



Hur påverkas utsöndringen av kemiska ämnen till urinen vid kronisk njursjukdom.

Agria och SKK-anslag N2020-0017

Ansvarig forskare: Inger Lilliehöök

Vi tackar för generöst anslag till våra studier om diagnostiska urinmarkörer vid kronisk njursjukdom hos hund och lämnar här vetenskaplig slutrapport.

Populärvetenskaplig sammanfattning:

Kronisk njursjukdom är vanligt hos hundar. Det är viktigt att kunna ställa diagnos och bedöma omfattningen av hundens njursjukdom. Detta görs vanligtvis med hjälp av blodprover, urinprover och ultraljudsundersökning av njurarna.

Analys av urinens koncentration och proteininnehåll har länge varit en viktig del vid diagnos av kronisk njursjukdom hos hund. I denna studie ville vi undersöka hur utsöndringen av flera ämnen i urin förändras hos hundar med kronisk njursjukdom och om det finns fler biokemiska ämnen i urin som kan vara värdefulla för diagnos och bedömning av kronisk njursjukdom. Därför undersökte vi elva biokemiska ämnen i urin hos hundar med kronisk njursjukdom och jämförde resultaten med prover från friska hundar. Hos hundarna med måttlig till kraftig kronisk njursjukdom sågs onormalt hög utsöndring av ämnen som natrium, kalium, klorid, kalcium, protein och cystatin C till urinen, vilket indikerar allvarligt rubbad reglering av dessa metaboliter i njurarna.

Hos hundarna med lindrig njursjukdom sågs stegring av cystatin C och GGT i urinen hos 29 % respektive 19 % av hundarna, vilket indikerar skador i njurtubuli. Resultaten visar att analys av vissa av de studerade ämnena i urinprov kan ge klinisk vägledning om omfattningen av skadorna i njurarna och njurfunktion hos hundar med kronisk njursjukdom.

Inledning, bakgrund, syfte och frågeställning

Det är viktigt att ställa rätt diagnos på ett sjukt djur för att kunna gradera skadan, bedöma prognos och välja behandling. Därför finns behov att hitta bra diagnostiska analyser. Urin är ett lättillgängligt provmaterial och analys av urinens koncentration (densitet) och proteininnehåll har länge varit en viktig del vid diagnos av kronisk njursjukdom hos hund (Grauer 2005). Vi har i denna studie undersökt om analys av fler kemiska ämnen i urin kan ge värdefull information hos hundar med kronisk njursjukdom. Kronisk njursjukdom hos hundar definieras som bristande funktion eller strukturell skada på en eller båda njurarna med en varaktighet på mer än 3 månader (Polzin, 2011). Kronisk njursjukdom graderas i fyra steg (1-4) enligt riktlinjer från IRIS, Internationell Renal Interest Society.

Många ämnen som kroppen vill göra sig av med utsöndras via urinen. Detta sker via aktiv eller passiv utsöndring i njurarna. De flesta ämnen filtreras ut via glomeruli i njuren (varav vissa återresorberas helt eller delvis i njur-tubuli) medan andra utsöndras i njurtubuli till urinen. Vid kronisk njursjukdom minskar njurarnas förmåga att utsöndra många ämnen och koncentrationen stiger därför i blodet, som till exempel kreatinin, urea, SDMA, cystatin C och fosfat (Pressler 2013, Pelander et al. 2019). Andra ämnen läcker ut i urinen i större omfattning vid bristande njurfunktion, vilket resulterar i lägre nivåer i blodet och högre i urin, som t.ex. albumin. Genom analys av olika ämnen i urinen kan vi få ledtrådar till vilken del av njuren som är skadad (Nabity & Hokamp, 2023).

Fraktionerad utsöndring (FE) är en uppskattning av kroppens utsöndring av ett ämne i procent. Fraktionerad utsöndring beräknas utifrån koncentrationen av ämnet i fråga och kreatinin i både blodet och i urinen. Det finns studier från människor med akut njurskada där man visat att fraktionerad utsöndring av natrium (FE-Na) och urea (FE-urea) är lägre vid reversibla njurskador jämfört med de som har fått en mer persisterande njurskada (Lima et al. 2018). FE-Na har visats vara dels en indikator för påvisande av akut njursvikt hos hundar med värmeslag (Segev et al. 2015) och prognostisk indikator hos hundar med akut njursvikt (Brown 2015). I en publicerad artikel visades att fraktionerad utsöndring av flera olika ämnen (elektrolyter, mineraler, protein och glukos) skiljde sig mellan olika typer av akut njurskada hos hund och även hade betydelse för prognosen (Troia et al. 2018). Fraktionerad utsöndring av elektrolyter (FE-NA, FE-K, FE-Cl) var högre hos hundar med långt gången kronisk njursjukdom jämfört med mindre allvarlig njursjukdom (Buranakarl et al. 2007). Även fraktionerad utsöndring av fosfat (FE-P) ökar med allvarlighetsgrad av kronisk njursjukdom (Martonelli et al. 2017).

Vid skada på njurtubuliepitelcellerna sker minskat återupptag av ämnen som cystatin C, glukos, natrium, urea och albumin, vilket leder till ökade mängder av dessa ämnen i urinen (Sasaki et al. 2014). Cystatin C i urinen är en lovande

urinmarkör för skada som orsakat minskad funktion hos proximala njurtubuliceller. Tubuliepitelcellerna i proximala tubuli ska ta upp allt cystatin C i urinen (Grubb 2001, Kaseda et al. 2007), så normalt finns väldigt låg koncentration av cystatin C i urin hos hund (Damm 2020). Det finns experimentella studier på hund som har påvisat förhöjd koncentration av cystatin C i urinen efter tubuliskada orsakats av olika läkemedel med känd njurtubulitoxisk effekt (Sasaki et al. 2014, Gu et al. 2018). Även hos hundar med kronisk njursjukdom som leder till skador och tillbakabildning av nefronerna sågs förhöjda koncentrationer av cystatin C i urinen (Monti et al. 2012). Vid aktiva skador på njurtubuliepitelcellerna är det vanligt med förhöjd koncentration av enzymer som alkalisk fosfatase (ALP) och γ -glutamyl transferas (GGT) i urinen, orsakat av ökad lokal produktion av dessa enzymer (Heine et al. 2001, Ibba et al. 2016).

Det finns studier som visar att ämnen som NGAL, NAG, KIM-1, interleukin-18, mfl stiger vid njurskada (Waldrop 2008, Pressler 2013), men för dessa markörer finns i dagsläget inga lättillgängliga analysmetoder. Därför valde vi att fokusera på biokemiska ämnen som rutinmässigt analyseras i blodprover eftersom de ämnena är tillgängliga för klinisk diagnostik.

Syftet med studien var att undersöka hur koncentrationen av flera ämnen i urinen (natrium, kalium, klorider, kalcium, glukos, protein, kreatinin, cystatin C, GGT, densitet och osmolalitet) förändras hos hundar med kronisk njursjukdom för att öka kunskapen om patogenesen vid kronisk njursjukdom, men även bidra till en förbättrad diagnostik vid sjukdomstillstånd i njurarna hos hund. Den kliniska frågeställningen var om några av de undersökta urinanalyserna kan ge viktig klinisk information hos hundar med kronisk njursjukdom.

Material och metoder

Studien bestod av blod och urinprover från 50 hundar med kronisk njursjukdom i olika allvarlighetsgrad (IRIS gradering 1-4), 38 hundar med ökad törst (polydipsi) med misstänkt njursjukdom (men som inte kunde bekräftas med dagens rutindiagnostik), 12 hundar med polydipsi av annan orsak än njursjukdom, och 30 friska kontrollhundar.

Urinkoncentrationen av natrium, kalium, klorider, kalcium, glukos, protein, kreatinin, cystatin C, GGT och densitet analyserades vid Klinisk kemiska laboratoriet, UDS vid ett analystillfälle i april 2021. Osmolalitet i urin analyseras på laboratoriet vid kliniska vetenskaper, SLU.

Utifrån koncentrationen av dessa ämnen i urinen gjordes justering för varierande urinkoncentration genom att beräkna urinkreatininkvot och fraktionell utsöndring

(FE) av de respektive ämnena. Fraktionerad utsöndring är en uppskattning av kroppens utsöndring av ett ämne i procent och beräknas utifrån koncentrationen av både kreatinin och ämnet i fråga i både blod och i urin. För många av hundarna fanns redan blodprovresultat. I de fall de saknades kompletteringsanalyserades blodprov.

Resultat

I studien undersöktes skillnader av olika biokemiska ämnen i urin hos hundar med fastställd kronisk njursjukdom, friska hundar, hundar med ökad törst orsakad av andra sjukdomar än njursjukdom (diabetes, hyperadrenokorticism, m.fl), samt en grupp hundar med ökad törst där det fanns misstanke om kronisk njursjukdom i tidigt stadie.

Resultaten visar att hundarna med måttlig till kraftig kronisk njursjukdom (IRIS 3-4) ofta har allvarligt rubbad utsöndring av metaboliter till urinen. De hade onormalt hög utsöndring (fraktionell utsöndring) av elektrolyter (natrium, kalium, klorid, kalcium) till urinen. Dessa hundar hade även hög koncentration av cystatin C i urinen som talar för skador eller tillbakabildning på epitelcellerna i övre delen av njurtubuli, även urinprotein/kreatininkvoten var hög.

Hos hundarna med lindrig kronisk njursjukdom (IRIS 1-2) sågs förhöjt FE av elektrolyter endast hos vissa individer. Stegring av U-cystatin C hos 29 % och U-GGT hos 19 % av hundarna i denna grupp.

Resultaten visar att njursjukdom leder till successivt försämrad förmåga att reglera utsöndringen av livsviktiga elektrolyter/mineraler och att analys av vissa av dessa ämnen i urinprov har potential att ge klinisk vägledning om njurfunktion, omfattning av skadorna i njurarna och prognos vid kronisk njursjukdom, vilket ha betydelse för val av behandlingsstrategi.

Diskussion med slutsatser och praktisk nytta

Kronisk njursjukdom hos hund förekommer i olika svårighetsgrad och ofta förvärras njurskadorna över tid. Hos hundarna med njursjukdom i denna studie sågs förhöjd fraktionell utsöndring av elektrolyter (Na, K, Cl, Ca). Fraktionell utsöndring (FE) kan förenklat beskrivas som hur stor andel (%) av ett ämne som utsöndras till urinen. Förhöjt FE av elektrolyter och mineraler hos hundar med måttlig till allvarlig njursjukdom talar för att njurens livsviktiga reglering av elektrolyter och mineraler inte längre fungerar. Dessa resultat stämmer överens med en tidigare studie som visat förhöjd FE hos elektrolyter (Buranakarl et al. 2007) och en studie som beskrivit förhöjt FE av fosfat hos hundar med kraftig

kronisk njursjukdom (Martonelli et al. 2017). Hos hundar med lindrig njurskada eller misstänkt njurskada i vår studie sågs endast enstaka hundar med förhöjt FE för elektrolyter/mineraler varför just dessa variabler inte verkar vara bra markörer för tidig kronisk njursjukdom.

Cystatin C är ett ämne som återresorberas i njurens tubuli vid normal njurfunktion (Grubb, 2001). Ökad förekomst av cystatin C i urin kan tala för skador eller tillbakabildning av epitelcellerna i njurtubuli, vilket indikerar att hunden har skador i njurtubuli. Alla hundarna med måttlig-kraftig kronisk njursjukdom i vår studie hade förhöjda nivåer av cystatin C i urinen, vilket stämmer överens med en tidigare studie av hundar med kronisk njursjukdom (Monti et al. 2012). Fördelen med cystatin C i urin jämfört med urinprotein är att cystatin C inte ökar vid andra sjukdomar i urinvägarna som t.ex. urinvägsinfektioner, urinsten. Ökade nivåer hos enzymet GGT som produceras av njurtubuliepitelceller vid skador i tubuli, sågs främst hos vissa hundar med lindrig njursjukdom och kan då indikera aktiv pågående njurtubuliskada (Nabity & Hokamp, 2023).

Detta innebär att olika urinmarkörer är påverkade vid olika typer och stadier av njursjukdom, så en kombination av flera analyser kan vara till nytta i det diagnostiska arbetet. Studiens slutsats är att analys av vissa av dessa ämnen i urinprov kan ge utökad klinisk information om njurfunktion, omfattning av skadorna i njurarna och prognos vid kronisk njursjukdom. Vi planerar att sätta upp en analyspanel med några av dessa urinmarkörer som kan vara värdefulla som kompletterande diagnostiska markörer vid njurskador.

Personer som deltog i projektet

Inger Lilliehöök, professor vid institutionen för kliniska vetenskaper, SLU.

Anna Selin, doktorand vid institutionen för kliniska vetenskaper, SLU och AniCura, Stockholm.

Lena Pelander, adjunkt vid institutionen för kliniska vetenskaper, SLU.

Emma Strage, klinikveterinär och forskare vid institutionen för kliniska vetenskaper, SLU.

Anders Larsson, professor vid institutionen för medicinska vetenskaper (klinisk kemi) vid Uppsala Universitet.

Litteraturlista

- *Brown N, Segev G, Francey T et al. Glomerular filtration rate, urine production and fractional clearance of electrolytes in acute kidney injury in dogs and their association with survival. J Vet Intern Med 2015;29:28-34.*
- *Buranakarl C, Ankanaporn K, Trisiriroj M et al. Relationship between degree of azotaemia and bloodpressure, urinary protein:creatinine ration and fractional excretion of electrolytes in dogs with renal azotemia. Vet Res Com 2007;31:245-257.*
- *Damm E. Koncentration av kemiska metaboliter i urin hos friska hundar. (Examensarbete, Avancerad nivå, A2E). Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet.2020.*
- *Grauer GF. Early detection of renal damage and disease in dogs and cats. Vet Clin North Am Small Animal Practice 2005;35(3):581-96.*
- *Gu Y, Vlasakova K, Troth S, et al. Performance Assessment of New Urinary Translational Safety Biomarkers of Drug-induced Renal Tubular Injury in Tenofovir-treated Cynomolgus Monkeys and Beagle Dogs. Toxicol Pathol 2018 Jul;46(5):553-563.*
- *Grubb AO. Cystatin C – properties and use as diagnostic marker. Advances in clinical chemistry 2001;35:63-99.*
- *Heiene R, Moe L, MØlmen G. Calculation of urinary enzyme excretion, with renal structure and function in dogs with pyometra. Res Vet Sci 2001;70:129-137.*
- *Ibba F, Mangiagalli G, Paltrinieri S. Urinary gamma-glutamyl transferas (GGT) as a marker of tubular proteinuria in dogs with canine leishmaniasis, using sodium dodecylsulphate (SDS) electrophoresis as a reference method. Vet J 2016;210:89-91.*
- *Kaseda R, Iino N, Hosojima M, et al. Megalin-mediated endocytosis of cystatin C in proximal tubule cells. Biochem Biophys Res Com, 2007;357:1130-1134.*
- *Lima C, Macedo E. Urinary biochemistry in the diagnosis of acute kidney injury. Disease markers 2018; article ID 4907024, 7 pages.*
- *Martonelli CR, Kogika MM, Chacar FC et al. Urinary fractional excretion of phosphorus in dogs with spontaneous chronic kidney disease. Vet sci 2017;4(67).*
- *Monti P, Benchekroun G, Berlato D, Archer J. Initial evaluation of canine urinary cystatin C as a marker of renal tubular function. J Small Anim Pract 2012;53:254-259.*
- *Nabity MB, Hokamp J. Urinary Biomarkers of Kidney Disease in Dogs and Cats. Vet Clin Small Anim 2023;53:53–71.*
- *Pelander, L., Häggström, J., Larsson, et al. Comparison of the diagnostic value of symmetric dimethylarginine, cystatin C, and creatinine for detection of decreased glomerular filtration rate in dogs. Journal of Veterinary Internal Medicine, 2019;33 (2): 630–639.*
- *Polzin DJ. Chronic kidney disease in small animals. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2011;41(1):15-30.*
- *Pressler BM. Clinical approach to advanced renal function testing in dogs and cats. Vet Clin Small Anim. 2013;43:1193-1208.*
- *Sasaki A, Sasaki Y, Iwama R et al. Comparison of renal biomarkers with glomerular filtration rate in susceptibility to detection of gentamicin-induced cute kidney injury in dogs. J Comp Path 2014;151:264-270.*
- *Segev G, Daminet S, Meyer E et al. Characterization of kidney damage using several renal biomarkers in dogs with naturally occurring heatstroke. Vet J 2015;206:231-235.*
- *Stockham SL, Scott MA. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. Wiley-Blackwell 2008, s 416-494.*

- *Troia R, Guarin M, Grisetti C et al. Fractional excretion of electrolytes in volume-responsive and intrinsic acute kidney injury in dogs: Diagnostic and prognostic implications. J Vet Intern Med 2018;32:1372-1382.*
- *Waldrop JE. Urinary electrolytes, solutes and osmolality. Vet Clin Small Anim 2008;38:503-512.*