

40204

6608-2003-0



ECOLE
NATIONALE
VÉTÉRINAIRE
TOULOUSE

ANNEE 2003 THESE : 2003 - TOU 3 - 4

LA FONCTION RENALE DU CHIOT ET DU CHIEN ÂGE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2003
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Laurent, Michel ROCHE

Né, le 18 avril 1974 à MONTFAVET D'AVIGNON (Vaucluse)

Directeur de thèse : M. le Professeur Hervé LEFEBVRE

JURY

PRESIDENT :
M. Jacques POURRAT

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. Hervé LEFEBVRE
M. Alain REGNIER

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRES INVITES :
Mme Valérie CHETBOUL
Mlle Valérie LAROUTE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Ingénieur de Recherches

LA FONCTION RENALE DU CHIOT ET DU
ÂGE
6608-2003-094



Partie 2/2

PARTIE EXPERIMENTALE

I. MATERIEL ET METHODES

A. Les animaux

Un premier groupe d'animaux est constitué de 10 chiots beagles mâles âgés de 65 à 68 jours et pesant 3.0 ± 0.63 kg. Le deuxième groupe est constitué de 10 Beagles femelles âgées de 6 à 9 ans et pesant 13.6 ± 2.5 kg. Ces animaux étaient auparavant des reproducteurs.

Avant le début de l'étude, tous les animaux sont acclimatés aux conditions expérimentales. D'autre part, des examens cliniques et biochimiques plasmatiques et urinaires ont été réalisés afin de vérifier la bonne santé des animaux. Les chiens sont hébergés dans des cages en accord avec les directives nationales et européennes sur l'expérimentation animale.

Les animaux sont nourris une fois par jour avec des aliments spécifiques industriels (chiens âgés : 400 g/jour, Harlan Teklad Dog Breeder Diet, Harlan Gannat, France ; chiots : 450 g/jour, Medium Breed Puppy, Royal Canin, Aimargue, France). Les jours d'évaluation du DFG et du DPR les chiens sont maintenus à jeun et ne sont nourris qu'après la dernière prise de sang des cinétiques d'iohexol et de p-aminohippuric acid (PAH). De l'eau courante est disponible à volonté pour la boisson.

B. Collecte des urines

Après la période d'acclimatation, les animaux sont placés pendant 4 jours consécutifs dans des cages à métabolisme afin d'évaluer leur diurèse sur 24 heures. Seuls les deux derniers jours de collecte sont pris en compte pour les analyses d'urine. Toutes les urines sont collectées au moins deux fois par jour et maintenues à une température de 4°C. Pour chaque chien, tous les matins, les urines de 24 heures sont mélangées afin de les peser et d'en déterminer la densité. Deux aliquots de 4 mL d'urine sont centrifugés (1000 g, 10 min, 4°C) et maintenus à -20°C jusqu'aux analyses. Des prélèvements à la veine jugulaire permettent de récolter 5 mL de sang avant et après la période de collecte des urines.

C. Etude pharmacocinétique de l'iohexol et du PAH

Les études pharmacocinétiques de l'iohexol et du PAH sont réalisées 3 à 7 jours après le dernier jour de collecte des urines. Le protocole utilisé est celui décrit dans l'étude de Laroute et col. (1999). Une solution d'iohexol du commerce est utilisée (Omnipaque 300, Nycomed Imaging AS, Oslo, Norvège). L'iohexol existe sous plusieurs formes isomères. Deux stéréo-isomères sont identifiés dans cette étude : l'exo-iohexol (le plus important quantitativement) et l'endo-iohexol.

La solution de PAH est préparée juste avant l'administration. Une quantité suffisante de PAH (Sigma, Saint Quentin Fallavier, France) est dissoute dans une solution stérile de NaCl à 0,9% afin d'obtenir une concentration finale de 100 mg/mL. Les doses nominales d'iohexol et de PAH sont, respectivement, de 64.7 et 10 mg/kg.

L'iohexol et le PAH sont administrés successivement en moins de 20 secondes par un cathéter inséré dans la veine céphalique droite de chaque chien. Des échantillons de 1mL de sang sont prélevés à 0 (juste avant l'administration), 2, 5, 10, 20, 30 minutes et 1, 1.5, 2, 3.5 et 6 heures chez les chiens âgés et à 0, 2, 10, 30 minutes, 1, 2, 3 heures chez les chiots. Le sang est collecté dans des tubes héparinés puis centrifugé (1000 g pendant 10 min). Deux aliquots de plasma de chaque échantillon sont maintenus à une température de -20°C jusqu'à l'analyse.

D. Analyses urinaires et plasmatiques

Les concentrations plasmatiques et urinaires des éléments suivants ont été mesurées (analyseur Ektachem 700 XR, Kodak, Johnson and Johnson clinical diagnostic Europe, 67 400 Illkirch Graffenstaden, France): créatinine, sodium, potassium, chlore, phosphore, calcium. Les osmolalités urinaire et plasmatique ont également été mesurées.

Une méthode Bio-Rad modifiée a permis de déterminer la protéinurie. Les échantillons de 10 μL d'urines sont placés dans un plateau comportant 96 puits avec 250 μL d'un réactif coloré (Coomassie Brilliant Blue G-250). Des tests de calibrage et de contrôle qualité sont réalisés en deux exemplaires dans les mêmes conditions. Le mélange urine-réactif est laissé à température ambiante pendant une période d'incubation de 5 minutes. L'analyse spectrophotométrique des complexes protéines-réactif est réalisée dans des microplaques de lecture (μQuant , Bio-Tek Instruments, Winooski, USA) à une longueur d'onde de 595 nm. Cette méthode a été validée en accord avec les conditions spécifiées

par les directives publiées par Shah et coll. (1992). La limite quantitative de cette analyse est de 50 µg/mL et les coefficients de variations inter- et intra-jours sont inférieurs à 10%.

E. Analyse de l'iohexol et du PAH

Les concentrations de l'iohexol et du PAH sont mesurées par une méthode HPLC (high performance liquid chromatography) décrite par Laroute et coll. en 1999. Les concentrations plasmatiques de l'iohexol et du PAH sont mesurées simultanément à l'aide d'un spectrophotomètre Kontron réglé à une longueur d'onde de 254 nm. La phase mobile est un mélange méthanol / solution tampon à un pH de 7.5 (10:90, v/v). La solution tampon est constituée de 1.5 mM d'hydrophosphate de potassium et de 1.5 mM de chlorure d'ammonium tétrabutyl. Les séparations sont réalisées sur un Lichrospher 5µm C₁₈ (250 x 4,6 mm D.I.). Le volume d'injection est de 5 µL. Les temps de résidence de la solution standard interne (acide p-aminobenzoïque dans du méthanol à 10 µg/mL), de l'endo-iohexol, de l'exo-iohexol et du PAH sont de 10.7, 12.5, 14.4 et 16.7 minutes, respectivement. Les courbes de calibrations des échantillons sont préparées en injectant l'iohexol et le PAH dans le plasma. 50 µL des échantillons de plasma sont mélangés à 100 µL de la solution standard interne et à 10 µL de HCl 0.2 N. Ce mélange est extrait avec 90 µL de méthanol puis centrifugé pendant 5 minutes.

Le pourcentage de chaque stéréoisomère est déterminé par la mesure de 8 concentrations d'iohexol différentes, chaque mesure étant répétée trois fois. Les coefficients de variations intra- et inter-jours sont déterminés par les mesures de l'écart type de la reproductibilité (s_r , s_R). Cette méthode a été validée en accord avec les recommandations publiées par Shah et coll. (1991). Les courbes standards sont décrites par des régressions linéaires pondérées. Le facteur de pondération est $1/X^2$ sur l'intervalle de concentration de 1-400 µg/L pour le PAH, 2-40 µg/L pour l'endo-iohexol et 9-360 µg/L pour l'exo-iohexol. La limite inférieure de quantification de cette méthode est déterminée par la plus petite concentration mesurée en dessous de laquelle la mesure est possible avec un coefficient de variation inférieur à 20%. La spécificité des éléments endogènes est vérifiée à partir de différents échantillons de plasma prélevés sur des chiens témoins. La précision est déterminée par le pourcentage de déviation entre les concentrations nominales et mesurées obtenues à partir des courbes de calibrage établies.

F. Calcul des paramètres rénaux

Les paramètres rénaux suivants sont déterminés pour tous les éléments (x) :

Quantité excrétée (Qx) = concentration urinaire (Ux) x volume urinaire (V) Equation 1

Clairance urinaire (Clx) = Qx / concentration plasmatique moyenne (Px) Equation 2

La clairance fractionnelle d'une substance est calculée en divisant la clairance de cette substance par la mesure de la clairance urinaire de la créatinine endogène. Ces clairances ont été corrigées par le poids vif et sont exprimées en mL/kg/min.

La réabsorption de l'eau libre (REL) est calculée comme suit :

REL = C_{osm} - V Equation 3

Avec C_{osm}, la clairance osmolaire déterminée selon l'équation 2.

Le DPR et le DFG sont respectivement calculés à partir de la clairance plasmatique du PAH et de l'iohexol (Laroute et coll., 1999). Les valeurs obtenues après les cinétiques de l'iohexol et du PAH sont analysées selon une méthode non compartimentée (Gibaldi et Perrier 1982). L'aire sous la courbe (ASC) des concentrations plasmatiques en fonction du temps est déterminée grâce à la méthode des trapèzes avec extrapolation à l'infini. La pente de la dernière partie de la courbe est calculée par extrapolation des 4 dernières concentrations de la cinétique.

La clairance plasmatique (Cl, mL/kg/min) est calculée selon l'équation suivante :

Cl = Dose / ASC Equation 4

Avec Dose (µg/kg), la dose exacte d'iohexol (ou de PAH) injectée par voie veineuse et ASC (µg*min/mL), l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques d'iohexol (ou de PAH) en fonction du temps.

La fraction filtrée (exprimée en pourcentage) est calculée en divisant le DFG par le DPR.

G. Analyse statistique

Pour chaque paramètre, les résultats sont présentés comme des moyennes ± écart type. Un test Student (t-test) permet la comparaison des valeurs entre les chiots et les chiens âgés. Une valeur de P inférieure à 0.05 est considérée significative.

II. RESULTATS

A. Variables plasmatiques

Les chiots, par rapport aux chiens âgés, ont des valeurs inférieures ($P < 0,001$) pour la natrémie (140 ± 1.3 vs 145 ± 1.3 mmol/L), la créatininémie (39 ± 2.2 vs 55 ± 5.6 μ mol/L) et l'osmolalité (288 ± 6.7 vs 303 ± 4.6 mmol/L). Par contre, les valeurs de la kaliémie (5.1 ± 0.36 vs 4.4 ± 0.15 mmol/L), de la calcémie (2.9 ± 0.06 vs 2.4 ± 0.11 mmol/L) et de la phosphorémie (2.8 ± 0.21 vs 1.1 ± 0.20 mmol/L) sont supérieures ($P < 0.001$) chez les jeunes chiens. La chlorémie n'est pas significativement différente dans les deux groupes (108 ± 1.9 vs 108 ± 1.8 mmol/L).

B. Variables urinaires

Des différences majeures sont observées entre les chiots et les chiens âgés concernant les variables urinaires.

Le volume urinaire récolté sur 24h ($P < 0,001$), ainsi que la densité urinaire ($P < 0.05$), sont significativement plus élevés chez les chiots (28 ± 4.9 vs 17 ± 9.2 mL/kg/jour et 1.042 ± 0.007 vs 1.035 ± 0.008 , respectivement).

La quantité totale de protéines excrétées par jour est supérieure ($P < 0.05$) chez les chiens âgés (48 ± 68.4 mg/kg de poids vif) par rapport aux chiots (6 ± 1.9 mg/kg de poids vif). Cependant, la protéinurie moyenne sur deux jours montre une très grande variabilité interindividuelle chez les chiens âgés (intervalle : [2.2 ; 201.9]) par rapport au chiots (intervalle : [3.8 ; 8.8]). Les coefficients de variation inter-jours sont de 24% pour les chiots et de 35% pour les chiens âgés. Ceci indique, également, que les variations inter-jours pour un même sujet âgé sont plus limitées que les variations interindividuelles.

Les clairances urinaires du sodium, potassium, chlore, calcium et phosphore sont données pour les deux groupes dans le tableau 2. Les clairances urinaires du potassium et du chlore sont plus élevées chez le chiot, alors que celle du calcium est plus faible.

La clairance osmolaire est plus élevée chez les chiots que chez les chiens âgés (0.11 ± 0.0225 vs 0.046 ± 0.0174 mL/kg/min, $P < 0.001$).

C. Paramètres rénaux

Les valeurs du DFG, DPR et de la fraction filtrée des deux groupes sont données dans le tableau 3. Les figures 1 et 2 montrent les cinétiques des concentrations plasmatiques du PAH et de l'exo-iohexol pour les deux groupes.

Le débit de filtration glomérulaire a été évalué à la fois par la clairance urinaire de la créatinine endogène et par la clairance plasmatique de l'iohexol. La clairance de la créatinine est supérieure chez les chiots par rapport aux chiens âgés (5.8 ± 1.26 vs 3.1 ± 0.72 mL/kg/min, $P < 0.001$). Le même constat est fait avec la clairance plasmatique de l'iohexol. Comme il l'a été précédemment décrit, les clairances des deux stéréoisomères, exo-iohexol et endo-iohexol, sont très proches (résultats non exposés ici) (Laroute et coll., 1999). L'exo-iohexol est le stéréoisomère le plus important quantitativement. Ainsi, sa clairance plasmatique est utilisée afin d'évaluer le DFG.

Le DPR n'est pas significativement différent entre les deux groupes. Par contre, la fraction filtrée est plus élevée chez les chiots que chez les chiens âgées (50 ± 9.3 vs 30 ± 2.9 %, $P < 0.001$).

D. Paramètres hybrides

Les clairances fractionnelles (%) du sodium, potassium, chlore, calcium et phosphore des chiots par rapport aux chiens âgés sont 0.14 ± 0.077 vs 0.17 ± 0.082 , 7.9 ± 1.60 vs 8.1 ± 3.83 , 0.54 ± 0.118 vs 0.26 ± 0.127 ($P < 0.001$), 0.24 ± 0.149 vs 0.099 ± 0.060 ($P < 0.05$), 12.0 ± 2.94 vs 18.4 ± 7.01 ($P < 0.05$), respectivement.

La clairance fractionnelle osmolaire est plus grande ($P < 0.001$) chez les chiots (1.8 ± 0.42 %) que chez les chiens âgés (1.1 ± 0.39 %). Il en est de même pour la réabsorption de l'eau libre (0.087 ± 0.022 vs 0.034 ± 0.015 mL/kg/min).

Tableau 2 : Clairance urinaire (moyenne \pm écart type, mL/kg/min) du sodium, potassium, chlore, calcium et phosphore chez les chiots et les chiens âgés.

Clairance urinaire	Chiots	Chiens âgés
Sodium	0.0085 \pm 0.00454	0.0067 \pm 0.00351
Potassium	0.48 \pm 0.0906*	0.33 \pm 0.168
Chlore	0.033 \pm 0.00664***	0.011 \pm 0.00552
Calcium	0.014 \pm 0.00842**	0.0039 \pm 0.00208
Phosphore	0.73 \pm 0.145	0.75 \pm 0.310

* : P<0.05

** : P<0.01

*** : P<0.001

Tableau 3 : Débit de filtration glomérulaire (DFG), évalué par la clairance plasmatique de l'exo-iohexol, débit plasmatique rénal (DPR), évalué par la clairance plasmatique du PAH et fraction filtrée de plasma (FF) (moyenne \pm écart type) chez les chiots et les chiens âgés.

Paramètres rénaux	Unité	Chiots	Chiens âgées
DFG	mL/kg/min	6.2 \pm 0.73***	4.1 \pm 0.50
DPR	mL/kg/min	12.9 \pm 2.64	13.8 \pm 1.67
FF	%	50 \pm 9.3***	30 \pm 2.9

*** : P<0.001

Figure 1 : cinétiques du PAH des chiots et des chiens âgés

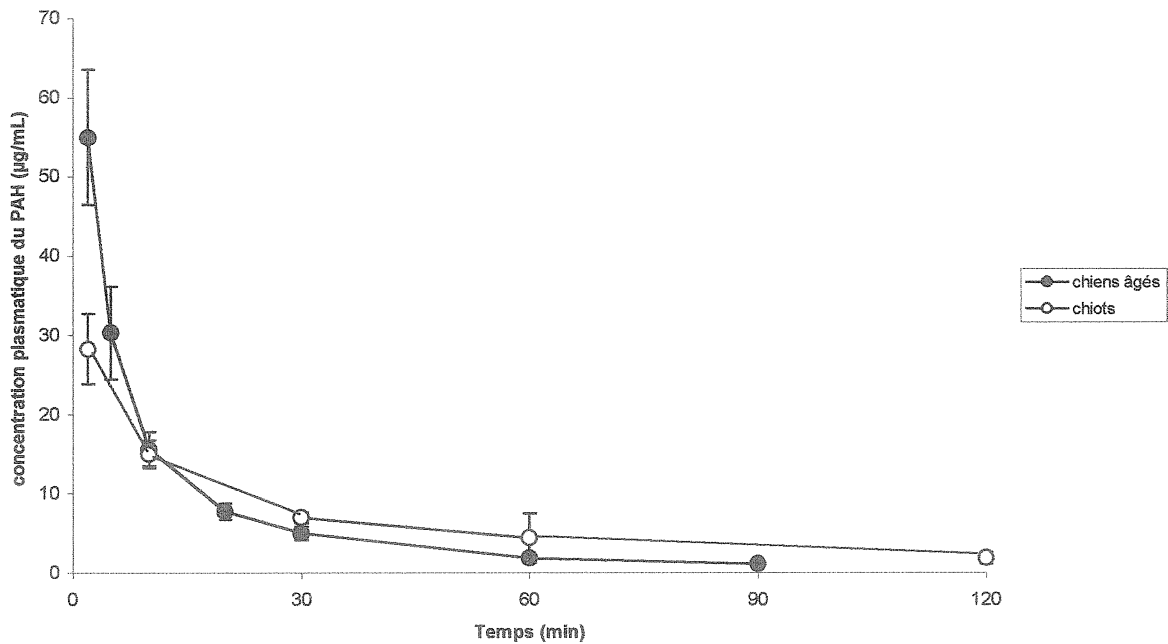
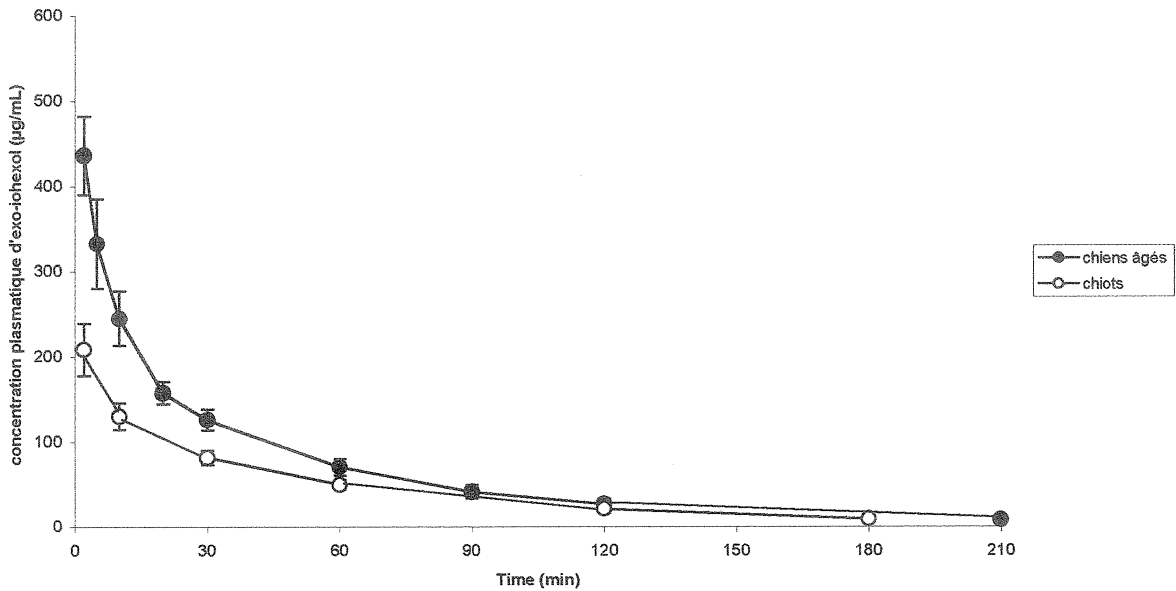


Figure 2 : cinétiques de l'exo-iohexol chez les chiots et les chiens âgés.



III. DISCUSSION

Les praticiens vétérinaires sont souvent confrontés à des chiots et chiens âgés atteints d'insuffisance rénale, de protéinurie, de désordres électrolytiques. Cependant, les caractéristiques fonctionnelles rénales de ces tranches d'âges sont très mal connues.

Les valeurs biochimiques usuelles des chiens adultes n'ont été publiées que pour des chiens âgés d'au moins 9 mois (Dial 1992, Wolford et coll. 1988). A notre connaissance, seule une étude sur des chiots s'est intéressée à la mesure de différents paramètres fonctionnels rénaux et plus particulièrement aux clairances urinaires de la créatinine endogène et de différents électrolytes ainsi qu'à la protéinurie (Lane 2000). Cependant, cette étude ne présentait pas de résultats concernant le DPR et le DFG évalués par des cinétiques de clairances plasmatiques. De plus, toujours à notre connaissance, il n'existe pas d'étude exhaustive sur l'ensemble de la fonction rénale concernant les chiens âgés sains.

L'étude présentée ici concerne des chiots de 3 mois des deux sexes et uniquement des femelles âgées. Il aurait sans doute été préférable d'avoir un groupe de chiens âgés constitué des deux sexes. Cependant, il est très difficile de se procurer des mâles âgés car dans les élevages, les mâles ne représentent qu'un dixième des animaux reproducteurs. Il convient tout de même de moduler ce fait en notant qu'aucun effet du sexe sur la fonction rénale n'a été décrit (Osborne et Finco 1995). Il peut être regretté que lors des collectes d'urine, les vessies des animaux n'ait pas été vidées avant et à la fin des périodes de collectes afin d'éviter des erreurs. Cependant, ces erreurs sont minimisées par le fait que les résultats présentés sont des moyennes établies sur deux collectes consécutives de 24 heures.

Les chiots ont un volume urinaire sur 24 heures et une densité urinaire très supérieurs à ceux des chiens âgés (28 ± 4.9 vs 17 ± 9.2 mL/kg/jour et 1.042 ± 0.007 vs 1.035 ± 0.008 , respectivement). Il est intéressant de comparer ces valeurs à celles obtenues chez des adultes de diverses races dont 6 Beagles : 11.6 ± 5.46 mL/kg/jour et 1.044 ± 0.009 , respectivement (DiBartola et coll. 1980). Nous voyons donc que les chiens âgés produisent plus d'urine que les adultes et que leur densité est inférieure. Néanmoins, les volumes urinaires sur 24 heures ont été rarement étudiés dans la littérature et les valeurs

des volumes d'urine présentés dans notre étude appartiennent, quelque soit l'âge, à l'intervalle communément décrit de 20 à 40 mL/kg/jour.

Dans l'étude de Lane et coll. (2000), la protéinurie journalière diminue entre l'âge de 9 à 27 semaines (5.73 ± 2.08 mg/kg et 2.80 ± 0.27 mg/kg, respectivement). A l'âge de 11 semaines, la protéinurie mesurée dans cette même étude est de 5.3 ± 2.20 mg/kg. Dans notre étude la protéinurie journalière des chiots de 3 mois est de 6 ± 1.9 mg/kg, donc sensiblement identique à celle précédemment obtenue. L'étude de Wolford et coll. (1988) montre que la protéinémie augmente dès la naissance pour atteindre les valeurs de l'adulte vers l'âge de 12 mois. Ainsi, la protéinémie du chiot de 3 mois est plus faible que celle de l'adulte (4.6 ± 0.2 g/L vs 5.8 ± 0.3 g/L, respectivement). Or cette protéinémie faible chez le chiot est à mettre en relation avec le fait que le foie croît moins rapidement que les autres organes et donc ne synthétise pas suffisamment de protéines par rapport à l'augmentation de volémie concomitante (Wolford et coll. 1988). Ceci pourrait donc expliquer la faible protéinurie chez le chiot. A l'inverse, la protéinurie journalière des chiens âgés est très supérieure à celle des chiots (48 ± 68.4 vs 6 ± 1.9 mg/kg). En outre, cette valeur est supérieure à celles précédemment mesurées chez l'adulte (13.9 ± 7.71 mg/kg (DiBartola et coll. 1980)). On peut trouver l'explication à cela dans le fait que le filtre glomérulaire ainsi que la réabsorption tubulaires s'altèrent avec l'âge, laissant ainsi passer plus de protéines et les réabsorbant moins. De plus, la synthèse de protéines par le foie diminue avec l'âge. Ainsi l'augmentation des fuites urinaires et la diminution de la synthèse protéique expliquent le fait que la protéinémie du chien âgé est inférieure à celle de l'adulte (Butler 1976).

Chez le chien, le développement anatomique et fonctionnel est tel que selon les auteurs, le DFG atteint les valeurs de l'adulte à un âge variant de 3 semaines à 2 mois (Bovee et coll. 1984, Horster et Valtin 1971, Heller et Capek 1965). Cependant, dans l'étude de Lane et coll. (2000) le DFG mesuré pour des chiots âgés de 9 à 21 semaines est supérieur aux valeurs usuelles de l'adulte avec un maximum à 11 semaines : 4.75 ± 0.66 mL/kg/min. Notons, à nouveaux les différentes valeurs du DFG chez l'adulte selon les auteurs : $2,53 \pm 0,95$ mL/kg/min (DiBartola et coll. 1980), 3.7 ± 0.77 (Bovee et Joyce 1979), 4.09 ± 0.52 (Osborne et Finco 1995).

Dans notre étude, le DFG des chiots âgés de 3 mois, mesuré par la clairance plasmatique de l'exo-iohexol, a pour valeur moyenne 6.2 ± 0.73 mL/kg/min. La clairance urinaire de la créatinine endogène donne une valeur de DFG légèrement inférieure : 5.8 ± 1.26 mL/kg/min. Ces deux valeurs sont toutefois supérieures à celles mesurées

dans d'autres études pour des chiots du même âge. Notamment, dans l'étude de Lane et coll. (2000), la clairance plasmatique de la créatinine endogène est de 4.43 ± 0.51 mL/kg/min chez des chiots de 13 semaines.

Chez le chat, des valeurs particulièrement élevées du DFG évalué par la créatinine endogène ont également été décrites. Les auteurs de cette étude avançaient comme hypothèse une hyperfiltration de ce métabolite pendant la croissance (Hoskins et coll. 1991). Or, chez le chiot, la créatininémie est inférieure à celle de l'adulte (dans notre étude, la créatininémie du chiot est inférieure à celle des chiens âgés sans toutefois que la valeurs de ces derniers soit supérieure à celle de l'adulte)(Wolford et coll. 1988). Ceci peut s'expliquer par l'hypothèse sus-citée mais aussi par le fait que le chiot produit moins de créatinine que l'adulte (sa masse musculaire étant proportionnellement inférieure, et l'anabolisme musculaire primant sur le catabolisme durant la croissance). Cependant, au regard de la valeur du DFG évalué par la clairance plasmatique de l'exo-iohexol, on peut véritablement parler d'hyperfiltration glomérulaire chez le chiots de 3 mois par comparaison avec l'adulte.

Dans notre étude, le DFG mesuré chez les chiens âgés est, quelle que soit la méthode d'évaluation, sensiblement identique aux valeurs du chien adulte précédemment citées (3.1 ± 0.72 mL/kg/min (clairance urinaire de la créatinine), 4.1 ± 0.50 mL/kg/min (clairance plasmatique de l'exo-iohexol)). Cependant, la valeur du DFG évalué par la clairance plasmatique de l'exo-iohexol dans cette étude montre que la fonction glomérulaire n'est pas altérée chez les chiens âgés.

Selon l'étude de José et coll. (1971) le DPR corrigé par la masse rénale atteint les valeurs du chien adulte à l'âge de 16 semaines. Dans notre étude, aucune différence significative n'a été décelée concernant le DPR du chiot et du chien âgés. Il semble donc que contrairement à l'homme (Anderson et Brenner 1986), le DPR n'ait pas subi d'altération chez les chiens âgés étudiés ici.

Selon Horster et Valtin (1971), la fraction filtrée de plasma atteint la valeur du chien adulte vers l'âge de 40 jours. Dans notre étude, la valeur de la fraction filtrée de plasma des chiots est nettement supérieure à celle des chiens âgés. Or le DPR n'est pas significativement différent dans les deux groupes. Ceci confirme bien le fait qu'il existe chez le chiot de 3 mois une hyperfiltration glomérulaire.

La clairance urinaire osmolaire des chiots est plus grande que celle des chiens âgés (0.11 ± 0.0225 vs 0.046 ± 0.0174 mL/kg/min, respectivement). Ceci signifie que les reins des chiots excrètent une plus grande quantité d'électrolytes que les chiens âgés. Là

encore, on peut comparer la valeur de la clairance osmolaire des chiens âgés à celle des adultes de l'étude de DiBartolla et coll.(1980) et on remarque que les clairances osmolaires sont quasiment identiques : 0.046 ± 0.0174 vs 0.047 ± 0.0220 mL/kg/min. Enfin, la réabsorption de l'eau libre est à nouveau plus grande chez les chiots que chez les chiens âgés (0.087 ± 0.022 vs 0.034 ± 0.015 mL/kg/min) et la valeur proposée par DiBartolla et coll. concernant les jeunes adultes est 0.039 ± 0.019 mL/kg/min. Cette dernière valeur est très peu différente de celle des chiens âgés. Il ressort donc que les chiens âgés ont une capacité à concentrer les urines légèrement inférieure à celle des jeunes adultes. De plus, les chiots, malgré un volume urinaire plus important, ont une urine plus concentrée que celle des chiens plus âgés.

L'excrétion des électrolytes dépend de plusieurs facteurs : l'alimentation, la concentration plasmatique, la capacité à concentrer les urines. Nous venons de voir que les chiots ont une urine plus concentrée. D'autre part, la comparaison entre les chiots et les chiens âgés concernant les électrolytes doit être pondérée par le fait que les aliments distribués dans notre étude sont différents selon les groupes d'âges. En effet, les aliments pour chiots en croissance sont notamment plus riches en phosphore et calcium que les aliments pour adultes. Toutefois, chaque aliment est adapté aux besoins physiologiques de chaque catégorie.

Alors que la natrémie est légèrement plus grande chez les chiens âgés que chez les chiots (145 ± 1.3 vs 140 ± 1.3 mmol/L), aucune différence significative n'a été décelée concernant la clairance fractionnelle du sodium entre les deux groupes. Dans l'étude de Wolford et coll. (1988), les différentes valeurs concernant le sodium ne varient plus entre l'âge de 6 semaines et 1 an. Lane et coll. (2000) n'ont observé aucune différence significative concernant les clairances fractionnelles du sodium entre les chiots âgés de 11 à 27 semaines. Il semble donc que la gestion du sodium tout au long de la vie ne subisse que très peu de changement.

Alors que la chlorémie n'est pas significativement différente dans les deux groupes, la clairance urinaire ainsi que la clairance fractionnelle sont plus élevées chez les chiots que chez les chiens âgés (0.0033 ± 0.00664 vs 0.0011 ± 0.00552 et 0.54 ± 0.118 vs 0.26 ± 0.127 , respectivement). Ainsi, chez le chiot, même si le chlore est filtré en plus grande quantité, il doit exister au niveau du tube digestif une absorption supérieure à celle du chien âgé.

La kaliémie est supérieure chez le chiot par rapport au chien âgé. Ceci est en accord avec l'étude de Wolford et coll. (1988) qui montre que la kaliémie augmente jusqu'à la 8^{ème} semaine de vie puis diminue pour atteindre les valeurs de l'adulte.

La calcémie et la phosphorémie sont plus grandes chez les chiots que chez les chiens âgés. Ceci est en accord avec l'étude de Wolford et coll. (1988) dans laquelle les chiens de 3 mois présentent des valeurs de phosphorémie et de calcémie supérieures à celles des chiens de 1 an. De plus, la clairance fractionnelle du phosphore est inférieure chez le chiot. Ces données sont à mettre en relation avec le rôle essentiel du phosphore et du calcium chez le chiot pour sa croissance. L'hormone de croissance a un effet hyperphosphorémiant et augmente la réabsorption de calcium par les reins. Cependant, dans notre étude, la clairance fractionnelle du calcium est supérieure chez le chiot. La calcémie plus importante constatée chez le chiot peut alors s'expliquer par une plus grande absorption de cet électrolyte au niveau digestif.

Notons pour terminer que, dans notre études, toutes les valeurs des clairances fractionnelles des électrolytes des chiots de 3 mois sont inférieures à celles observées dans les études de Lane et coll. (2000) pour des chiots de 11 semaines. Ceci peut s'expliquer en partie par le fait que la valeur de la clairance urinaire de la créatinine endogène est plus grande dans notre étude que dans celle de Lane et coll. (2000) (5.8 ± 1.26 vs 4.75 ± 0.66 ml/kg/min, respectivement).

CONCLUSION

Il ressort de cette étude plusieurs points essentiels.

Tout d'abord, l'immaturation de la fonction rénale chez le chiot est une idée certes vraie dans les premiers jours de la vie mais elle devient très vite obsolète. En effet, nous avons montré dans notre étude que des chiots de 3 mois filtrent plus de plasma (DFG supérieur), produisent plus d'urine (volume urinaire de 24 heures plus important) et cependant concentrent plus les urines (densité urinaire plus grande) que des adultes et des chiens vieillissants.

D'autre part, la fonction rénale des chiens âgés sains est sensiblement identique à celle des adultes, mis à part une densité urinaire un peu plus faible mais restant dans les valeurs de référence de ces derniers. Cependant, il faut remarquer ici l'importance de la mesure de la densité urinaire car elle est un des premiers paramètres à s'altérer lors d'une diminution de la fonction rénale. De plus, il s'agit d'une mesure très facile à obtenir en clinique ce qui en fait une variable de choix lors de l'exploration fonctionnelle rénale. La connaissance de ces valeurs selon la période de la vie est donc primordiale.

Enfin, toujours dans un cadre clinique, les résultats de notre étude sont particulièrement intéressants dès lors qu'il s'agit d'explorer la fonction rénale du chiot et du chien âgé. En effet, les valeurs exposées ici donnent une base afin de comparer des résultats physiologiques à des résultats pathologiques de la fonction rénale chez ces deux populations extrêmes.

Cependant, cette étude a été réalisée avec des groupes d'animaux restreints en nombre. Les valeurs obtenues restent donc à être confirmées sur des échantillons plus vastes et comportant diverses races de chiens afin d'établir de véritables intervalles de références concernant les fonctions rénales du chiot et du chien âgé.

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, P. DESNOYERS, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que

M. ROCHE Laurent, Michel

a été admis(e) sur concours en : 1996

a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 8 juillet 2002

n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, H. LEFEBVRE, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

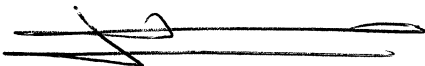
autorise la soutenance de la thèse de :

M. ROCHE Laurent, Michel

intitulée :

« *La fonction rénale du chiot et du chien âgé* »

**Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Hervé LEFEBVRE**



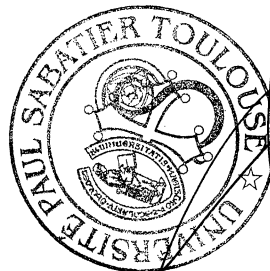
**Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Docteur Pierre DESNOYERS**



**Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Jacques POURRAT**



**Vu le : 20 MAI 2003
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Jean-François SAUTEREAU**



BIBLIOGRAPHIE

ANDERSON S, BRENNER BM : Effects of aging on the renal glomerulus. *Am J Med* 1986;**80**:435-442.

ASCHINBERG LC, GOLDSMITH DI, OLBING H, SPITZER A, EDELMANN CM, BLAUFOX MD : Neonatal changes in renal blood flow distribution in puppies. *Am J Physiol* 1975;**228**:1453-1461.

BENGELE HH, MATHIAS RS, PERKINS JH, ALEXANDER EA : Urinary concentrating defect in the aged rat. *Am J Physiol* 1981;**240**:F147-150.

BOVEE KC, JOYCE T : Clinical evaluation of glomerular function: 24-hour creatinine clearance in Dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1979;**174**:488-491.

BOVEE KC, JEZYK PF, SEGAL SC : Postnatal development of renal tubular amino acid reabsorption in canine pups. *Am J Vet Res* 1984;**45**:830-832.

BUTLER M : Electrophoretic analysis of normal Beagle dog serum for changes possibly due to age or sex. *Lab Anim Sci* 1976;**26**:497-500.

DEAN RFA, MC CANCE : Phosphate clearances in infants and adults. *J Physiol* 1948;**107**:182-186.

DIAL SM : Hematology, chemistry profile, and urinalysis for pediatric patients. *Comp Contin Educ Pract Vet* 1992;**14**:305-308.

DIBARTOLA SP, CHEW DJ, JACOBS G : Quantitative urinalysis including 24-hour protein excretion in the dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 1980;**16**:537-547.

FETTMAN MJ, ALLEN TA : Developmental Aspects of fluid and electrolyte metabolism and renal function in neonates. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1991;**13**:392-403.

GOLDSMITH DI, DRUKKER A, BLAUFOX MD, EDELMANN CM, SPITZER A : Hemodynamic and excretory response of the neonatal canine kidney to acute volume expansion. *Am J Physiol* 1979;**237**:F392-F397.

GOLDSMITH DI, JODORKOVSKY RA, SHERWINTER J, KLEEMAN SR, SPITZER A : Glomerular capillary permeability in developing canines. *Am J Physiol* 1986;**251**:F528-F531.

HELLER J, CAPEK K : Changes in body water compartments and inulin and PAH clearance in the dog during postnatal development. *Physiol Bohemoslov* 1965;**14**:433-438.

HORSTER M, VALTIN H : Postnatal development of renal function: micropuncture and clearance studies in the dog. *J Clin Invest* 1971;**50**:779-795.

HORSTER M, LEWY JE : Filtration fraction and extraction of PAH during neonatal period in the rat. *Am J Physiol* 1970; **219**:1061-1065.

HORSTER M, KEMLER BJ, VALTIN H : Intracortical distribution of number and volume of glomeruli during postnatal maturation in the dog. *J Clin Invest* 1971;**50**:796-800.

HOSKINS JD, TURNWALD GH, KEARNEY MT, GOSSET KA, FAKIER N : Quantitative urinalysis in kittens from four to thirty weeks after birth. *Am J Vet Res* 1991;**52**:1295-1299.

JOSE PA, LOGAN AG, SLOTKOFF LM, LILIENFIELD LS, CALCAGNO PL, EISNER GM : Intrarenal blood flow distribution in canine puppies. *Pediatr Res* 1971;**5**:335-344.

JOSE PA, SLOTKOFF LM, MONTGOMMERY S, CALCAGNO PL, EISNER G : Autoregulation of renal blood flow in the puppy. *Am J Physiol* 1975;**229**:983-988.

KIEBZAK GM, SACKTOR B : Effect of age on renal conservation of phosphate in the rat. *Am J Physiol* 1986;**251**:F399-F407.

KLEINMAN LI : Developmental renal physiology. *The Physiologist* 1982;**25**:104-110.

KLEINMAN LI, BANKS RO : Segmental nephron sodium and potassium reabsorption in newborn and adult dogs during saline expansion. *Proc Soc Exp Bio Med* 1983;**173**:231-237.

KLEINMAN LI, LUBE RJ : Factors affecting the maturation of glomerular filtration rate and renal plasma flow in the new-born dog. *J Physiol* 1972;**223**:395-409.

KLEINMAN LI, REUTER JH : Maturation of glomerular blood flow distribution in the new-born dog. *J Physiol* 1973;**228**:91-103.

LANE IF, SHAW DH, BURTON SA, DONALD AW : Quantitative urinalysis in healthy beagle puppies from 9 to 27 weeks of age. *Am J Vet Res* 2000;**61**:577-581.

LAROUTE V, LEFEBVRE HP, COSTES G, Toutain PL : Measurement of glomerular filtration rate and effective renal plasma flow in the conscious beagle dog by single intravenous bolus of iohexol and p-aminohipuric acid. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1999;**41**:17-25.

LINDEMAN RD, GOLDMAN R : Anatomic and physiologic age changes in the kidney. *Exp Gerontol* 1986;**21**:379-406.

LULICH JP, OSBORN CA, POLZIN DJ, JOHNSTON SD, PARKER ML : Urine metabolite values in fed and nonfed clinically normal Beagles. *Am J Vet Res* 1991;**52**:1573-1578.

MILLER M, GOLD GC, FRIEDLANCER DA : Physiological changes of aging affecting salt and water balance. *Rev Clin Gerontol* 1991;**1**:215-230.

OSBORNE CA, FINCO DR : Canine and Feline Nephrology and Urology. Williams and Wilkins, 4th ed., 1995.

OLBING H, BLAUFOX MD, ASCHINBERG LC, SILKALNS GI, BERNSTEIN J, SPITZER A, EDELMAN CM : Postnatal changes in renal glomerular blood flow distribution in puppies. *J Clin Invest* 1973;**52**:2885-2895.

RAINFRAY M, RICHARD-HARSTON, SALLES-MONTAUDON N, EMERIAU JP : Les effets du vieillissement sur la fonction rénale et leur implications en pratique médicale. *Presse Med* 2000;**29**:1373-1378.

RUSSO JC, NASH MA : Renal response to alteration in dietary phosphate in the young beagle. *Biol Neonate* 1980;**38**:1-10.

SHAH VP, MIDHA KK, DIGHE S, MCGILVERAY IJ, SKELLY JP, YACOBI A, LAYLOFF T, VISWANATHAN CT, COOK CE, MCDOWALL RD, PITTMAN KA, SPECTOR S : Analytical methods validation : bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1991 ;**16** :249-255.

SOLOMON S : Developmental changes in the nephron number, proximal tubular length and superficial nephron glomerular filtration rate in rats. *J Physiol* 1977;**372**:573-589.

SPITZER A, BRANDIS M : Fonctionnal and morphologic maturation of the superficial nephrons. *J Clin Invest* 1974;**53**:279-287.

VARGAS F, ORTIZ MC, FORTEPIANI LA, ATUCHA NM, GARCIA-ESTAN J : Age-related changes in the pressure diuresis and natriuresis response. *Am J Physiol* 1997;**273**:R578-R582.

WEBSTER SK, HARAMATI A : Developmental changes in the phosphaturic response to parathyroid hormone in the rat. *Am J Physiol* 1985;**249**:F251-F255.

WEST JR, SMITH HW, CHASIS H : Glomerular filtration rate, effective renal blood flow, and maximal tubular excretory capacity in infancy. *J. Pediat* 1948;**32**:10-18.

WOLFORD ST, SCHROER RA, GOHS FX, GALLO PP, FALK HB, DENTE AR : Effect of age on serum chemistry profile, electrophoresis and thyroid hormones in beagle dogs two weeks to one year of age. *Vet Clin Pathol* 1988;**17**:35-42.

Toulouse, 2003

NOM : ROCHEPRENOM : LAURENTTITRE : LA FONCTION RENALE DU CHIOT ET DU CHIEN AGERESUME :

L'objectif de cette étude est d'évaluer la fonction rénale chez des chiots et des chiens âgés cliniquement sains chez lesquels peu d'informations sont disponibles.

Les urines de 24 heures ont été collectées pendant 2 jours sur 10 chiots et 10 de race Beagle âgés de 3 mois et 7 ans en moyenne, respectivement. Les paramètres suivants ont été mesurés : concentrations plasmatiques et urinaires de la créatinine et de divers électrolytes, osmolalité, densité urinaire, protéinurie, clairances fractionnelles et réabsorption de l'eau libre. Le DFG et le DPR ont été évalués par la clairance plasmatique de l'iohexol et du PAH, respectivement. L'analyse statistique des résultats a été réalisée à l'aide de test de Student ($p < 0,05$).

Les différences significatives entre les deux groupes étaient les suivantes : DFG : 6.2 ± 0.7 vs 4.1 ± 0.5 mL/kg/min ($p = 0.000$), Fraction plasmatique filtrée : 49.6 ± 9.3 vs 29.8 ± 2.9 % ($p = 0.000$), volume urinaire : 28.7 ± 4.9 vs 16.9 ± 9.2 mL/kg/jour ($p = 0.000$), densité urinaire : 1.042 ± 0.007 vs 1.035 ± 0.008 ($p = 0.011$), osmolalité urinaire : 1572 ± 322 vs 1241 ± 308 mOsm/kg ($p = 0.000$), osmolalité plasmatique : 288 ± 7 vs 303 ± 5 mOsm/kg ($p < 0.001$), protéinurie : $6 \pm 1,9$ vs $48 \pm 68,4$ mg/kg ($p = 0,05$), clairance fractionnelle du chlore : 0.5 ± 0.1 vs 0.3 ± 0.1 % ($p = 0.000$), clairance fractionnelle du phosphore : 12 ± 3 vs 18.4 ± 7 % ($p = 0.021$), clairance osmolaire : 1.8 ± 0.4 vs 1.1 ± 0.4 % ($p = 0.003$), Réabsorption de l'eau libre : 0.9 ± 0.2 vs 0.3 ± 0.1 % ($p = 0.000$).

Il existe des différences entre les chiots et les chiens âgés concernant les fonctions glomérulaire et tubulaire. Cependant, la fonction rénale des chiens âgés est similaire à celle décrite dans la littérature pour les chiens adultes. L'utilisation des paramètres conventionnels afin d'évaluer la fonction rénale des chiots peut donc prêter à confusion en terme de diagnostic. D'autres études sont néanmoins nécessaires afin de confirmer ces résultats sur de plus grandes populations.

MOTS CLES : CHIOT, CHIEN AGE, FONCTION RENALE, URINE, DFG, DPR, CLAIRANCE FRACTIONNELLE.

ENGLISH TITLE : RENAL FUNCTION IN PUPPIES AND OLD DOGS

ABSTRACT :

The objective of this study is to assess renal function in clinically healthy puppies and old dogs in which hardly any data is available.

Twenty-four-hour urine was collected on ten 3-month-old and ten 7-year-old beagle dogs during 2 days. Plasma and urine creatinine and electrolytes concentrations, osmolality, urine specific gravity (USG), proteinuria, excreted fractions (EF) and free water reabsorption (FWR) were assessed. GFR (iohexol plasma clearance) and ERPF (PAH plasma clearance) were also determined. Statistical analysis was based on mean comparison tests.

The significant differences between pups and old dogs were : GFR: 6.2 ± 0.7 vs 4.1 ± 0.5 mL/kg/min ($p = 0.000$), Filtrated Fraction: 49.6 ± 9.3 vs 29.8 ± 2.9 % ($p = 0.000$), urine volume: 28.7 ± 4.9 vs 16.9 ± 9.2 mL/kg/day ($p = 0.000$), USG: 1.042 ± 0.007 vs 1.035 ± 0.008 ($p = 0.011$), Urine osmolality: 1572 ± 322 vs 1241 ± 308 mOsm/kg ($p = 0.000$), Plasma osmolality: 288 ± 7 vs 303 ± 5 mOsm/kg ($p < 0.001$), proteinuria : $6 \pm 1,9$ vs $48 \pm 68,4$ mg/kg ($p = 0,05$), Chlorides-EF: 0.5 ± 0.1 vs 0.3 ± 0.1 % ($p = 0.000$), Phosphorus-EF: 12 ± 3 vs 18.4 ± 7 % ($p = 0.021$), Osmolality-EF: 1.8 ± 0.4 vs 1.1 ± 0.4 % ($p = 0.003$), FWR: 0.9 ± 0.2 vs 0.3 ± 0.1 % ($p = 0.000$).

There are differences in glomerular and tubular functions between puppies and old dogs. Nevertheless, renal function in old dogs is similar to adult's one described in literature. Use of conventional parameters for the assessment of renal function in puppies may be misleading in terms of diagnosis. Further studies are however required on larger populations.

KEY WORDS : PUPPIE, OLD DOG, RENAL FUNCTION, URINE, GFR, ERPF, EXCRETED FRACTION.