

Un échantillon de chaque type (urine totale, rinçage vessie 1, rinçage vessie 2, rinçage vessie 3, rinçage cage 1, rinçage cage 2 et rinçage cage 3) provenant de chaque chat à chaque période a été analysé pour connaître la quantité de créatinine.

- *Echantillons de sang*

Le sang prélevé sur un tube hépariné a été centrifugé (3000 g, 10 min). Le plasma a été récupéré et placé dans les tubes Eppendorf. Les tubes Eppendorf ont été ensuite placés à +4°C et dosé dans les 24 h. Sur le premier échantillon de plasma de chaque chat, une biochimie complète a été réalisée (glucose, urée, créatinine, sodium, potassium, chlore, calcium, phosphate, protéines, albumine, ALAT, PAL) pour s'assurer de leur bonne santé.

Seule la créatinine a été mesurée sur les autres échantillons.

2.2.7 Dosage de la créatinine

Le dosage de la créatinine dans le sang et l'urine a été effectué par méthode enzymatique au laboratoire de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT) avec un analyseur (Vitros 350, ortho-clinical diagnostic, Inc. Raritan, NJ).

L'analyse a été effectuée avec les plaques analytiques Vitros CREA qui permettent d'effectuer un dosage quantitatif de la concentration de créatinine dans le sérum, le plasma et l'urine. La validation de ce dosage dans ces conditions a été publié précédemment (Reynolds et coll (2008)). Les détails sont rapportés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Répétabilité et imprécision intra-laboratoire estimées pour deux solutions de contrôle de créatinine plasmatique mesurée par l'analyseur (Reynolds et coll (2008))

	Gamme d'analyse	Concentration contrôle	Répétabilité		Imprécision intra-laboratoire	
			écart-type	CV (%)	écart-type	CV (%)
Créatinine ($\mu\text{mol/l}$)	4-1238	87	0.9	0.9	3.0	3.1
		523	3.5	0.7	8.1	1.6

CV : Coefficient de variation

Pour le dosage dans l'urine, des dosages dupliqués de la créatinine dans deux solutions de concentrations connues (5345 $\mu\text{mol/l}$ et 11770 $\mu\text{mol/l}$) ont été effectuée chaque matin et après-midi pendant cinq jours consécutifs. Les valeurs des coefficients de variations sont rapportées dans le tableau 6.

Tableau 6 : Répétabilité et imprécision intra-laboratoire estimées pour deux solutions de contrôle de créatinine urinaire mesurée par l'analyseur

	Gamme d'analyse	Concentration contrôle	Répétabilité	Imprécision intra-laboratoire
			CV (%)	CV (%)
Créatinine ($\mu\text{mol/l}$)	4-1238	5345	1.2	2.3
		11770	1.7	3.6

- *Dosage dans le plasma*

Une goutte (6 μL) de plasma a été déposée sur la plaque CREA et placé dans l'appareil. Si la concentration était en dehors de la gamme de linéarité de l'analyseur, alors une dilution de l'échantillon a été effectuée. La dilution a été faite automatiquement par l'analyseur. La gamme de linéarité de l'analyseur pour la concentration de créatinine dans le sérum est [0.05-14.0 mg/dl].

- *Dosage dans l'urine*

Une dilution d'un volume d'urine avec 20 volumes d'eau pour réactif a été réalisée. L'échantillon a été analysé. Pour obtenir la concentration de créatinine avant dilution, une multiplication du résultat obtenu par 21 a été effectuée. La dilution a été faite automatiquement par l'analyseur.

Si la concentration était en dehors de la gamme de linéarité de l'analyseur, alors une dilution de l'échantillon a été effectuée automatiquement par l'analyseur (un volume d'échantillon pré-dilué avec un volume d'eau pour réactif). La gamme de linéarité de l'analyseur pour la concentration de créatinine dans l'urine est [1.05-346.5 mg/dl].

2.2.8 Analyse pharmacocinétique

L'analyse pharmacocinétique a été réalisée par une approche non compartimentale avec le logiciel WinNonLin (version 5.2.1, Pharsight, Mountain view, CA).

A chaque temps de prélèvement, une concentration totale de créatinine (exogène et endogène) a été mesurée. La concentration basale plasmatique de créatinine endogène est déterminée au temps $t=0$, avant l'administration de créatinine. Cette concentration est considérée comme stable sur 24h.

- *Clairance urinaire de la créatinine exogène*

La clairance urinaire de la créatinine exogène a été calculée à partir de l'équation 12.

$$Cl_{uexo} = \frac{Q_{exo}}{C_{creatmoy}} \quad (\text{Equation 12})$$

Avec :

Q_{exo} : quantité de créatinine exogène dans les urines (mg)

$C_{creatmoy}$: concentration plasmatique moyenne sur l'intervalle de collecte de la créatinine exogène (mg/ml)

Et
$$C_{creatmoy} = \frac{AUC(creatobs-creatbasal)}{Période\ de\ collecte} \quad (Equation\ 13)$$

Avec :

AUC(creatobs-creatbasal) : Aire sous la courbe (mg.min/l) en fonction du temps des concentrations observées de créatinine moins la concentration basale

Période de collecte des urines (24 h) : min

Et
$$Q_{exo} = Q_{total} - Q_{endo} \quad (Equation\ 14)$$

Avec :

Qtotal : Quantité de créatinine déterminée pendant l'étude EX (mg)

Qendo : Quantité de créatinine déterminée pendant l'étude EN (mg)

- *Clairance plasmatique de la créatinine exogène*

La clairance plasmatique a été déterminée en divisant la dose par l'aire sous la courbe (Equation 7). L'aire sous la courbe (AUC(creatobs-creatbasal) en fonction du temps des concentrations de créatinine observées moins la concentration basale) a été calculée selon la méthode des trapèzes.

Soit $t=t_{last}$, le temps du dernier prélèvement.

Soit A1 l'aire sous la courbe entre 0 et t_{last} et A2 l'aire sous la courbe entre t_{last} et l'infini (∞).

$$AUC = A1 + A2$$

$$A1 = \sum_{t=0}^{t_{last}} \frac{[C_n] + [C_{n+1}]}{2} \times (T_{n+1} - T_n) \quad (\text{Equation 15})$$

Avec C_n et C_{n+1} les concentrations mesurées à T_n et T_{n+1} .

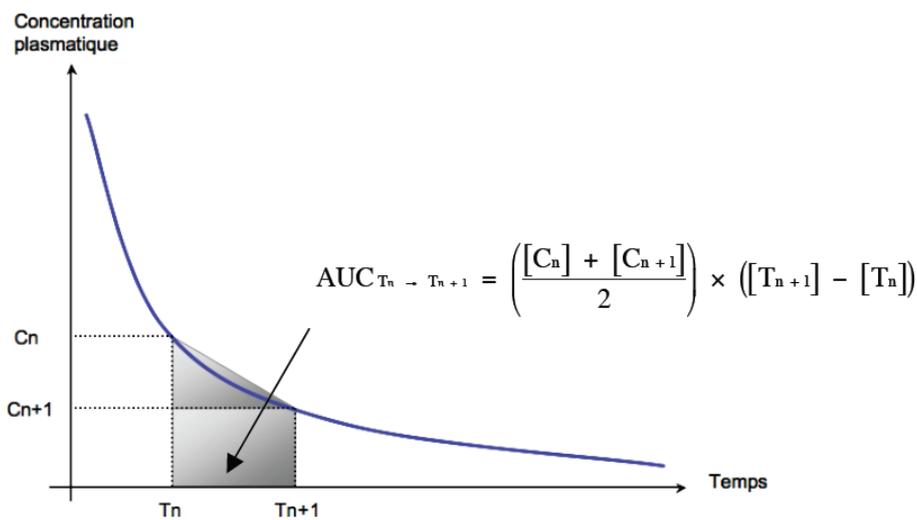


Figure 6 : Méthode des trapèzes pour le calcul de l'AUC (d'après Creton, 2008)

Pour terminer le calcul de l'aire totale, A2 doit être calculée. Pour cela, une extrapolation linéaire est réalisée à partir des derniers points de la courbe.

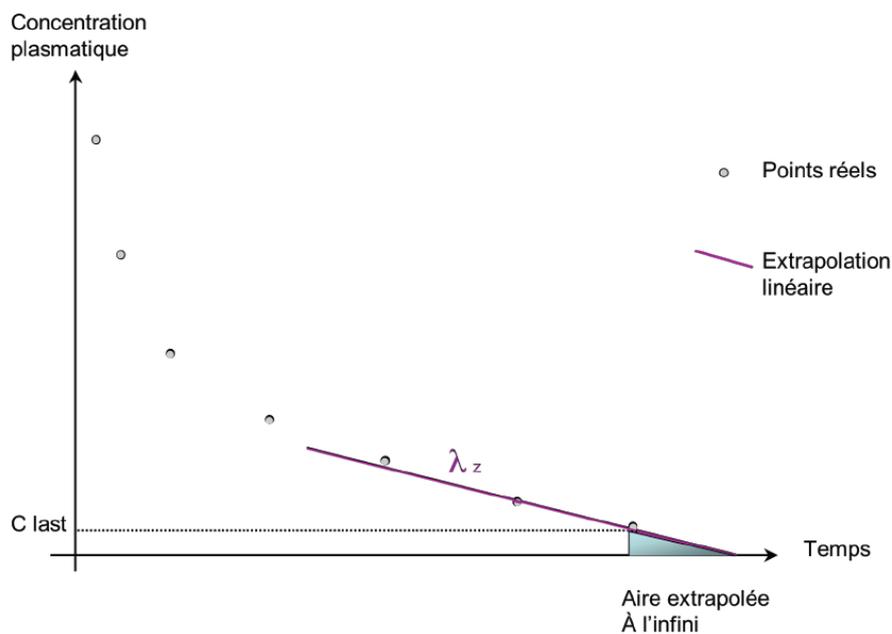


Figure 7 : Méthode d'extrapolation de la cinétique de la créatinine exogène à l'infini à partir des dernières valeurs de la créatinine plasmatique mesurées (d'après Creton, 2008)

$$A2 = \int_{t_{last}}^{\infty} C e^{-\lambda z} dt \quad (\text{Equation 16})$$

D'où : $A2 = \frac{C_{t_{last}}}{\lambda z}$ (Equation 17)

Avec :

λz : valeur absolue de la pente de cette courbe monoexponentielle

$C_{t_{last}}$: concentration plasmatique au temps t_{last} (temps du dernier prélèvement)

- *Autres paramètres pharmacocinétiques*

Les autres paramètres pharmacocinétiques (volume de distribution de la créatinine à l'état d'équilibre (Vd), temps de demi-vie ($T_{1/2}$) et temps moyen de résidence (MRT) de la créatinine dans le plasma) ont été calculés comme précédemment décrits (Gibaldi et Perrier (1982)).

- *Production de créatinine*

La production de créatinine de chaque chat en 24 h (P_{creat}) a été calculée à partir de l'équation 18 (Watson et coll (2002)).

$$P_{creat} = Clp \times AUC_{basal} \quad (\text{Equation 18})$$

Avec :

P_{creat} : Production de créatinine endogène par jour (mg/kg/j)

AUC_{basal} : Aire sous la courbe des concentrations basales de créatinine sur 24 h (mg.min/l)

2.2.9 Analyses statistiques

Les statistiques ont été réalisées avec le logiciel Systat. Les analyses ont été effectuées selon un modèle linéaire général pour toutes les variables. Les résultats sont exprimés sous la forme moyenne \pm écart-type. Une valeur de p inférieure à 0.05 ($p < 0.05$) est considérée comme significative.

2.3 Résultats

Les différentes phases de l'étude se sont déroulées sans incident ni difficulté.

2.3.1 Bilans plasmatiques individuels

Les résultats individuels des variables biochimiques plasmatiques sont présentés dans le tableau 7. Après randomisation, l'âge et le poids des chats de chaque séquence ne présentaient pas de différence statistiquement significative (vérification par un test de Student).

Tableau 7 : Variables plasmatiques chez les 6 chats

	Unité	Chat						Moyenne±écart-type
		A	B	C	D	E	F	
Glucose	mmol/l	3.2	3.6	2.3	4.1	3.8	3.8	3.5±0.6
Urée	mmol/l	6.9	7.2	8.4	6.8	9.8	6.7	7.6±1.2
Créatinine	µmol/l	100	90	117	102	138	106	109±17
Sodium	mmol/l	157	159	163	160	160	159	160±2
Potassium	mmol/l	4.2	4.4	6.1	4.8	4.9	5.0	4.9±0.7
Chlorures	mmol/l	115	117	123	120	122	119	119±3
Calcium	mmol/l	2.7	2.6	2.7	2.8	2.7	2.7	2.7±0.1
Phosphates	mmol/l	1.8	2.0	1.4	1.5	1.7	1.6	1.7±0.2
Protéines	g/l	83	92	86	84	88	91	87.2±4
Albumine	g/l	38	29	38	38	34	34	35±4
ALAT	U/l	71	85	68	78	52	52	68±14
PAL	U/l	90	79	54	71	50	36	63±20

2.3.2 Rinçage de vessie et de cage

La proportion de créatinine retrouvée dans les différents rinçages (vessie et cage) est résumée dans les tableaux 8 et 9. Les valeurs sont exprimées en pourcentage de créatinine retrouvée dans le rinçage de la vessie et de la cage par rapport à la quantité totale de créatinine (Q_{total}).

Tableau 8 : Pourcentage de créatinine retrouvée dans le rinçage de la vessie et de la cage par rapport à la quantité totale de créatinine excrétée (Q_{total}) lors du test EX

Chat	TEST	créatinine rinçage (%)
A	EX	3.9
B	EX	3.4
C	EX	3.2
D	EX	4.2
E	EX	12.0
F	EX	2.0
Moyenne±écart-type		4.8±3.6

Tableau 9 : Pourcentage de créatinine retrouvée dans le rinçage de la vessie et de la cage par rapport à la quantité totale de créatinine excrétée (Q_{total}) lors du test EN

Chat	TEST	créatinine rinçage (%)
A	EN	2.0
B	EN	2.4
C	EN	4.1
D	EN	17.8
E	EN	6.4
F	EN	16.3
Moyenne±écart-type		8.2±7.1

Les rinçages permettent d'obtenir $6.5\pm 5.6\%$ [2.0-17.8%] de la quantité totale de créatinine excrétée dans l'urine.

Le détail des pourcentages de créatinine retrouvée dans chaque type rinçage est donné dans les tableaux 10 et 11.

Tableau 10 : Pourcentage de créatinine retrouvée dans chaque type de rinçage par rapport à la quantité totale de créatinine excrétée (Q_{total}) lors du test EX

Chat	TEST	créatinine rinçage vessie (%)	créatinine rinçage cage (%)
A	EX	3.1	0.8
B	EX	1.4	2.0
C	EX	1.4	1.8
D	EX	2.2	2.0
E	EX	1.0	11.0
F	EX	1.9	0.1
Moyenne±écart-type		1.8±0.8	3.0±4.0

Tableau 11 : Pourcentage de créatinine retrouvée dans chaque type de rinçage par rapport à la quantité totale de créatinine excrétée (Q_{total}) lors du test EN

Chat	TEST	créatinine rinçage vessie (%)	créatinine rinçage cage (%)
A	EN	1.8	0.2
B	EN	2.3	0.1
C	EN	2.1	2.0
D	EN	0.6	17.2
E	EN	0.5	5.9
F	EN	16.1	0.2
Moyenne±écart-type		3.9±6.0	4.3±6.7

2.3.3 Pourcentage de créatinine exogène excrétée dans les urines

Le tableau 12 montre la proportion de la dose de créatinine exogène administrée retrouvée dans les urines pour chaque chat.

Tableau 12: Proportion de la dose excrétée dans les urines

Chat	Dose injectée (μmol)	% dose excrétée
A	801	73.0
B	713	81.7
C	713	83.2
D	591	86.0
E	727	94.7
F	729	81.7
Moyenne \pm écart-type	712 \pm 68	83.4 \pm 7.1

On retrouve 83.4 \pm 7.1% [73.0-94.7%] de la créatinine injectée dans les urines.

2.3.4 Cinétique d'élimination plasmatique de la créatinine exogène

Le profil individuel des concentrations plasmatiques de créatinine en fonction du temps est présenté sur la figure 8. Les concentrations maximales observées à 5 minutes ont été comprises entre 491 $\mu\text{mol/l}$ et 799 $\mu\text{mol/l}$.

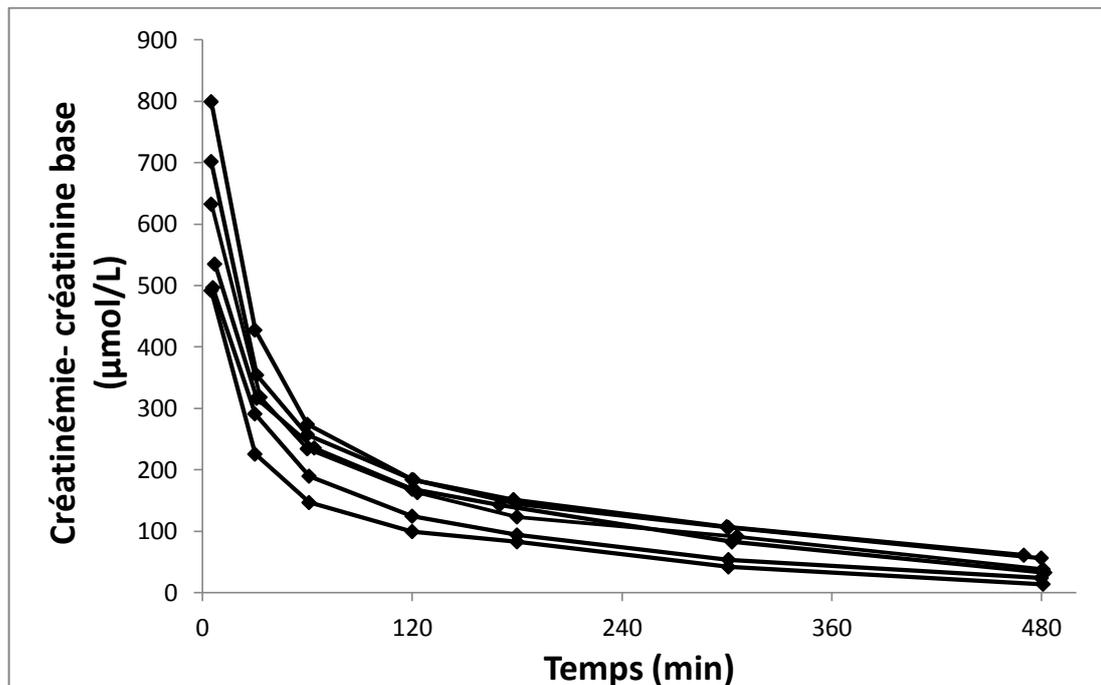


Figure 8: Cinétique d'élimination de la créatinine exogène dans le plasma chez 6 chats sains

Les valeurs de $T_{1/2}$, Vd et MRT sont présentées dans le tableau 13.

Tableau 13 : Paramètres pharmacocinétiques de la créatinine chez 6 chats sains

Chat	$T_{1/2}$ (min)	Vd (ml/kg)	MRT (min)
A	215	452	256
B	150	611	180
C	169	492	212
D	115	607	147
E	150	479	194
F	221	474	275
Moyenne±écart-type	170±41	519±71	211±48

2.3.5 Production quotidienne de créatinine endogène

Les valeurs de production quotidienne de créatinine endogène (P_{creat}) calculée pour chaque chat sont présentées dans le tableau 14.

Tableau 14 : Production quotidienne de créatinine endogène chez 6 chats sains

Chat	P_{creat} (mg/kg/j)
A	29.3
B	49.7
C	43.9
D	67.9
E	56.1
F	29.4
Moyenne±écart-type	46.1±15.2

2.3.6 Pourcentage de l'aire sous la courbe extrapolée à l'infini

La proportion de l'aire sous la courbe extrapolée à l'infini (AUCextrap) par rapport à l'aire sous la courbe totale est présentée dans le tableau 15 pour chaque chat.

Tableau 15 : Pourcentage de l'aire extrapolée à l'infini par rapport à l'aire sous la courbe totale chez 6 chats sains

Chat	AUCextrap (%)
A	17
B	9
C	12
D	5
E	9
F	20
Moyenne±écart-type	12±6

2.3.7 Comparaison clairance urinaire et plasmatique de la créatinine exogène

Le tableau 16 montre les valeurs de clairance urinaire et plasmatique de la créatinine exogène pour chaque chat.

Tableau 16 : Clairances urinaire (CUCE) et plasmatique (CPCE) de la créatinine exogène

Chat	CUCE (ml/kg/min)	CPCE (ml/kg/min)	Δ (%)
A	1.3	1.8	39.5
B	2.8	3.4	22.6
C	1.9	2.3	19.1
D	3.5	4.1	15.5
E	2.4	2.5	5.8
F	1.4	1.7	21.0
Moyenne±écart-type	2.2±0.9	2.6±0.9	20.6±11.0

Avec :

$$\Delta = \frac{CPCE - CUCE}{CUCE} \times 100 \quad (\text{Equation 19})$$

Ainsi, la clairance plasmatique de la créatinine exogène (2.6±0.9 ml/min/kg) est 20% plus élevée que la clairance urinaire de la créatinine exogène (2.2±0.9 ml/kg/min). Cette différence est significative (p<0.01).

Cependant, ces deux clairances sont très fortement corrélées ($R^2 = 0.97$, $p=0.001$) (figure 9).

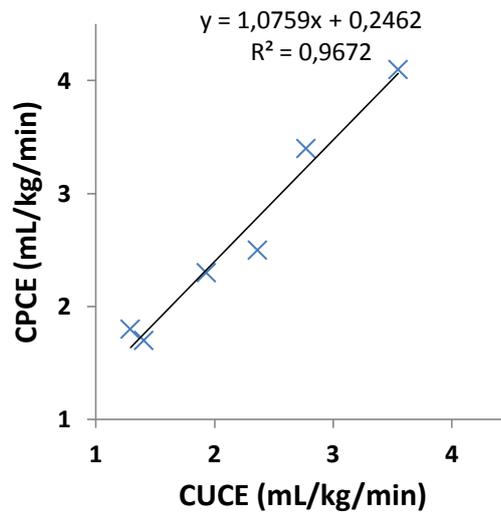


Figure 9 : Corrélation entre les clairances urinaire et plasmatique de la créatinine exogène

3 DISCUSSION

La clairance urinaire de la créatinine exogène a déjà été utilisée pour estimer le débit de filtration glomérulaire chez le chat sain, notamment par Ross et Finco (1981) ou Miyamoto (2001a). Des études plus récentes, Le Garreres et coll (2007), Van Hoek et coll (2007) Heiene et coll (2009) notamment, ont utilisé la clairance plasmatique de la créatinine exogène.

L'intérêt de ce travail est la comparaison directe de ces deux méthodes, qui n'avait jamais été réalisée.

Le nombre de chat utilisé (n=6) est comparable à celui utilisé dans les études passées (Rogers et coll (1991), Brown et coll (1996a), Miyamoto (2001a), Uribe et coll (1992), Deguchi et coll (1997), Le Garreres et coll (2007)).

Les chats ont eu un accès à la nourriture, ce qui a pu modifier la quantité de créatinine endogène. La quantité de nourriture ingérée par chaque chat est différente, ainsi que leur capacité d'absorption intestinale. Les temps de prélèvement sanguin n'ont pas permis de détecter cette absorption, mais il est possible qu'une partie de la créatinine issue de l'alimentation se retrouve dans les urines. Cependant, les conditions étaient identiques dans les deux méthodes.

Les rinçages de cage paraissent inutiles dans l'étude de la clairance urinaire de la créatinine exogène chez le chat. Seulement 3.0 ± 4.0 % de la créatinine est retrouvée dans les rinçages de cage dans cette étude.

Au contraire, lors de l'étude de la clairance urinaire de la créatinine exogène chez le chien, Watson et coll (2002) ont montré que la quantité de créatinine exogène retrouvée dans les solutions de rinçage de cage était de 23% [4-71%] de la quantité totale pour une dose de créatinine exogène de 40 mg/kg. Cela peut s'expliquer par le fait que le chat urine moins souvent et de plus petits volumes que le chien.

De même, le rinçage de vessie dans le cadre de l'étude de la clairance urinaire de la créatinine exogène semble inutile chez le chat. Cette étude montre que seulement 1.8 ± 0.8 % de la créatinine est retrouvée dans cette solution de rinçage.

Dans cette étude, les chats ont reçu du diazépam et de la kétamine à faible dose. Cette sédation a été utilisée pour le cathétérisme urétral.

Reynolds et coll (2012) ont étudié l'effet de la contention chimique diazépam-kétamine en IV sur les paramètres sanguins de 42 chats. Le protocole de sédation était 10 mg de chlorhydrate de kétamine (Chlorkétam 1000, Vétquinol, Paris, France) et 0.5mg de diazépam (Valium 10 mg/2 ml, Roche, Neuilly sur Seine, France) identique à celui utilisé dans cette étude. Avant la sédation, la concentration en créatinine était de 124 $\mu\text{mol/l}$ [75-286.2 $\mu\text{mol/l}$]. Après la sédation (3.9 \pm 2 min [1.9-13minutes]) la créatininémie était de 121 $\mu\text{mol/l}$ [74.2-280 $\mu\text{mol/l}$]. La différence est très faible. A 30 minutes, l'effet de la contention chimique est dissipé. Cette contention est de courte durée et a peu de chances d'impacter la diurèse sur 24h. Une faible dose de kétamine-diazépam utilisée pour une sédation de courte durée est donc utilisable sans répercussion sur la créatininémie.

Les valeurs de clairance obtenues (2.2 \pm 0.6 ml/kg/min pour la CUCE et 2.6 \pm 0.9 ml/kg/min pour la CPCE) qui sont égales au DFG, sont proches de celles trouvées dans des études précédentes. Concernant la CUCE, Rogers et coll (1991) obtenait 2.56 \pm 0.61 ml/kg/min. Pour la CPCE, Le Garreres et coll (2007) obtenait 2.3 \pm 0.73 ml/kg/min, Van Hoek et coll (2007) 2.3 \pm 0.66 ml/kg/min et Heiene et coll (2009) 2.55 \pm 0.64 ml/kg/min.

Miyamoto (1998) a trouvé un DFG de 4.24 \pm 0.67 ml/kg/min. Une valeur plus élevée que celles évoquées ci-dessus. Cela peut s'expliquer par le fait que la créatinine a été dosée avec la méthode de Jaffé qui peut surestimer la clairance (Le Garreres et coll (2007)).

Lors du calcul de la CPCE, idéalement, l'aire sous la courbe extrapolée à l'infini ne devrait pas excéder 20% de l'aire sous la courbe totale. Dans cette étude, l'AUCextrap représente en moyenne 12 \pm 6% de l'aire sous la courbe totale. Cinq chats ont une valeur inférieure ou égale à 17% et seulement un chat a une valeur égale à 20%. Ces valeurs sont inférieures à celles rapportées chez le chat (AUCextrap inférieure à 17% sauf pour deux chats (35% et 27%), Le Garreres et coll (2007)).

L'objectif principal de cette étude était de comparer les clairances urinaire et plasmatique de la créatinine exogène. Ce travail a permis de montrer qu'il existait une très forte corrélation entre ces deux méthodes. En effet, 97 % de la variabilité de la CPCE est expliquée par celle de CUCE. La CUCE est considérée comme méthode de référence pour

évaluer le DFG (Finco et Barsanti (1982)). En montrant une relation si forte entre ces deux méthodes, la CPCE peut être considérée comme un bon indicateur de la CUCE.

Le deuxième objectif était d'étudier la pharmacocinétique de la créatinine. La dose administrée de créatinine (20 mg/kg) est retrouvée en grande majorité dans les urines. Le résultat de 83.4 ± 7.1 % montre que la créatinine est pour l'essentiel excrétée dans les urines. Le pourcentage de créatinine non retrouvée dans les urines peut s'expliquer par la difficulté à récupérer la totalité des urines chez le chat. Ce résultat peut amener à une légère sous-estimation du DFG.

Le volume de distribution à l'état d'équilibre de la créatinine dans cette étude (519 ± 71 ml/kg) est similaire à celui rapporté chez le chat sain par Le Garreres et coll (2007) (475 ± 105 ml/kg) et 13% plus faible que chez le chien sain (596 ± 91 mg/kg) (Watson et coll (2002)).

Le temps moyen de résidence (211 ± 48 min) et le temps de demi-vie (170 ± 41 min) sont également similaires à ceux rapportés précédemment chez le chat sain (respectivement 226 ± 94 min et 184 ± 68 min, Le Garreres et coll (2007)).

La production quotidienne de créatinine endogène estimée dans cette étude (46.1 ± 15.2 mg/kg) est 30% plus faible que celle précédemment rapportée chez le chat sain par Le Garreres et coll (2007) (65 ± 23 mg/kg), mais similaire à celui rapporté chez le chien sain (43 ± 5 mg/kg, Watson et coll (2002)).

Cette étude a montré que la clairance plasmatique de la créatinine exogène était une méthode pratique et valable pour déterminer le débit de filtration glomérulaire chez le chat sain.

CONCLUSION

Le résultat de l'étude permet de conclure que la clairance plasmatique de la créatinine exogène, par une approche non compartimentale, est une méthode valable et pratique pour estimer le débit de filtration glomérulaire chez le chat sain. Elle représente une alternative de choix aux autres méthodes du fait de son faible coût et de la facilité des dosages. De plus, elle dispense de la collecte d'urine contrairement à la clairance urinaire de la créatinine exogène.

D'autres études sont cependant nécessaires pour permettre une utilisation en routine de cette méthode. Les facteurs de variations du DFG dans l'espèce féline sont très peu documentés. De même il est nécessaire de tenter d'établir un intervalle de référence à partir d'une population de chats plus importante.

BIBLIOGRAPHIE

ADAMS WH, DANIEL GB, LEGENDRE AM

Investigation of the effects of hyperthyroidism on renal function in the cat.

Can J Vet Res. 1997; 61:53-6

BAILEY DB, RASSNICK KM, ERB HN, DYKES NL, HOOPES PJ, PAGE RL

Effect of glomerular filtration rate on clearance and myelotoxicity of carboplatin in cats with tumors.

Am J Vet Res. 2004; 65:1502-7

BARSANTI JA, BLUE J, EDMUNDS J

Urinary tract infection due to indwelling bladder catheters in dogs and cats.

J Am Vet Med Assoc. 1985; 187:384-8

BECKER TJ, GRAVES TK, KRUGER JM, BRASELTON WE, NACHREINER RF

Effects of methimazole on renal function in cats with hyperthyroidism.

J Am Anim Hosp Assoc. 2000; 36:215-23

BOAG AK, NEIGER R, SLATER L, STEVENS KB, HALLER M, CHURCH DB

Changes in the glomerular filtration rate of 27 cats with hyperthyroidism after treatment with radioactive iodine.

Vet Rec. 2007; 161:711-15

BOLLIGER C, WALSHAW R, KRUGER JM, ROSENSTEIN DS, RICHTER MA, HAUPTMAN JG, MAUER WA

Evaluation of the effects of nephrotomy on renal function in clinically normal cats.

Am J Vet Res. 2005; 66:1400-7

BRAUN JP, LEFEBVRE HP, WATSON ADJ

Creatinine in the Dog: A Review.

Vet Clin Pathol. 2003; 32:162-79

BRENNER BM

Brenner and Rector's : The kidney. 8th edition. Philadelphia : Saunders Elsevier
2008. Volume 1; 23:724

BROWN SA, FINCO DR, BOUDINOT FD, WRIGHT J, TAVER SI, COOPER T

Evaluation of single injection method, using iohexol, for estimating glomerular filtration rate in cats and dogs.

Am J Vet Res. 1996a; 57:105-10

BROWN SA, HABERMAN C, FINCO DR

Use of plasma clearance of inulin for estimating glomerular filtration rate in cats.

Am J Vet Res. 1996b; 57:1702-5

CRETON A

Mesure du débit de filtration glomérulaire chez le chien sain de race teckel par la clairance plasmatique de la créatinine exogène.

Thèse de médecine vétérinaire, Toulouse, 2008, 128 p

DEGUCHI E, AKUZAWA M

Renal clearance of endogenous creatinine, urea, sodium, and potassium in normal cats and cats with chronic renal failure.

J Vet Med Sci. 1997; 59: 509-12

FINCO DR, BARSANTI JA

Mechanism of urinary excretion of creatinine by the cat.

Am J Vet Res. 1982; 43:2207-9

GIBALDI M, PERRIER D

Pharmacokinetics, 2nd ed. New York : Marcel Dekker; 1982

**GRAVES TK, OLIVIER NB, NACHREINER RF, KRUGER JM, WALSHAW R,
STICKLE RL**

Changes in renal function associated with treatment of hyperthyroidism in cats.

Am J Vet Res. 1994; 55: 1745-9

HALLER M, ROHNER K, MULLER W, REUTTER F, BINDER H, ESTELBERGER W, ARNOLD P

Single-injection inulin clearance for routine measurement of glomerular filtration rate in cats.
J Feline Med Surg. 2003; 5: 175-81

HEIENE R, MOE L.

Pharmacokinetic aspects of measurement of glomerular filtration rate in the dog: a review.
J Vet Intern Med. 1998; 12:401-14

HEIENE R, REYNOLDS BS, BEXFIELD NH, LARSEN S, GERRITSEN RJ

Estimation of glomerular filtration rate via 2- and 4-sample plasma clearance of iohexol and creatinine in clinically normal cats.
Am J Vet Res. 2009; 70:176-85

KING MD, WALDRON DR, BARBER DL, LARSON MM, SAUNDERS GK, TROY GC, ZIMMERMAN-POPE N, WARD DL

Effect of nephrotomy on renal function and morphology in normal cats.
Vet Surg. 2006; 35:749-58

LE GARRERES A, LAROUTE V, DE LA FARGE F, BOUDET KG, LEFEBVRE HP

Disposition of plasma creatinine in non-azotemic and moderately azotemic cats.
J Feline Med Surg. 2007; 9:89-96

MIGAWA Y, TAKEMURA N, HIROSE H

Assessments of factor that affect glomerular filtration rate and indirect markers of renal function in dogs and cats.
J Vet Med Sci. 2010; 72:1129-36

MIYAMOTO K

Evaluation of single-injection method of inulin and creatinine as a renal function test in normal cats.
J Vet Med Sci. 1998; 60:327-32

MIYAMOTO K

Use of plasma clearance of iohexol for estimating glomerular filtration rate in cats.

Am J Vet Res. 2001a; 2:572-5

MIYAMOTO K

Use of plasma clearance of inulin in clinically normal and partially nephrectomized cats.

Am J Vet Res. 2001b; 1332-5

MIYAMOTO K

Clinical application of plasma clearance of iohexol on feline patients.

J Feline Med Surg. 2001c; 3: 143-7

OSBALDISTON GW, FUHRMAN W

The clearance of creatinine, inulin, para-aminohippurate and phenolsulphotalein in the cat.

Can J Camp Med. 1970; 34:138-41

PELLIGAND L, LEES P, ELLIOTT J

Development and validation of a timed urinary collection system for use in the cat.

Lab Anim. 2011; 45:196-203

REYNOLDS BS, BOUDET KG, GERMAIN CA, BRAUN JPD, LEFEBVRE HP

Determination of reference intervals for plasma biochemical values in clinically normal adult domestic shorthair cats by use of a dry-slide biochemical analyzer.

Am J Vet Res. 2008; 69:471-7

REYNOLDS BS, CONCORDET D, GERMAIN CA, DASTE T, BOUDET KG, LEFEBVRE HP

Breed dependency of reference intervals for plasma biochemical values in cats.

J Vet Intern Med. 2010; 24:809-18

REYNOLDS BS, GEFFRE A, BOURGES-ABELLA NH, VAUCORET S, MOUROT M, BRAUN JPD, TRUMEL C

Effects of intravenous, low-dose ketamine-diazepam sedation on the results of hematologic, plasma biochemical, and coagulation analyses in cats.

J Am Vet Med Assoc. 2012; 240:287-93

ROGERS KS, KOMKOV A, BROWN SA, LEES GE, HIGHTOWER D, RUSSO EA

Comparison of four methods of estimating glomerular filtration rate in cats.

Am J Vet Res. 1991; 52:961-4

ROSS LA, FINCO DR

Relationship of selected clinical renal function tests to glomerular filtration rate and renal blood flow in cats.

Am J Vet Res. 1981; 42:1704-10

SEGURET C

Le débit de filtration glomérulaire chez le chat : étude bibliographique.

Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Toulouse 3, 2010, 108p

SCHMIEDT CW, NELSON SA, BRAINARD BM, BROWN CA, VANDENPLAS M, HURLEY DJ

Bilateral renal ischemia as a model of acute kidney injury in cats.

Vet Sci. 2012; 93:950-9

RUSSO EA, LEES GE, HIGHTOWER D

Evaluation of renal function in cats, using quantitative urinalysis.

Am J Vet Res. 1986; 47:1308-13

URIBE D, KRAWIEC DR, TWARDOCK AR, GELBERG HB.

Quantitative renal scintigraphic determination of the glomerular filtration rate in cats with normal and abnormal kidney function, using ^{99m}Tc-diethylenetriaminepentaacetic acid.

Am J Vet Res. 1992. 53 : 1101-7

VON HENDY-WILLSON VE, PRESSIER BM

An overview of glomerular filtration rate testing in dogs and cats.

Vet J. 2011; 188:156-65

VAN HOEK I, VANDERMEULEN E, DUCHATEAU L, LEFEBVRE HP, CROUBELS S, PEREMANS K, POLIS I, DAMINET S

Comparison and reproducibility of plasma clearance of exogenous creatinine, exo-iohexol, endo-iohexol, and ⁵¹Cr-EDTA in young adult and aged healthy cats.

J Vet Intern Med. 2007; 21:950-8

VAN HOEK I, LEFEBVRE HP, PEREMANS K, MEYER E, CROUBELS S, VANDERMEULEN E, KOOISTRA, SAUNDERS JH, BINST D, DAMINET S

Short- and long-term follow-up of glomerular and tubular renal markers of kidney function in hyperthyroid cats after treatment with radioiodine.

Domest Anim Endocrin. 2009; 36:45-56

WYSS M, KADDURAH-DAOUK R

Creatine and creatinine metabolism.

Physiol Rev. 2000; 80:1107-1213

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Profil des concentrations plasmatiques du marqueur (ici, créatinine) en fonction du temps après administration intraveineuse (d'après Le Garreres et coll, 2007)	10
Figure 2 : Formule de la créatinine (Braun et coll, 2003)	16
Figure 3 : Formation de la créatinine (Wyss et Kaddurah-Daouk, 2000)	16
Figure 4: Formation de la créatine et de la créatinine (Wyss et Kaddurah-Daouk, 2000).....	17
Figure 5 : Réactions chimiques intervenant dans le dosage de la créatinine par la méthode enzymatique	18
Figure 6 : Méthode des trapèzes pour le calcul de l'AUC (d'après Creton, 2008)	33
Figure 7 : Méthode d'extrapolation de la cinétique de la créatinine exogène à l'infini à partir des dernières valeurs de la créatinine plasmatique mesurées (d'après Creton, 2008)....	34
Figure 8: Cinétique d'élimination de la créatinine exogène dans le plasma chez 6 chats sains	39
Figure 9 : Corrélation entre les clairances urinaire et plasmatique de la créatinine exogène ..	42

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Valeurs de débit de filtration glomérulaire obtenues chez le chat sain par la méthode de clairance urinaire de la créatinine endogène ou exogène.	23
Tableau 2 : Valeurs de débit de filtration glomérulaire obtenues chez le chat sain par la méthode de clairance plasmatique de la créatinine exogène. (Séguret, 2010).....	24
Tableau 3 : Plan de l'étude.....	25
Tableau 4 : Caractéristiques des chats classés selon les critères de randomisation (par âge puis par poids).....	26
Tableau 5 : Répétabilité et imprécision intra-laboratoire estimées pour deux solutions de contrôle de créatinine plasmatique mesurée par l'analyseur (Reynolds et coll (2008))	30
Tableau 6 : Répétabilité et imprécision intra-laboratoire estimées pour deux solutions de contrôle de créatinine urinaire mesurée par l'analyseur	30
Tableau 7 : Variables plasmatiques chez les 6 chats.....	36
Tableau 8 : Pourcentage de créatinine retrouvée dans le rinçage de la vessie et de la cage par rapport à la quantité totale de créatinine excrétée (Q_{total}) lors du test EX	37
Tableau 9 : Pourcentage de créatinine retrouvée dans le rinçage de la vessie et de la cage par rapport à la quantité totale de créatinine excrétée (Q_{total}) lors du test EN	37
Tableau 10 : Pourcentage de créatinine retrouvée dans chaque type de rinçage par rapport à la quantité totale de créatinine excrétée (Q_{total}) lors du test EX.....	38
Tableau 11 : Pourcentage de créatinine retrouvée dans chaque type de rinçage par rapport à la quantité totale de créatinine excrétée (Q_{total}) lors du test EN.....	38
Tableau 12: Proportion de la dose excrétée dans les urines.....	39
Tableau 13 : Paramètres pharmacocinétiques de la créatinine chez 6 chats sains	40
Tableau 14 : Production quotidienne de créatinine endogène chez 6 chats sains	40
Tableau 15 : Pourcentage de l'aire extrapolée à l'infini par rapport à l'aire sous la courbe totale chez 6 chats sains.....	41
Tableau 16 : Clairances urinaire (CUCE) et plasmatique (CPCE) de la créatinine exogène... 41	41

LISTE DES ENCADRES

Encadré 1 : Exemple de protocole de mesure de la clairance urinaire de la créatinine exogène (Miyamoto (2001a)).....	20
Encadré 2 : Exemple de protocole de mesure de clairance plasmatique de la créatinine exogène chez le chat sain (Le Garreres et coll (2007))	22

ANNEXES

ANNEXE 1 : Valeurs de la créatininémie moins la créatinine basale (Créat-créatbasale) chez 6 chats sains de en fonction des différents temps de prélèvements (min)

Chat	Temps (minutes)	Créat-créat basale ($\mu\text{mol/L}$)
A	5	799,1
	30	427,2
	60	273,8
	120	183,9
	180	144,4
	301	105,9
	480	56,1
B	6	496,4
	30	290,8
	61	189,4
	120	124,2
	180	93,6
	301	53,6
	480	23,6
C	5	632,3
	33	317,9
	60	234
	123	162,6
	180	123
	306	91,3
	481	37,8
D	5	491,6
	30	225,3
	61	146,4
	120	99,2
	180	82,5
	301	41,6
	481	13,5
E	7	534,8
	31	316,2
	64	235,3
	120	168,1
	170	142,8
	303	82,3
	482	32,4
F	5	701,7
	31	354
	60	257
	121	183
	178	151,3
	300	107,1
	470	60,7

ANNEXE 2 : Résultats de l'analyse pharmacocinétique par le logiciel WinNonLin (modèle non compartimental)

Chat A :

```

-----
Model:Plasma Data, Bolus IV Administration
Number of nonmissing observations: 7
Dose time: 0.00
Dose amount: 178.00
Calculation method: Linear Trapezoidal with Linear Interpolation
Weighting for lambda_z calculations: Uniform weighting
Lambda_z method: Find best fit for lambda_z, Log regression
    
```

Summary Table

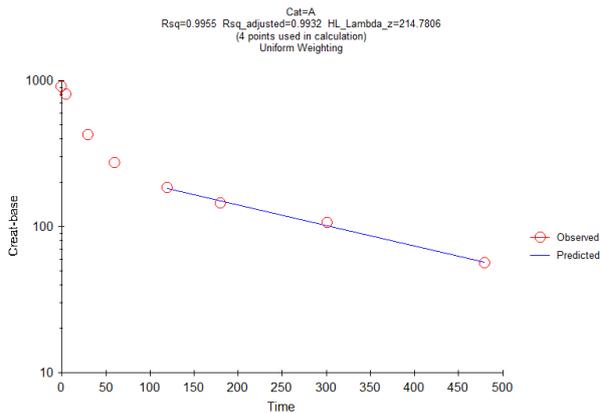
Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	905.7			0.0000	0.0000	
5.000	799.1			4262.	9989.	
30.00	427.2			1.959e+004	2.201e+005	
60.00	273.8			3.011e+004	6.588e+005	
120.0 *	183.9	182.0	1.893	4.384e+004	1.814e+006	1.000
180.0 *	144.4	150.0	-5.566	5.369e+004	3.255e+006	1.000
301.0 *	105.9	101.5	4.415	6.883e+004	6.756e+006	1.000
480.0 *	56.10	56.95	-0.8538	8.333e+004	1.202e+007	1.000

@) Note - the concentration at dose time was added for extrapolation purposes.
 *) Starred values were included in the estimation of Lambda_z.

Final Parameters

```

-----
Rsqr 0.9955
Rsqr_adjusted 0.9932
Corr_XY -0.9977
No_points_lambda_z 4
Lambda_z 0.0032
Lambda_z_lower 120.0000
Lambda_z_upper 480.0000
HL_Lambda_z 214.7806
Tmax 5.0000
Cmax 799.1000
Cmax_D 4.4893
C0 905.7224
Tlast 480.0000
Clast 56.1000
AUClast 83327.9560
AUCall 83327.9560
AUCINF_obs 100711.2629
AUCINF_D_obs 565.7936
AUC_%Extrap_obs 17.2605
AUC_%Back_Ext_obs 4.2320
Vz_obs 0.5477
Cl_obs 0.0018
AUCINF_pred 100975.8211
AUCINF_D_pred 567.2799
AUC_%Extrap_pred 17.4773
AUC_%Back_Ext_pred 4.2209
Vz_pred 0.5462
Cl_pred 0.0018
AUMClast 12019429.5000
AUMCINF_obs 25749858.1207
AUMC_%Extrap_obs 53.3223
AUMCINF_pred 25958822.8632
AUMC_%Extrap_pred 53.6981
MRTlast 144.2425
MRTINF_obs 255.6800
MRTINF_pred 257.0796
Vss_obs 0.4519
Vss_pred 0.4532
    
```



Chat B :

```

-----
Model: Plasma Data, Bolus IV Administration
Number of nonmissing observations: 7
Dose time: 0.00
Dose amount: 192.80
Calculation method: Linear Trapezoidal with Linear Interpolation
Weighting for lambda_z calculations: Uniform weighting
Lambda_z method: Find best fit for lambda_z, Log regression
  
```

Summary Table

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	567.4			0.0000	0.0000	
6.000	496.4			3191.	8935.	
30.00	290.8			1.264e+004	1.494e+005	
61.00	189.4			2.008e+004	4.637e+005	
120.0 *	124.2	123.7	0.4507	2.933e+004	1.244e+006	1.000
180.0 *	93.60	93.86	-0.2584	3.587e+004	2.197e+006	1.000
301.0 *	53.60	53.74	-0.1444	4.477e+004	4.192e+006	1.000
480.0 *	23.60	23.56	0.04272	5.168e+004	6.650e+006	1.000

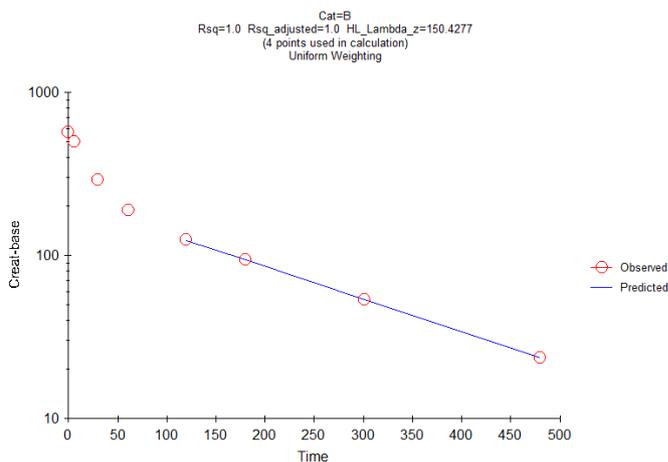
@) Note - the concentration at dose time was added for extrapolation purposes.

*) Starred values were included in the estimation of Lambda_z.

Final Parameters

```

-----
Rsqr 1.0000
Rsqr_adjusted 1.0000
Corr_XY -1.0000
No_points_lambda_z 4
Lambda_z 0.0046
Lambda_z_lower 120.0000
Lambda_z_upper 480.0000
HL_Lambda_z 150.4277
Tmax 6.0000
Cmax 496.4000
Cmax_D 2.5747
C0 567.4023
Tlast 480.0000
Clast 23.6000
AUClast 51681.1070
AUCall 51681.1070
AUCINF_obs 56802.8100
AUCINF_D_obs 294.6204
AUC_%Extrap_obs 9.0166
AUC_%Back_Ext_obs 5.6184
Vz_obs 0.7366
Cl_obs 0.0034
AUCINF_pred 56793.5388
AUCINF_D_pred 294.5723
AUC_%Extrap_pred 9.0018
AUC_%Back_Ext_pred 5.6193
Vz_pred 0.7367
Cl_pred 0.0034
AUMClast 6649917.0000
AUMCINF_obs 10219853.1411
AUMC_%Extrap_obs 34.9314
AUMCINF_pred 10213390.9346
AUMC_%Extrap_pred 34.8902
MRTlast 128.6721
MRTINF_obs 179.9181
MRTINF_pred 179.8337
Vss_obs 0.6107
Vss_pred 0.6105
  
```



Chat C :

Settings

```

-----
Model: Plasma Data, Bolus IV Administration
Number of nonmissing observations: 7
Dose time: 0.00
Dose amount: 183.00
Calculation method: Linear Trapezoidal with Linear Interpolation
Weighting for lambda_z calculations: Uniform weighting
Lambda_z method: Find best fit for lambda_z, Log regression
  
```

Summary Table

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	714.9			0.0000	0.0000	
5.000	632.3			3368.	7904.	
33.00	317.9			1.667e+004	1.990e+005	
60.00 *	234.0	221.1	12.91	2.412e+004	5.302e+005	1.000
123.0 *	162.6	170.7	-8.127	3.661e+004	1.602e+006	1.000
180.0 *	123.0	135.1	-12.12	4.475e+004	2.803e+006	1.000
306.0 *	91.30	80.58	10.72	5.825e+004	5.958e+006	1.000
481.0 *	37.80	39.30	-1.499	6.955e+004	9.994e+006	1.000

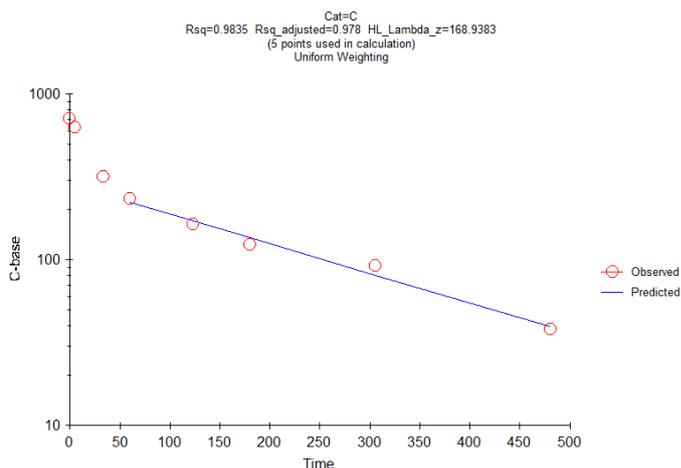
@) Note - the concentration at dose time was added for extrapolation purposes.

*) Starred values were included in the estimation of Lambda_z.

Final Parameters

```

-----
Rsqr 0.9835
Rsqr_adjusted 0.9780
Corr_XY -0.9917
No_points_lambda_z 5
Lambda_z 0.0041
Lambda_z_lower 60.0000
Lambda_z_upper 481.0000
HL_Lambda_z 168.9383
Tmax 5.0000
Cmax 632.3000
Cmax_D 3.4552
C0 714.9085
Tlast 481.0000
Clast 37.8000
AUClast 69551.1212
AUCall 69551.1212
AUCINF_obs 78763.9797
AUCINF_D_obs 430.4043
AUC_%Extrap_obs 11.6968
AUC_%Back_Ext_obs 4.2761
Vz_obs 0.5663
Cl_obs 0.0023
AUCINF_pred 79129.4157
AUCINF_D_pred 432.4012
AUC_%Extrap_pred 12.1046
AUC_%Back_Ext_pred 4.2563
Vz_pred 0.5637
Cl_pred 0.0023
AUMClast 9993803.4000
AUMCINF_obs 16670605.3225
AUMC_%Extrap_obs 40.0513
AUMCINF_pred 16935446.4255
AUMC_%Extrap_pred 40.9888
MRTlast 143.6900
MRTINF_obs 211.6527
MRTINF_pred 214.0221
Vss_obs 0.4918
Vss_pred 0.4950
  
```



Chat D :

Settings

 Model: Plasma Data, Bolus IV Administration
 Number of nonmissing observations: 7
 Dose time: 0.00
 Dose amount: 184.70
 Calculation method: Linear Trapezoidal with Linear Interpolation
 Weighting for lambda_z calculations: Uniform weighting
 Lambda_z method: Find best fit for lambda_z, Log regression

Summary Table

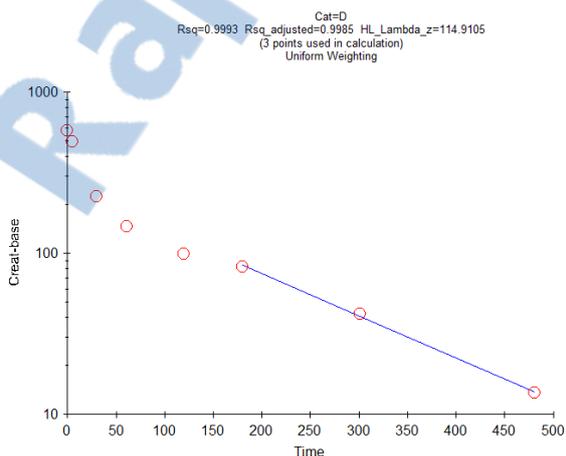
Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	574.6			0.0000	0.0000	
5.000	491.6			2666.	6145.	
30.00	225.3			1.163e+004	1.214e+005	
61.00	146.4			1.739e+004	3.645e+005	
120.0	99.20			2.463e+004	9.792e+005	
180.0 *	82.50	83.91	-1.407	3.008e+004	1.782e+006	1.000
301.0 *	41.60	40.44	1.160	3.759e+004	3.438e+006	1.000
481.0 *	13.50	13.65	-0.1543	4.255e+004	5.149e+006	1.000

@) Note - the concentration at dose time was added for extrapolation purposes.

*) Starred values were included in the estimation of Lambda_z.

Final Parameters

Rsq 0.9993	AUC_%Back_Ext_obs 5.9513
Rsq_adjusted 0.9985	Vz_obs 0.6836
Corr_XY -0.9996	Cl_obs 0.0041
No_points_lambda_z 3	AUCINF_pred 44815.0271
Lambda_z 0.0060	AUCINF_D_pred 242.6369
Lambda_z_lower 180.0000	AUC_%Extrap_pred 5.0510
Lambda_z_upper 481.0000	AUC_%Back_Ext_pred 5.9479
HL_Lambda_z 114.9105	Vz_pred 0.6832
Tmax 5.0000	Cl_pred 0.0041
Cmax 491.6000	AUMClast 5149118.8000
Cmax_D 2.6616	AUMCINF_obs 6596640.5614
C0 574.6217	AUMC_%Extrap_obs 21.9433
Tlast 481.0000	AUMCINF_pred 6613186.6372
Clast 13.5000	AUMC_%Extrap_pred 22.1386
AUClast 42551.4042	MRTlast 121.0094
AUCall 42551.4042	MRTINF_obs 147.2811
AUCINF_obs 44789.4449	MRTINF_pred 147.5663
AUCINF_D_obs 242.4983	Vss_obs 0.6073
AUC_%Extrap_obs 4.9968	Vss_pred 0.6082



Chat E :

Settings

```

-----
Model: Plasma Data, Bolus IV Administration
Number of nonmissing observations: 7
Dose time: 0.00
Dose amount: 184.40
Calculation method: Linear Trapezoidal with Linear Interpolation
Weighting for lambda_z calculations: Uniform weighting
Lambda_z method: Find best fit for lambda_z, Log regression
  
```

Summary Table

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	623.4			0.0000	0.0000	
7.000	534.8			4054.	1.310e+004	
31.00	316.2			1.427e+004	1.757e+005	
64.00 *	235.3	231.4	3.925	2.337e+004	5.859e+005	1.000
120.0 *	168.1	178.6	-10.52	3.466e+004	1.572e+006	1.000
170.0 *	142.8	141.8	1.033	4.243e+004	2.684e+006	1.000
303.0 *	82.30	76.67	5.626	5.740e+004	5.956e+006	1.000
482.0 *	32.40	33.53	-1.127	6.767e+004	9.586e+006	1.000

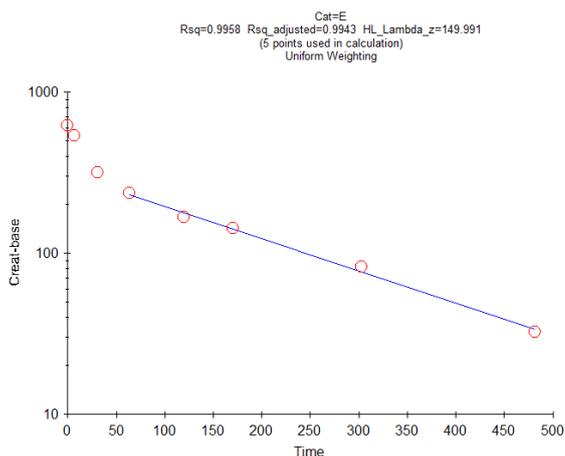
@) Note - the concentration at dose time was added for extrapolation purposes.

*) Starred values were included in the estimation of Lambda_z.

Final Parameters

```

-----
Rsqr 0.9958
Rsqr_adjusted 0.9943
Corr_XY -0.9979
No_points_lambda_z 5
Lambda_z 0.0046
Lambda_z_lower 64.0000
Lambda_z_upper 482.0000
HL_Lambda_z 149.9910
Tmax 7.0000
Cmax 534.8000
Cmax_D 2.9002
C0 623.3879
Tlast 482.0000
Clast 32.4000
AUClast 67667.9075
AUCall 67667.9075
AUCINF_obs 74678.9863
AUCINF_D_obs 404.9837
AUC_%Extrap_obs 9.3883
AUC_%Back_Ext_obs 5.4281
Vz_obs 0.5343
Cl_obs 0.0025
AUCINF_pred 74922.8902
AUCINF_D_pred 406.3063
AUC_%Extrap_pred 9.6833
AUC_%Back_Ext_pred 5.4104
Vz_pred 0.5326
Cl_pred 0.0025
AUMClast 9585752.9000
AUMCINF_obs 14482229.4770
AUMC_%Extrap_obs 33.8102
AUMCINF_pred 14652569.8546
AUMC_%Extrap_pred 34.5797
MRTlast 141.6588
MRTINF_obs 193.9264
MRTINF_pred 195.5687
Vss_obs 0.4789
Vss_pred 0.4813
  
```



Chat F :

Settings

 Model: Plasma Data, Bolus IV Administration
 Number of nonmissing observations: 7
 Dose time: 0.00
 Dose amount: 170.00
 Calculation method: Linear Trapezoidal with Linear Interpolation
 Weighting for lambda_z calculations: Uniform weighting
 Lambda_z method: Find best fit for lambda_z, Log regression

Summary Table

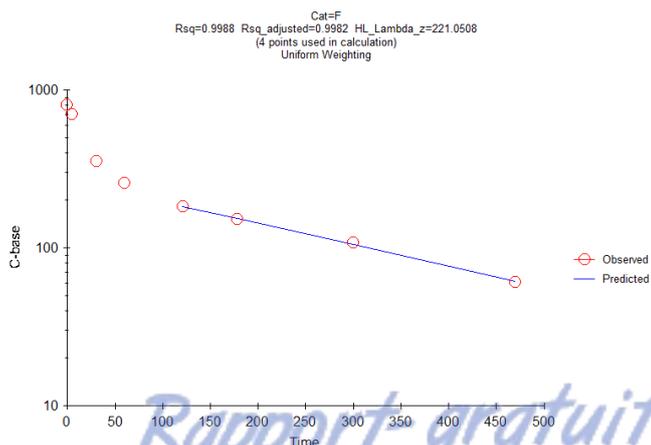
Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	800.4			0.0000	0.0000	
5.000	701.7			3755.	8771.	
31.00	354.0			1.748e+004	1.970e+005	
60.00	257.0			2.634e+004	5.798e+005	
121.0 *	183.0	183.2	-0.2240	3.976e+004	1.725e+006	1.000
178.0 *	151.3	153.2	-1.935	4.929e+004	3.124e+006	1.000
300.0 *	107.1	104.5	2.576	6.505e+004	6.727e+006	1.000
470.0 *	60.70	61.34	-0.6351	7.931e+004	1.188e+007	1.000

@) Note - the concentration at dose time was added for extrapolation purposes.

*) Starred values were included in the estimation of Lambda_z.

Final Parameters

Rsq 0.9988	AUC_%Back_Ext_obs 3.8058
Rsq_adjusted 0.9982	Vz_obs 0.5495
Corr_XY -0.9994	Cl_obs 0.0017
No_points_lambda_z 4	AUCINF_pred 98872.0710
Lambda_z 0.0031	AUCINF_D_pred 581.6004
Lambda_z_lower 121.0000	AUC_%Extrap_pred 19.7835
Lambda_z_upper 470.0000	AUC_%Back_Ext_pred 3.7980
HL_Lambda_z 221.0508	Vz_pred 0.5483
Tmax 5.0000	Cl_pred 0.0017
Cmax 701.7000	AUMClast 11882809.0500
Cmax_D 4.1276	AUMCINF_obs 27154329.0352
C0 800.3784	AUMC_%Extrap_obs 56.2397
Tlast 470.0000	AUMCINF_pred 27314124.3088
Clast 60.7000	AUMC_%Extrap_pred 56.4957
AUClast 79311.7460	MRTlast 149.8241
AUCall 79311.7460	MRTINF_obs 275.2048
AUCINF_obs 98669.5187	MRTINF_pred 276.2572
AUCINF_D_obs 580.4089	Vss_obs 0.4742
AUC_%Extrap_obs 19.6188	Vss_pred 0.4750



Annexe 3 : Prise de boisson et de nourriture des six chats pendant chaque période d'étude de 24 h

Les quantités d'eau et de nourriture ingérées pour les deux périodes sont présentées dans les tableaux suivants.

Période 1 :

Chat	Eau (ml)	Nourriture (g)
A	63	26
B	63	31
C	11	18
D	122	20
E	94	19
F	77	30

Période 2 :

Chat	Eau l(ml)	Nourriture (g)
A	89	21
B	12	18
C	95	28
D	51	18
E	62	18
F	61	30

Nom : MASSAL

Prénom : Marc

Titre : COMPARAISON DE LA CLAIRANCE URINAIRE ET PLASMATIQUE DE LA CREATININE EXOGENE CHEZ LE CHAT SAIN

Résumé :

La clairance urinaire de la créatinine exogène (CUCE) est considérée comme un bon outil pour estimer le débit de filtration glomérulaire (DFG) chez le chat. Cependant cette méthode présente de nombreux inconvénients. Le but de cette étude est de comparer la clairance plasmatique de la créatinine exogène (CPCE), précédemment rapportée comme une méthode alternative, avec la CUCE.

Six chats sains (6-11 ans, 3.2-4.5 kg) ont été placés dans des cages à métabolisme. La quantité totale d'urine émise en 24h a été collectée. La vessie a été vidée avant et à nouveau 24 h plus tard. La vessie a été également rincée avec une solution NaCl 0.9 %, tout comme la cage à métabolisme. Les solutions de rinçages ont été récupérées pour doser la créatinine. La créatinine exogène (20 mg/kg) a été administrée par voie intraveineuse sous forme de bolus. Le sang a été prélevé avant et 5, 30 min, et 1, 2, 3, 5, 8 et 24 h après l'administration de créatinine. La créatinine a été dosée par méthode enzymatique. L'analyse pharmacocinétique a été effectuée par une approche non compartimentale. Les données ont été comparées par ANOVA. Les résultats sont exprimés sous la forme moyenne±écart-type.

La proportion de créatinine retrouvée dans les rinçages de vessie et de cage était de 6.5±5.6% (2-18%) de la créatinine totale excrétée dans les urines. La CUCE (2.2±0.9 ml/min/kg) était 15% plus faible (p<0.01) que la CPCE (2.6±0.9 ml/min/kg) mais les deux méthodes étaient fortement corrélées (R²=0.97).

En conclusion, la CPCE apparaît être une alternative valable et pratique à la CUCE chez le chat sain.

Mots clés : Débit de filtration glomérulaire – chat – créatinine – clairance urinaire – clairance plasmatique

Title: COMPARISON OF PLASMA AND URINARY CLEARANCE OF EXOGENOUS CREATININE IN HEALTHY CATS.

Abstract :

Urinary exogenous creatinine clearance (UECC) is considered as a good assessment of glomerular filtration rate (GFR) in cats, but is tedious and time-consuming. The purpose of this study is to compare plasma exogenous creatinine clearance (PECC), previously reported as an alternative method, with UECC.

Six healthy cats (6-11 years, 3.2-4.5 kg) were placed in metabolism cages. All urine voided for 24 hours was collected. The bladder was emptied before and again 24 hours later. The emptied bladder and the cage were also rinsed with saline, and the rinsing water was collected for creatinine measurement. Exogenous creatinine (20 mg/kg) was administered by IV bolus. Blood was sampled before and then 5, 30 min, and 1, 2, 3, 5, 8 and 24 h after exogenous creatinine administration. Creatinine was assayed using an enzymatic method. Pharmacokinetic analysis was performed using a non compartmental approach. Data were compared by ANOVA. Results are expressed as mean±SD.

The proportion of creatinine recovered by rinsing the bladder and the cage was 6.5±5.6% (range: 2-18%) of the total amount of creatinine excreted in urine. The UECC (2.2±0.9 ml/min/kg) was 15%-lower (P<0.01) than PECC (2.6±0.9 ml/min/kg), but the two assessments were strongly correlated (r²=0.97, P=0.001).

In conclusion, PECC appears to be an acceptable and practicable alternative to UECC in cats.

Key words: Glomerular filtration rate – cat – creatinine – urinary clearance – plasma clearance