



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap

# **Serumkoncentrationer av symmetriskt dimetylarginin hos katt - en pilotstudie**

**Serum concentrations of  
symmetric dimethylarginine in cats  
- a pilot study**

*Caroline Bergman*

*Uppsala  
2020*

*Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet*



# Serumkoncentrationer av symmetriskt dimetylarginin hos katt - en pilotstudie

## Serum concentrations of symmetric dimethylarginine in cats - a pilot study

*Caroline Bergman*

**Handledare:** *Ingrid Ljungvall, institutionen för kliniska vetenskaper*

**Biträdande handledare:** *Jens Häggström, institutionen för kliniska vetenskaper*

**Biträdande handledare:** *Lena Pelander, institutionen för kliniska vetenskaper*

**Examinator:** *Helene Hamlin, institutionen för kliniska vetenskaper*

*Examensarbete i veterinärmedicin*

**Omfattning:** 30 hp

**Nivå och fördjupning:** Avancerad nivå, A2E

**Kurskod:** EX0869

**Kursansvarig institution:** *Institutionen för kliniska vetenskaper*

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2020

**Elektronisk publicering:** <https://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** *katt, SDMA, symmetriskt dimetylarginin, kreatinin, kronisk njursjukdom*

**Key words:** *cat, feline, SDMA, symmetric dimethylarginine, creatinine, chronic kidney disease*

Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för kliniska vetenskaper



## SAMMANFATTNING

Kronisk njursjukdom är ett vanligt förekommande sjukdomstillstånd hos framför allt äldre katter och även en vanlig orsak till avlivning hos katt. För att bedöma njurfunktionen hos katt analyseras vanligtvis koncentrationen av kreatinin i serum eller plasma, vilket är en enkel men relativt okänslig metod. En mer optimal markör för nedsatt njurfunktion vore därför av kliniskt värde.

Syftet med detta examensarbete var att undersöka om serumkoncentrationen av symmetriskt dimetylarginin (SDMA), analyserat med Catalyst SDMA Test, skiljer sig mellan azotemiska katter med misstanke om nedsatt njurfunktion, icke azotemiska katter med misstanke om nedsatt njurfunktion samt icke azotemiska katter, där ingen misstanke om nedsatt njurfunktion föreligger. Studien syftade även till att undersöka hur serumkoncentrationen av SDMA förhåller sig till serumkoncentrationen av kreatinin i studiepopulationen samt om serumkoncentrationen av SDMA varierar med kön, ålder, vikt eller BCS.

Serum samlades in från friska katter samt katter som varit inskrivna för undersökning och behandling vid UDS. Totalt 58 katter inkluderades i studien och delades sedan in i fyra grupper baserat på koncentration av kreatinin i serum samt eventuella fynd på njurarna vid bukultraljud; friska katter, icke azotemiska katter utan misstanke om nedsatt njurfunktion men med andra sjukdomar eller skador, icke azotemiska katter med renal avvikelse vid ultraljud samt azotemiska katter med renal avvikelse vid ultraljud.

Serumkoncentration av SDMA var signifikant högre hos azotemiska katter med renal avvikelse vid ultraljud jämfört med övriga grupper. Dock hade 8 av 20 azotemiska katter en normal serumkoncentration av SDMA och 1 av 10 icke azotemiska katter med renal avvikelse vid ultraljud hade en förhöjd koncentration av SDMA. Samtliga friska katter samt icke azotemiska katter utan misstanke om nedsatt njurfunktion hade en serumkoncentration av SDMA som låg inom referensintervallet (0-0,69  $\mu\text{mol/l}$ ).

Ett samband sågs mellan serumkoncentrationen av SDMA och serumkoncentrationen av kreatinin ( $r = 0,59$ ,  $p < 0,0001$ ), där SDMA ökade med ökande koncentration av kreatinin. Inget signifikant samband sågs dock mellan koncentrationen av SDMA och kön, ålder, vikt eller BCS.

Det konkluderades att serumkoncentrationen av SDMA var signifikant högre hos azotemiska katter med renal avvikelse vid ultraljud jämfört med övriga grupper, men 40 % av dessa katter hade en koncentration av SDMA inom referensintervallet. Samtidigt var SDMA förhöjt hos 10 % av icke azotemiska katter med renal avvikelse vid ultraljud. Användbarheten av SDMA som markör för nedsatt njurfunktion hos katt bör undersökas vidare i en större population, och gärna med en studiedesign där den faktiska njurfunktionen bedöms med hjälp av estimering av GFR.

## SUMMARY

Chronic kidney disease is a common condition, especially in geriatric cats, and it is also a common cause of euthanasia. Assessment of renal function in cats usually includes measurement of serum or plasma creatinine concentration, which is a simple but relatively insensitive method. A more sensitive marker of impairment of renal function is therefore of clinical interest.

The purpose of this thesis was to investigate whether serum concentration of symmetrical dimethylarginine (SDMA), analyzed by the Catalyst SDMA Test, differs between azotemic cats with suspected renal impairment, non-azotemic cats with suspected renal impairment and non-azotemic cats without suspicion of renal impairment. The study also aimed to investigate the relationship between serum concentrations of SDMA and creatinine, and to assess if serum concentration of SDMA is influenced by sex, age, body weight or Body Condition Score (BCS).

Serum was collected from healthy cats as well as cats visiting the University Animal Hospital (UDS) in Uppsala, Sweden, for clinical examination and treatment of various diseases and injuries. A total of 58 cats were included in the study and divided into four groups based on serum creatinine concentration and renal findings at abdominal ultrasonography; healthy cats, non-azotemic cats without suspicion of renal impairment but with other diseases or injuries, non-azotemic cats with renal abnormalities at ultrasonography and azotemic cats with renal abnormalities at ultrasonography.

Serum concentration of SDMA was significantly higher in azotemic cats with renal abnormalities at ultrasonography compared to other groups. However, 8 of 20 azotemic cats had a normal serum concentration of SDMA, and 1 of 10 non-azotemic cats with ultrasonographic renal abnormalities had an increased concentration of SDMA. All healthy cats and non-azotemic cats without suspicion of renal impairment had a serum concentration of SDMA within the reference range of 0-0.69  $\mu\text{mol/l}$ .

A correlation was seen between the serum concentration of SDMA and the serum concentration of creatinine ( $r = 0.59$ ,  $p < 0.0001$ ), where SDMA increased with increasing concentration of creatinine. However, no significant association was seen between the concentration of SDMA and sex, age, body weight or BCS.

In conclusion, serum concentration of SDMA was significantly higher in azotemic cats with renal abnormalities at ultrasonography, but 40% of these cats had a concentration of SDMA within the reference range. At the same time, serum concentration of SDMA was elevated in 10% of non-azotemic cats with renal abnormalities at ultrasonography. The usefulness of SDMA as a marker of renal function impairment in cats should be further investigated in a larger population, using a study design where actual renal function is assessed using glomerular filtration rate (GFR).

## INNEHÅLL

INLEDNING .....	1
LITTERATURÖVERSIKT .....	3
Kronisk njursjukdom och akut njurskada .....	3
Prevalens och mortalitet .....	4
Effekter på livskvalitet .....	4
Diagnos .....	4
Stadier av kronisk njursjukdom .....	5
Prognos.....	6
Glomerulär filtrationshastighet.....	6
Clearance.....	6
Scintigrafi.....	6
Symmetriskt dimetylarginin .....	7
Proteinbindningsgrad, utsöndring och metabolism.....	8
Biologiska effekter av SDMA.....	8
Analys av SDMA .....	9
SDMA hos katt.....	10
SDMA hos andra djurslag.....	12
Andra markörer för nedsatt njurfunktion hos katt .....	14
Kreatinin.....	14
Asymmetriskt dimetylarginin .....	15
Cystatin C.....	15
Fibroblast growth factor 23 .....	15
Parathormon .....	16
UP/C, UA/C och NAG index .....	16
Övriga potentiella markörer .....	16
MATERIAL OCH METODER .....	17
Prov- och datainsamling .....	17
Provhantering och förvaring .....	17
Analys av prover.....	18
Statistisk analys .....	18
RESULTAT .....	19
DISKUSSION .....	22
Konklusion.....	25
POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING.....	26
REFERENSER.....	27

## FÖRKORTNINGAR

ADMA	asymmetriskt dimetylarginin (asymmetric dimethylarginine)
AKD	akut njursjukdom (acute kidney disease)
AKI	akut njurskada (acute kidney injury)
BCS	body condition score
CKD	kronisk njursjukdom (chronic kidney disease)
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
FGF-23	fibroblast growth factor 23
GFR	glomerulär filtrationshastighet (glomerular filtration rate)
IRIS	international renal interest society
LC-MS	vätskekromatografi-masspektrometri (liquid chromatography-mass spectrometry)
MMA	monometylarginin (monomethylarginine)
NAG	N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase
SDMA	symmetriskt dimetylarginin (symmetric dimethylarginine)
UA/C	urinalbumin/urinkreatinin-kvot
UP/C	urinprotein/urinkreatinin-kvot



## INLEDNING

Kronisk njursjukdom (CKD) är en vanligt förekommande sjukdom hos katt, där framför allt äldre katter drabbas (Conroy *et al.*, 2019). Sjukdomen är dessutom en vanlig orsak till dödsfall och avlivning av katter (O'Neill *et al.*, 2015). Kronisk njursjukdom ger kliniska sjukdomstecken i form av avmagring, polyuri, polydipsi, nedsatt aptit, nedstämdhet och kräkningar, vilket signifikant påverkar kattens livskvalitet (Bijsmans *et al.*, 2016; Conroy *et al.*, 2019).

Det är viktigt att upptäcka CKD tidigt för att sätta in åtgärder riktade att bromsa sjukdomsutvecklingen och underhålla mängden kvarstående funktionell njurvävnad (Finch, 2014). Estimering av den glomerulära filtrationshastigheten (GFR) anses vara den mest känsliga och exakta indikatorn för mängden funktionell njurvävnad, och den kan uppskattas genom mätning av clearance av en specifik markör, exempelvis inulin eller iohexol (Finch, 2014). Mätning av clearance av sådana substanser omfattar antingen en infusion av indikatorsubstansen, urin-kateterisering, samt upprepade urinprov, eller administrering av en bolusdos samt upprepade blodprov (Finch, 2014). I en enskild njure kan GFR även estimeras genom intravenös administrering av radioaktivt märkta substanser och studier av utsöndringen av dessa genom njurarna med hjälp av scintigrafi (Finch, 2014). Dessa metoder är emellertid förhållandevis komplicerade och används därför sällan i klinisk praxis (Finch, 2014).

Vanligtvis används framför allt koncentrationen av kreatinin i serum eller plasma i kliniken för bedömning av njurfunktionen, eftersom det är en enkel metod som endast kräver ett blodprov (Finch, 2014). En relativt omfattande minskning av GFR krävs emellertid för att koncentrationen av kreatinin skall överstiga den övre gränsen av referensintervallet, vilket innebär att metoden har förhållandevis låg sensitivitet för nedsatt njurfunktion (Finch, 2014). Koncentrationen av kreatinin i serum påverkas dessutom inte bara av förändringar av GFR, utan även av extrarenala faktorer såsom muskelmassa och hydreringsgrad (Finch, 2014). Därför är en mer känslig markör för nedsatt njurfunktion av klinisk betydelse.

Symmetriskt dimetylarginin (SDMA) isolerades för första gången år 1970 i urin från människor, men intresset för substansen som en potentiell markör för nedsatt njurfunktion ökade inte förrän under 1990-talet, då studier visade på att SDMA ackumuleras i plasma hos människor med njursvikt (Kakimoto & Akazawa, 1970; MacAllister *et al.*, 1996). Under 2000-talet började substansens användbarhet som en indikator på nedsatt njurfunktion studeras även på djur.

Olika studier har visat att koncentrationen av SDMA i plasma ökar med minskande mängd funktionell njurvävnad hos människor, gnagare och hundar samt att koncentrationen i serum och plasma korrelerar signifikant med GFR hos flera olika djurslag inklusive katter (Al Banchaabouchi *et al.*, 2000; Kielstein *et al.*, 2006; Matsuguma *et al.*, 2006; Tatematsu *et al.*, 2007; Schepers *et al.*, 2011; Braff *et al.*, 2014; Hall *et al.*, 2014a; Hall *et al.*, 2014b; Nabity *et al.*, 2015; Hall *et al.*, 2016; Pelander *et al.*, 2019), vilket indikerar att SDMA potentiellt kan vara en användbar biomarkör för nedsatt njurfunktion, även hos katt. Resultatet av en omfattande studie på hund indikerade att SDMA kan vara en användbar markör för nedsatt njurfunktion, men att dess diagnostiska prestanda är jämförbar med kreatininets och att de tillsammans kan ge en bättre bild av njurfunktionen (Pelander *et al.*, 2019). Motsvarande studier saknas hos katt.

Målet för detta examensarbete var att undersöka huruvida serumkoncentrationen av SDMA, analyserat med Catalyst SDMA Test, skiljer sig mellan azotemiska katter med misstanke om nedsatt njurfunktion, icke azotemiska katter med misstanke om nedsatt njurfunktion samt icke azotemiska katter, där ingen misstanke om nedsatt njurfunktion föreligger. Studien syftade även till att undersöka hur serumkoncentrationen av SDMA förhåller sig till serumkoncentrationen av kreatinin i studiepopulationen samt om serumkoncentrationen av SDMA varierar med kön, ålder, vikt eller Body Condition Score (BCS).

## LITTERATURÖVERSIKT

### Kronisk njursjukdom och akut njurskada

Kronisk njursjukdom definieras som kroniska morfologiska eller funktionella lesioner i en eller båda njurarna (DiBartola & Westropp, 2014). Lesionerna kan ha varierande omfattning (DiBartola & Westropp, 2014). Sjukdomsutvecklingen sker successivt tills de kompensatoriska mekanismerna inte längre kan upprätthålla njurarnas funktion, vilket innebär retention av kvävehaltiga ämnen (exempelvis kreatinin och urea), rubbningar i vätske-, elektrolyt- och syrabalansen samt nedsatt hormonproduktion (DiBartola & Westropp, 2014). Slutstadiet kallas för njursvikt (DiBartola & Westropp, 2014).

Det är viktigt att skilja akut njurskada (acute kidney injury, AKI) från kronisk njursjukdom (chronic kidney disease, CKD) eftersom AKI är ett tillstånd som kan vara reversibelt (DiBartola & Westropp, 2014). Då AKI kvarstår i upp till 3 månader kallas tillståndet akut njursjukdom (acute kidney disease, AKD) och under denna tid återhämtar sig njuren från AKI (Forni *et al.*, 2017). Hos människor anses AKI ha övergått till ett kroniskt tillstånd (CKD) om förändringarna kvarstår efter 3 månader (Forni *et al.*, 2017). Då har ofta polyuri och polydipsi pågått under en tid, och eventuellt kan en försämring i hull och pälskvalitet ses (DiBartola & Westropp, 2014). Akut njurskada uppstår bland annat vid nedsatt renal perfusion, minskad glomerulär filtration eller vid skada på tubuli på grund av ischemi, toxiska substanser, obstruktion, inflammation, ödem eller fibros (Newman, 2012). Nedsatt glomerulär filtration och tubulär sekretion leder bland annat till ökade koncentrationer av kalium i serum, minskat pH i blodet (metabolisk acidosis), ackumulering av restsubstanser i blodet (exempelvis urea, kreatinin, guanidiner och fenolsyror) och hypertension (Newman, 2012). Resultatet kan bli uremi, ett toxiskt tillstånd med multisystemiska lesioner som exempelvis endotelskador (infarkter, ödem) och slemhinneskador (stomatit, gastrit) (Newman, 2012).

Vid CKD kan dessutom produktionen av erythropoetin minska, vilket leder till minskad bildning av erythrocyter och därmed en icke regenerativ anemi (Newman, 2012). De ackumulerade restsubstanserna har även en toxisk effekt på erythrocyterna, vilket förkortar deras livslängd och ytterligare bidrar till utvecklingen av anemi (Newman, 2012).

Nedsatt glomerulär filtration påverkar även kalcium-fosfat-balansen (Elliott *et al.*, 2017). I de tidigare stadierna av CKD bibehålls normala koncentrationer av kalcium och fosfat genom förhöjda nivåer av hormonerna parathormon (PTH) och fibroblast growth factor 23 (FGF-23) (Elliott *et al.*, 2017). Parathormon motverkar hypokalcemi, och även delvis hyperfosfatemi, genom att frisätta kalcium och fosfat från skelettet, minska utsöndringen av kalcium och öka utsöndringen av fosfat genom njurarna, öka resorptionen av kalcium och minska resorptionen av fosfat i tubuli, samt öka produktionen av kalcitriol, vilket ökar absorptionen av kalcium och fosfat från tarmen (Elliott *et al.*, 2017). Då njurfunktionen minskat kraftigt bidrar dock PTH till hyperfosfatemin genom frisättning av fosfat från skelettet och absorption av fosfat från tarmen samtidigt som förmågan att utsöndra fosfat minskar (Elliott *et al.*, 2017). Fibroblast growth factor 23 motverkar hyperfosfatemi genom att öka utsöndringen av fosfat i njurarna, minska frisättningen från skelettet genom att hämma produktionen av PTH samt minska absorptionen från tarmen genom att hämma produktionen av kalcitriol (Elliott *et al.*, 2017). I de senare sta-

dierna av CKD ses hyperfosfatemi, renal osteodystrofi samt metastatiska och dystrofiska förkalkningar i lungor och pleura, men även njurar, vilket ytterligare förvärrar njursjukdomen (Elliott *et al.*, 2017).

### **Prevalens och mortalitet**

Prevalensen för CKD hos katt beräknades till 1,2 % i en population bestående av 353 448 katter i Storbritannien (Conroy *et al.*, 2019). Prevalensen för CKD ökade med stigande ålder; den var 0,1 % hos katter <9 år, jämfört med 3,6 % hos katter ≥9 år. I studien var prevalensen högst (5 %) hos katter av rasen Burma. Medianåldern vid tidpunkten för diagnos var 14,8 år, en majoritet (66,6 %) hade då kliniska tecken på njursjukdom, där de vanligast förekommande sjukdomstecknen var avmagring, polydipsi och polyuri. De katter som följdes upp minst en gång efter att de fått diagnosen överlevde i genomsnitt 388 dagar efter tidpunkten för diagnosen.

Den proportionella mortaliteten för njursjukdom uppskattades till 12,1 % i en population med 3 309 katter i Storbritannien och var den näst vanligaste orsaken till dödsfall, efter trauma (O'Neill *et al.*, 2015). För katter >5 år var njursjukdom den allra vanligaste orsaken (13,6 %). Medianåldern för dödsfall på grund av njursjukdom beräknades till 15,1 år. I en annan studie undersöktes olika orsaker till dödsfall i en svensk population med 49 450 försäkrade katter (4 591 dödsfall) ≤13 år gamla (Egenvall *et al.*, 2009). Sjukdom från njurar/uretärer visades då vara den vanligaste orsaken till avlivning/dödsfall och den proportionella mortaliteten för sjukdom i njurar/uretärer beräknades vara 16 %.

### **Effekter på livskvalitet**

Att livskvaliteten försämras på flera olika sätt när katter drabbas av CKD visade resultatet av en studie där data från en enkätundersökning analyserats (Bijsmans *et al.*, 2016). Enkäten besvarades av ägare till 204 katter, varav 99 unga friska katter, 35 äldre friska katter samt 70 katter med CKD. Ett sämre resultat sågs hos katter med CKD, jämfört med unga friska katter, i kategorierna generell hälsa (illamående, smärta, rörlighet, avföring), foderintag (hur mycket de tyckte om sin mat, aptit och svårigheter att äta), beteende (lycka/glädje, lekfullhet, jakt och klösande) och hantering (vid besök hos veterinären). Katter med CKD uppvisade även ett sämre resultat i kategorierna foderintag (hur mycket de tyckte om sin mat och aptit) och hantering (vid besök hos veterinären), jämfört med äldre friska katter.

### **Diagnos**

Diagnosen CKD hos katt baseras ofta på en ökad koncentration av kreatinin i serum (>140 µmol/l), en låg urindensitet (<1,035) samt evidens för att dessa förändringar pågått under en längre tid (flera veckor eller månader), alternativt att katten haft kliniska tecken på CKD under en längre period (Sparkes *et al.*, 2016).

Ovanstående kriterier är dock inte tillräckliga för att diagnosticera samtliga individer med CKD (Sparkes *et al.*, 2016). En del katter har strukturella förändringar på njurarna utan att vara varken azotemiska eller ha låg urindensitet, och katter med CKD kan vara azotemiska och samtidigt ha normal urindensitet, eller tvärtom (Sparkes *et al.*, 2016). Koncentrationen av kreatinin kan

dessutom vara kontinuerligt förhöjd i förhållande till kattens normala värde men ändå befinna sig innanför referensintervallet (Sparkes *et al.*, 2016).

Med dessa komplicerande faktorer i åtanke har International Society of Feline Medicine (ISFM) tagit fram följande diagnostiska riktlinjer för att identifiera etiologi, komplikationer samt andra eventuella samexisterande sjukdomar vid misstänkt CKD hos katt:

- Noggrann anamnes
- Allmän klinisk undersökning inklusive hydreringsstatus, Body Condition Score (BCS) samt notering om eventuell förändring i kroppsvikt jämfört med tidigare besök
- Urinanalys; urindensitet, urinsticka, urinsediment, urinprotein/urinkreatinin-kvot och bakterieodling (om indikerat)
- Blodanalys; protein, urea, kreatinin, elektrolyter ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^-$ ), hematologi, eventuellt även totalt T4 (om äldre katt), leverenzymmer och blodgaser
- Blodtrycksmätning och okulär undersökning
- Bilddiagnostik (företrädesvis ultraljud) för bedömning av strukturella förändringar, obstruktion eller andra lesioner
- Eventuellt biopsi eller finnålsaspirat av njurvävnad (Sparkes *et al.*, 2016)

### **Stadier av kronisk njursjukdom**

International Renal Interest Society (IRIS) har tagit fram riktlinjer för indelning av patienter med CKD i olika stadier av sjukdomen baserat på koncentrationen av kreatinin och/eller SDMA i serum, då patienten är stabil (International Renal Interest Society, 2019). Nedan följer en tabell över de olika stadierna för katter med CKD.

Tabell 1. *Indelning av olika stadier av kronisk njursjukdom hos katt, baserat på riktlinjer framtagna av International Renal Interest Society (2019)*

<b>Stadie</b>	<b>Kreatinin i serum (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	<b>SDMA i serum (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	<b>Kommentar</b>
<b>1</b>	<140	<0,89	Ej azotemi. Normalt eller lindrigt förhöjt SDMA. Renal avvikelse (exempelvis nedsatt förmåga att koncentrera urin, fynd vid bildiagnostik eller renal proteinuri).
<b>2</b>	140-250	0,89-1,24	Lindrig renal azotemi. Lindrigt förhöjt SDMA. Inga eller lindriga kliniska tecken.
<b>3</b>	251-440	1,29-1,88	Måttlig renal azotemi. Antalet och allvarlighetsgraden av extrarenala sjukdomstecken varierar.
<b>4</b>	>440	>1,93	Kraftig renal azotemi. Ökande risk för systemiska sjukdomstecken och uremi.

Utöver analys av kreatinin och/eller SDMA vid minst två olika tillfällen rekommenderar IRIS även mätning av blodtryck samt analys av urinprotein/urinkreatinin-kvot för mer noggrann bedömning av sjukdomsstadie (International Renal Interest Society, 2019).

## Prognos

Prognos för katter med CKD varierar beroende på vilket stadie som katten bedöms finnas i vid tidpunkten för diagnos (Syme *et al.*, 2006; Boyd *et al.*, 2008; Geddes *et al.*, 2015). Se Tabell 2 för en sammanställning, baserad på resultat från tre olika studier, av överlevnadstid för katter med CKD.

Tabell 2. Sammanställning av median överlevnadstid i dagar från tidpunkten för diagnos av kronisk njursjukdom. Antal katter i respektive studie redovisas inom parentes

Studie	Stadie 2	Stadie 3	Stadie 4
Syme <i>et al.</i> (2006)	504 (7)	154 (13)	57 (12)
	987 (3)	281 (5)	21 (1)
	187 (12)		
Boyd <i>et al.</i> (2008)	1151 (78)	778 (69)	103 (64)
Geddes <i>et al.</i> (2015)	490 (148)	263 (55)	20 (11)

## Glomerulär filtrationshastighet

Glomerulär filtrationshastighet (GFR) är den totala filtrationshastigheten för båda njurarna, med andra ord summan av filtrationen av samtliga funktionella nefron, vilket anses göra GFR till den bästa variabeln för bedömning av mängden funktionell njurvävnad (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

## Clearance

Glomerulär filtrationshastighet kan uppskattas genom mätning av clearance av olika substanser (DiBartola & Westropp, 2014). Begreppet clearance innebär volymen plasma som "renas" från substansen genom filtrering av glomeruli per minut (DiBartola & Westropp, 2014). En substans som filtreras fritt i glomeruli men varken resorberas eller sekreras i tubuli (vilket innebär att den filtrerade mängden är likvärdig med den utsöndrade mängden) har ett clearance-värde som motsvarar GFR (DiBartola & Westropp, 2014). En optimal markör för GFR binder dessutom inte till plasmaproteiner, är inte toxisk och kan själv inte påverka GFR (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

En injektion eller infusion av substansen ges vanligtvis intravenöst och därefter kan clearance mätas antingen genom analys av mängden av substansen i urin, vilket kräver samling av all producerad urin under en viss tid, eller genom att analysera hur koncentrationen av substansen minskar i plasma över tid, vilket kräver en eller flera blodprovstagningar (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011). Exempel på substanser som kan användas är inulin (anses vara den gyllene standarden för uppskattning av GFR), iohexol, kreatinin samt radioaktiva isotoper (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

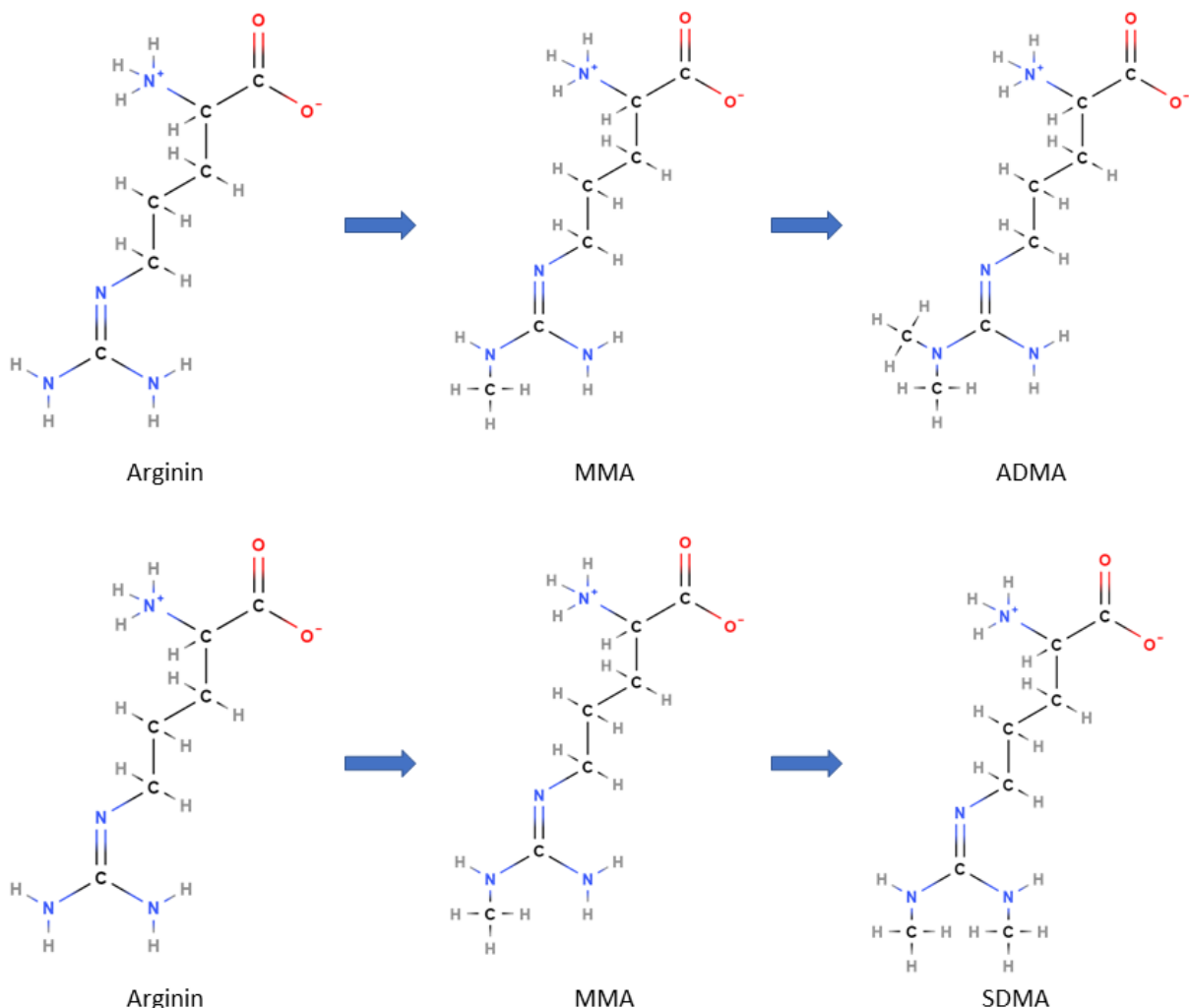
## Scintigrafi

Radioaktiva isotoper, exempelvis *chromium-51-ethylenediaminetetraacetic acid* ( $^{51}\text{Cr}$ -EDTA) eller *technetium-99m-diethylenetriaminepentaacetic acid* ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA), kan även användas för att uppskatta GFR genom scintigrafi (DiBartola & Westropp, 2014). En fördel med denna metod är att den ger information om funktionen hos varje individuell njure (DiBartola &

Westropp, 2014). Scintigrafi innebär att det procentuella upptaget av isotoperna mäts i njurarna med hjälp av en gammakamera (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011). Scintigrafi kräver dock tillstånd för att bedriva nukleärmedicinsk verksamhet samt erfarenhet för att kunna göra en korrekt bedömning (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

## Symmetriskt dimetylarginin

Symmetriskt dimetylarginin (SDMA) bildas från aminosyran arginin vid metylering av protein (Bedford & Richard, 2005). Först kopplas en metylgrupp (-CH<sub>3</sub>) till en av arginins kväveatomer, vilket resulterar i monometylarginin (MMA) (Bedford & Richard, 2005). Därefter kopplas ytterligare en metylgrupp till en kväveatom, beroende på vilket enzym som katalyserar reaktionen bildas då antingen asymmetriskt dimetylarginin (ADMA) eller symmetriskt dimetylarginin (SDMA), se Figur 1 (Bedford & Richard, 2005). Då proteinet bryts ned frigörs ADMA och SDMA (Bedford & Richard, 2005).



Figur 1. Strukturformler för arginin, monometylarginin (MMA), asymmetriskt dimetylarginin (ADMA) samt symmetriskt dimetylarginin (SDMA). Pilarna beskriver hur MMA, ADMA respektive SDMA bildas från arginin. Strukturformlerna har ritats med hjälp av webbsidan <http://molview.org>, baserat på figur från Bedford & Richard (2005), s. 264.

### **Proteinbindningsgrad, utsöndring och metabolism**

I en studie på människor har SDMA visats ha en relativt hög bindningsgrad till plasmaproteiner (65 %) (Böger & Zoccali, 2003). Medelkoncentrationen av SDMA i plasma sjönk från 0,71 till 0,39  $\mu\text{mol/l}$  då proverna behandlades med triklorsyra för framkallning av proteinutfällning före analys.

Ett högt clearance för SDMA (36,5 nmol/min) samt en låg koncentration av SDMA (0,3  $\mu\text{mol/l}$ ) i serum från människor sågs i en studie, vilket tolkades som att substansen i stor utsträckning utsöndras via njurarna (Kakimoto & Akazawa, 1970). Liknande slutsatser drogs i en annan studie där höga koncentrationer av SDMA i urin (3,1  $\mu\text{mol/l}$ ) samt låga koncentrationer i plasma (0,3  $\mu\text{mol/l}$ ) sågs hos kaniner (McDermott, 1976). Efter en intravenös injektion av SDMA samlades urin under 6 dagar och totalt återfanns 66 % av den injicerade mängden SDMA i urinen.

Råttor injicerade med radioaktivt SDMA utsöndrade 84 % av substansen i urinen inom 48 timmar, både i oförändrad form samt i form av metaboliter (Ogawa *et al.*, 1987). Mindre mängder av SDMA och dess metaboliter hittades även främst i njurar, lever och pancreas. Dessa resultat indikerar att SDMA metaboliseras till en viss grad i råttor.

### **Biologiska effekter av SDMA**

Sedan de metylerade varianterna av arginin isolerades för första gången (Kakimoto & Akazawa, 1970) har många studier fokuserat på de biologiska effekterna av ADMA. Det ansågs dock länge att SDMA endast var en biologiskt inert biprodukt från proteinmetylering. Först på 90-talet publicerades studier som visade att SDMA har en indirekt hämmande effekt på kväveoxidsyntesen. En studie på makrofager och fibroblaster från gnagare samt oocyter från grodor visade att SDMA konkurrerar med arginin om samma transportör över plasmamembran (Closs *et al.*, 1997). Då extracellulärt SDMA transporteras in i cellen skickas samtidigt intracellulärt arginin ut ur cellen, vilket innebär att cellen töms på arginin. I njurar hos råttor har SDMA dessutom visats hämma tubulär absorption av arginin (Tojo *et al.*, 1997). Eftersom arginin är substrat för enzymet kväveoxidsyntas leder detta till en minskad produktion av kväveoxid (Closs *et al.*, 1997). Kväveoxid har bland annat en vasodilaterande effekt och påverkar därmed blodtrycket (Ware, 2014).

Studier har visat att SDMA även har en proinflammatorisk effekt. I monocyter har SDMA visats stimulera produktionen av reaktiva syreföreningar (ROS) genom att öka upptaget av  $\text{Ca}^{2+}$ , vilket potentiellt kan leda till vaskulär skada (Schepers *et al.*, 2009). I en senare studie ökade aktiviteten hos *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF- $\kappa$ B) samt uttrycket av interleukin 6 (IL-6) och *tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) i monocyter då dessa inkuberades med SDMA (Schepers *et al.*, 2011). Samma studie påvisade ett signifikant samband mellan SDMA och TNF- $\alpha$  hos 142 människor med CKD. Dessa resultat tolkades som att SDMA är involverat i den inflammatoriska process som pågår vid CKD.



## **Analys av SDMA**

### *Vätskekromatografi-Masspektrometri (LC-MS)*

Vätskekromatografi är en separationsmetod där ett prov transporteras med hjälp av en mobilfas (en lösning) genom en kolonn som är fylld eller belagd med en stationärfas (Harris, 2007). Ju starkare en molekyl binder till stationärfasen desto längre tid tar det innan den lämnar kolonnen (så kallad retentionstid) och på så sätt separeras de olika substanserna i provet från varandra (Harris, 2007). Kolonnen kan kopplas till en masspektrometer för kvalitativ och kvantitativ detektion av substanserna i provet (Harris, 2007). I masspektrometern omvandlas molekylerna till joner som därefter träffar ett magnetiskt fält, vilket separerar jonerna efter massa och laddning (Harris, 2007).

En analys med LC-MS resulterar i ett kromatogram med tid på x-axeln och intensitet på y-axeln (Harris, 2007). I kromatogrammet ses en rad toppar som representerar de olika separerade substanserna, där arean för varje topp är proportionell mot mängden av respektive substans (Harris, 2007). För varje tidpunkt i kromatogrammet skapas även ett masspektrum över de olika jonerna som detekterats, med massa-laddningskvot ( $m/z$ ) på x-axeln och intensitet på y-axeln (Harris, 2007).

Ett exempel på analys av SDMA med LC-MS beskrivs i en studie av Hall *et al.* (2014a). Med den kolonn, mobilfas och inställningar som användes i studien blev retentionstiden för SDMA 1,72 minuter och SDMA fragmenterades till joner med  $m/z = 203,1$  till  $172,1$ .

### *Immunologiska analysmetoder*

Principen för immunologiska analysmetoder utgörs av bildning av antikropps-antigen-komplex, vilket antingen genererar eller reducerar en signal, vars intensitet är relaterad till mängden antigen i provet (Wild, 2013). Signalen kan exempelvis komma från en enzymatisk reaktion (Wild, 2013).

Kompetitiva homogena metoder är en form av immunologiska analysmetoder där antigen från provet tävlar med enzymmärkta antigen om att binda till antikroppar (Wild, 2013). Att metoden är homogen innebär att den kan skilja på fria enzymer och enzymer bundna till antikroppar (den mäter endast signalen från de bundna) utan att kräva en separation av dessa (Wild, 2013). Ett exempel på en sådan metod är IDEXX SDMA Test som utgörs av monoklonala anti-SDMA-antikroppar och SDMA märkt (konjugerat) med enzymet *glucose-6-phosphate dehydrogenase* (Prusevich *et al.*, 2015). Metoden kan analysera koncentrationen av SDMA i serum och plasma inom intervallet  $0,25$ - $4,94 \mu\text{mol/l}$  (Prusevich *et al.*, 2015). Analyserna utförs endast vid företagets egna referenslaboratorier (Prusevich *et al.*, 2015). Då testet jämfördes med LC-MS genom att 280 serumprover från katter analyserades med båda metoderna uppvisade metoderna jämförbara resultat ( $r = 0,97$ ) (Patch *et al.*, 2015).

Samma företag använder även en annan typ av teknik med olika slides innehållande bland annat reagenter för att analysera SDMA inom koncentrationsintervallet  $0$ - $4,94 \mu\text{mol/l}$  (IDEXX Laboratories, Inc., 2018). Metoden kallas Catalyst SDMA Test och kan köras på serum, plasma eller helblod på klinikens eller sjukhusets egna instrument av samma tillverkare (IDEXX Laboratories, Inc., 2018). Metoden jämfördes med LC-MS genom analys av SDMA i 113

serumprov från katter och en signifikant korrelation påvisades mellan metodernas resultat ( $r = 0,94$ ) (Bilbrough *et al.*, 2018).

En annan typ av immunologisk analysmetod är *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), vilket är en heterogen analys som bygger på att ett antigen eller en antikropp binds till en fast fas och på så sätt kan fria enzymerkädda antigen eller antikroppar skiljas från enzymerkädda bundna komplex (Wild, 2013). Att metoden är heterogen innebär att det krävs att fria och komplexbundna enzymer separeras från varandra för att säkerställa att endast de komplexbundna mäts (Wild, 2013). Ett exempel på en sådan analys är DLD SDMA vet ELISA där SDMA är bundet till den fasta fasen på en microtiterplatta (DLD Diagnostika, 2019). När prov (serum eller plasma) tillsätts konkurrerar SDMA i provet med SDMA bundet till den fasta fasen om att binda till anti-SDMA-antikroppar. Plattan inkuberas och tvättas med en buffertlösning för att skölja bort fria SDMA-antikropp-komplex. Ett enzym (peroxidas) tillsätts och binder till de SDMA-antikropp-komplex som är bundna till den fasta fasen. Därefter tvättas de fria enzymerna bort och ett substrat (tetrametylbenzidin) tillsätts, vilket leder till en reaktion som kan mätas med en fotometer vid 450 nm. Mängden antikroppar som bundit till SDMA på den fasta fasen är omvänt proportionell till mängden SDMA i provet. Metoden kan mäta koncentrationer av SDMA från 0,03  $\mu\text{mol/l}$ . Enligt en studie av tillverkaren korrelerar metoden väl med LC-MS ( $r = 0,97$ ) (DLD Diagnostika, 2019).

#### *Referensintervall*

Flertalet av studierna som omnämns i detta arbete använder ett övre gränsvärde för SDMA på 0,69  $\mu\text{mol/l}$  för katter, oavsett analysmetod. Detta värde baseras på en studie där koncentrationen av SDMA analyserades med LC-MS i serum från 86 kliniskt friska, vuxna katter (6-15 år gamla) av varierande kön, ras och vikt (Relford *et al.*, 2016). Siffrorna kommer från opublicerade interna data från IDEXX (Relford *et al.*, 2016).

Producenten av testet anger referensintervallet 0-0,69  $\mu\text{mol/l}$  för katter, kattungar ( $\leq 12$  månader) och hundar och intervallet 0-0,79  $\mu\text{mol/l}$  för valpar ( $\leq 12$  månader), för IDEXX SDMA Test (IDEXX Laboratories, Inc., 2017). Dessa referensintervall baseras på opublicerade interna data från IDEXX (IDEXX Laboratories, Inc., 2017).

Enligt IRIS kan persistent förhöjda koncentrationer av SDMA ( $>0,69 \mu\text{mol/l}$ ) användas för att diagnosticera tidig CKD, och SDMA  $<0,89 \mu\text{mol/l}$  bör tolkas som att katten är i stadie 1 (International Renal Interest Society, 2019). För information om övriga stadier, se Tabell 1 under avsnittet *Stadier av kronisk njursjukdom*.

#### **SDMA hos katt**

En signifikant högre koncentration av SDMA i plasma sågs hos azotemiska katter jämfört med icke azotemiska katter i en studie med totalt 69 katter (Jepson *et al.*, 2008). En måttlig korrelation påvisades även mellan koncentrationen av SDMA och kreatinin i plasma ( $r = 0,69-0,74$ ). Analyserna utfördes med LC-MS.

I en pilotstudie med 10 katter, friska och azotemiska, hade katterna med lägst GFR högst koncentrationer av SDMA i serum (Braff *et al.*, 2014). Linjära samband påvisades mellan  $1/\text{SDMA}$

och GFR ( $r = 0,91$ ), mellan  $1/\text{kreatinin}$  och GFR ( $r = 0,90$ ) samt mellan SDMA och kreatinin ( $r = 0,85$ ). Koncentrationen av SDMA i serum analyserades med LC-MS och GFR uppskattades genom mätning av clearance av iohexol.

I en jämförande studie undersöktes sambandet mellan SDMA, kreatinin och GFR hos 21 katter med CKD och 21 friska katter (Hall *et al.*, 2014a). Koncentrationen av SDMA analyserades med LC-MS. Signifikanta korrelationer påvisades mellan GFR, som uppskattades genom mätning av clearance av iohexol, och koncentrationen av SDMA ( $r = -0,79$ ) respektive kreatinin ( $r = -0,77$ ) i serum. Dessutom korrelerade SDMA och kreatinin signifikant ( $r = 0,72$ ). Hos 17 av 21 katter med CKD ökade koncentrationen av SDMA tidigare än kreatinin, med ett medelvärde på 17 månader. Medelkoncentrationen av SDMA i serum från friska katter låg på  $0,49 \mu\text{mol/l}$  och varierade mellan  $0,36-0,61 \mu\text{mol/l}$ . Den övre gränsen för referensintervallet för SDMA ( $0,69 \mu\text{mol/l}$ ) motsvarade en minskning av GFR med 24 % från medianvärdet. Motsvarande beräkningar för kreatinin (övre gräns för referensintervall  $185,6 \mu\text{mol/l}$ ) motsvarade en minskning av GFR med 60 %. I studien tolkades en minskning av GFR med  $>30$  % som CKD och beräkningar vid tröskelvärde  $0,69 \mu\text{mol/l}$  för SDMA respektive  $185,6 \mu\text{mol/l}$  för kreatinin visade en högre sensitivitet för SDMA (100 %) jämfört med kreatinin (17 %), men lägre specificitet (91 % jämfört med 100 %) och lägre positivt prediktivt värde (89 % jämfört med 100 %) för SDMA jämfört med kreatinin.

En annan studie undersökte hur GFR samt koncentrationen av SDMA och kreatinin varierar med ålder hos 32 friska katter (Hall *et al.*, 2014b). Koncentrationen av SDMA analyserades med LC-MS och GFR uppskattades genom mätning av clearance av iohexol. Koncentrationen av SDMA i serum ökade ( $r = 0,38$ ) medan GFR ( $r = -0,31$ ) och kreatinin ( $r = -0,42$ ) minskade med ökande ålder. Medelkoncentrationen av SDMA var  $0,78 \mu\text{mol/l}$  hos katter  $<12$  år,  $0,72 \mu\text{mol/l}$  vid 12-15 år respektive  $1,10 \mu\text{mol/l}$  vid  $>15$  år. Signifikanta samband sågs mellan GFR och SDMA ( $r = -0,72$ ), mellan GFR och kreatinin ( $r = -0,50$ ) samt mellan SDMA och kreatinin ( $r = 0,41$ ).

Då koncentrationen av SDMA samt kreatinin analyserades i serum hos 43 katter med njursten samt hos 21 friska katter visade resultatet att SDMA var förhöjt ( $\geq 0,69 \mu\text{mol/l}$ ) vid minst ett tillfälle hos 39 av 43 (91 %) katter med njursten (Hall *et al.*, 2017). Motsvarande siffra för kreatinin var 18 av 43 (42 %). Koncentrationen av SDMA analyserades med LC-MS och medelkoncentrationen var  $0,49 \mu\text{mol/l}$  ( $0,36-0,61$ ) hos de friska katterna, vilket kan jämföras med  $0,83 \mu\text{mol/l}$  ( $0,65-1,24$ ) hos katterna med njursten vid tidpunkten för diagnos. Av de katter som diagnosticerades med njursten antemortem hade 92 % förhöjt SDMA vid tidpunkten för diagnosen och av de som diagnosticerades postmortem hade 74 % förhöjt SDMA. Motsvarande siffror för kreatinin var 17 respektive 35 %. SDMA passerade dessutom det övre referensvärdet ( $0,69 \mu\text{mol/l}$ ) med ett medelvärde på 26,9 månader tidigare jämfört med kreatinin ( $185,6 \mu\text{mol/l}$ ). I studien tolkades förekomst av njursten som CKD och beräkningar vid tröskelvärde  $0,69 \mu\text{mol/l}$  för SDMA respektive  $185,6 \mu\text{mol/l}$  för kreatinin visade en högre sensitivitet för SDMA (91 %) jämfört med kreatinin (42 %). Specificiteten beräknades till 100 % för SDMA men kommenterades ej för kreatinin.

Koncentrationen av SDMA och kreatinin i serum analyserades i en studie med 50 birmakatter och 46 katter av andra raser, samtliga utan kliniska tecken på njursjukdom (Paltrinieri *et al.*, 2018). Koncentrationen av SDMA analyserades med en immunologisk metod och resultatet visade att birmakatter har signifikant högre koncentration av både kreatinin och SDMA jämfört med andra raser. Medelkoncentrationen av SDMA var 0,60  $\mu\text{mol/l}$  (0,46-0,74) för birmakatterna, respektive 0,51  $\mu\text{mol/l}$  (0,39-0,63) för övriga raser. Ett av inklusionskriterierna för katterna av andra raser var dock ”normalt kreatininvärde”, vilket med stor sannolikhet har påverkat resultatet. 20 % av birmakatterna låg över referensintervallet för SDMA ( $>0,69 \mu\text{mol/l}$ ) jämfört med 8,7 % av de övriga raserna. Ett rasspecifikt referensintervall på 0,17-0,95  $\mu\text{mol/l}$  beräknades för SDMA hos birmakatter.

Studier har även undersökt huruvida koncentrationer av SDMA kan förutsäga vilka hypertyroida katter som utvecklar azotemi efter behandling med radioaktiv jod. I en studie analyserades SDMA och kreatinin i serum från 262 hypertyroida katter, före samt vid flera tillfällen efter behandling med radioaktivt jod, samt från 206 kliniskt friska katter (Peterson *et al.*, 2018). Koncentrationen av SDMA analyserades med en kompetitiv homogen immunologisk metod (IDEXX SDMA Test). Före behandlingen hade de hypertyroida katterna lägre koncentrationer av SDMA och kreatinin jämfört med friska katter, efter behandlingen hade de istället högre värden jämfört med de friska. Efter behandlingen utvecklade 42 av katterna (16 %) azotemi (kreatinin  $>185,6 \mu\text{mol/l}$ ), varav 14 uppvisade förhöjda koncentrationer av SDMA ( $>0,69 \mu\text{mol/l}$ ) innan behandlingen. Utifrån dessa resultat estimerades SDMA ha en sensitivitet på 33,3 % och en specificitet på 97,7 % (när gränsvärdet  $>0,69 \mu\text{mol/l}$  användes) för att diagnosticera maskerad CKD hos hypertyroida katter.

En annan studie analyserade SDMA och kreatinin hos 84 katter med hypertyreos och jämförde dessa variabler vid flera tillfällen efter behandling med radioaktivt jod (DeMonaco *et al.*, 2019). Koncentrationen av SDMA analyserades med en kompetitiv homogen immunologisk metod (IDEXX SDMA Test). Även i denna studie sågs ett samband mellan förhöjt SDMA ( $>0,69 \mu\text{mol/l}$ ) före behandlingen och utveckling av azotemi (kreatinin  $>203,3 \mu\text{mol/l}$ ) efter behandlingen. Resultaten visade en sensitivitet på 15,4 % och en specificitet på 94,4 % för SDMA (när gränsvärdet  $>0,69 \mu\text{mol/l}$  användes) för att diagnosticera maskerad CKD.

I en liknande men mindre studie provtogs 47 hypertyroida icke azotemiska katter vid två tillfällen, före respektive efter behandling med radioaktivt jod (Buresova *et al.*, 2019). Koncentrationen av SDMA i serum analyserades hos samtliga katter med en kompetitiv homogen immunologisk metod (IDEXX SDMA Test) och GFR uppskattades hos 10 av katterna genom mätning av clearance av kreatinin. Samtliga katter förblev icke azotemiska efter behandlingen men GFR minskade signifikant. Inget signifikant samband sågs dock mellan koncentrationen av SDMA och GFR. Dessutom normaliserades förhöjda koncentrationer av SDMA ( $>0,69 \mu\text{mol/l}$ ) hos 4 av 6 katter efter behandlingen.

### **SDMA hos andra djurslag**

En studie undersökte hur koncentrationen av SDMA i plasma förändras då mängden funktionell njurvävnad minskar hos människor, möss och råttor (Al Banchaabouchi *et al.*, 2000). Kon-

centrationen av SDMA analyserades med vätskekromatografi kopplat till en fluorescensdetektor. En signifikant ökning av SDMA sågs hos människor med varierande grad av nedsatt njurfunktion. Hos råttor och möss ökade SDMA signifikant då 40 respektive 70 % eller mer av njurfunktionen var förlorad. Liknande resultat presenterades i en annan studie, där koncentrationen av SDMA i plasma från råttor ökade signifikant då 4/6 eller mer av njurvävnaden avlägsnats (Matsuguma *et al.*, 2006).

Sambandet mellan koncentrationen av SDMA i plasma och mängden funktionell njurvävnad undersöktes även i en studie med 15 hundar (Tatematsu *et al.*, 2007). Resultatet visade att SDMA ökade signifikant med minskande mängd njurvävnad och signifikanta samband påvisades mellan SDMA och GFR ( $r = -0,85$ ) samt mellan kreatinin och GFR ( $r = -0,75$ ), där SDMA analyserats med vätskekromatografi kopplat till en fluorescensdetektor och GFR uppskattats genom mätning av clearance av inulin.

I en meta-analys sammanställdes information från 18 olika studier med sammanlagt 2136 humanpatienter med olika sjukdomar, inklusive CKD (Kielstein *et al.*, 2006). Resultatet visade signifikanta samband mellan koncentrationen av SDMA i blod och clearance av inulin ( $r = 0,85$ ) samt mellan SDMA och kreatinin ( $r = 0,75$ ).

Ett signifikant samband mellan koncentrationen av SDMA i plasma och kreatinin i serum ( $r = 0,46$ ) påvisades även i en studie med totalt 76 hundar, varav 32 var kliniskt friska och 44 hade varierande grad av mitralisinsufficiens (Pedersen *et al.*, 2006). Analysen av SDMA utfördes med vätskekromatografi kopplat till en fluorescensdetektor. Då kreatinin uteslöts som variabel blev dock även ”justerad kroppsvikt” (kroppsvikt korrigerad för under- eller övervikt) signifikant korrelerat med SDMA ( $r = 0,32$ ). Övriga undersökta variabler (bland annat kön och ålder) uppvisade inget samband med SDMA.

En prospektiv studie följde 8 hundar med anlag för att utveckla njursjukdom (varav 3 avlivades innan studien avslutats) samt 4 hundar från samma kull som saknade anlaget (Nabity *et al.*, 2015). Varje hund provtogs vid tre till fem olika tillfällen och koncentrationen av SDMA i serum analyserades med LC-MS och jämfördes med koncentrationen av kreatinin och GFR som uppskattades genom mätning av clearance av iohexol. Efter 20 veckors ålder ökade SDMA signifikant hos hundarna med anlaget. Signifikanta samband sågs även mellan GFR och SDMA ( $r = -0,95$ ) samt mellan GFR och kreatinin ( $r = -0,98$ ) hos hundar med anlaget. Däremot sågs inget signifikant samband mellan SDMA och övriga variabler hos hundarna som saknade anlaget. SDMA steg över sitt referensintervall ( $>0,69 \mu\text{mol/l}$ ) 4,8 veckor tidigare än kreatinin ( $>106,1 \mu\text{mol/l}$ ), samt 4,1 veckor innan GFR sjönk under  $2 \text{ ml/min/kg}$ . En koncentration av SDMA på  $0,69 \mu\text{mol/l}$  (övre gränsen för referensintervallet) beräknades motsvara en minskning av GFR med ca 8 % (6-24 %), medan en koncentration av kreatinin på  $106,1 \mu\text{mol/l}$  (övre gränsen för referensintervallet) beräknades motsvara en minskning av GFR med ca 48 % (39-68 %).

I en annan studie ingick 19 hundar med CKD och varierande grad av azotemi samt 20 friska hundar (Hall *et al.*, 2016). Koncentrationen av SDMA i serum analyserades med LC-MS och jämfördes med koncentrationen av kreatinin och resultatet visade ett linjärt samband ( $r = 0,84$ ).

Signifikanta samband påvisades även mellan GFR och SDMA ( $r = -0,80$ ) samt mellan GFR och kreatinin ( $r = -0,89$ ), där GFR uppskattats med hjälp av clearance av iohexol. Hos 17 av 19 hundar med CKD steg SDMA över referensintervallet ( $>0,69 \mu\text{mol/l}$ ) med ett medelvärde på 9,8 månader tidigare än kreatinin ( $>123,8 \mu\text{mol/l}$ ). I studien beräknades  $0,69 \mu\text{mol/l}$  SDMA motsvara en minskning av GFR med 49 %, medan  $123,8 \mu\text{mol/l}$  kreatinin motsvarade en minskning med 75 %.

Kreatinins och SDMAs användbarhet som markörer för nedsatt GFR utvärderades i en studie med 67 hundar med konstaterad eller misstänkt CKD och 30 friska hundar (Pelander *et al.*, 2019). Koncentrationen av SDMA analyserades med en kompetitiv homogen immunologisk metod (IDEXX SDMA Test) och GFR uppskattades med hjälp av scintigrafi. Signifikanta samband påträffades mellan såväl GFR och SDMA ( $r = 0,79$ ) som mellan GFR och kreatinin ( $r = 0,79$ ). När SDMA och kreatinin kombinerades ökade korrelationen med GFR ytterligare ( $r = 0,82$ ). Ett övre referensvärde på  $0,69 \mu\text{mol/l}$  för SDMA respektive  $115 \mu\text{mol/l}$  för kreatinin motsvarade en sensitivitet på 90 % för båda markörerna och en specificitet på 87 % respektive 90 %. 10 hundar klassificerades felaktigt av kreatinin, varav 7 klassificerades korrekt av SDMA. 11 hundar klassificerades felaktigt av SDMA, varav 9 klassificerades korrekt av kreatinin.

Användbarheten av SDMA som markör för CKD har även studerats hos geparder. I en studie analyserades SDMA och kreatinin i serum och plasma från 7 geparder med CKD (Lamglait & Vandebunder-Beltrame, 2017), där SDMA analyserades med en kompetitiv homogen immunologisk metod (IDEXX SDMA Test). Hos 5 av 7 geparder ökade koncentrationen av SDMA (med minst 20 % jämfört med tidigare analyser) tidigare än kreatinin steg över referensintervallet ( $>276 \mu\text{mol/l}$ ). Koncentrationen av SDMA ökade då med ett medelvärde på 21,4 månader tidigare än kreatinin. Hos övriga 2 geparder ökade SDMA och kreatinin parallellt.

I en annan studie undersöktes sambandet mellan koncentrationen av SDMA och kreatinin i serum från 11 geparder, varav 10 konstaterades ha CKD vid obduktion (Waugh *et al.*, 2018). Koncentrationen av SDMA analyserades med en kompetitiv homogen immunologisk metod (IDEXX SDMA Test). Då alla prover från samtliga individer inkluderas i samma statistiska modell sågs ett måttligt samband mellan SDMA och kreatinin ( $r = 0,83$ ), men när hänsyn togs till den stora variationen mellan olika individer sågs ett betydligt starkare samband ( $r = 0,99$ ).

## **Andra markörer för nedsatt njurfunktion hos katt**

### ***Kreatinin***

Koncentrationen av kreatinin i serum har visats korrelera signifikant med GFR i flera studier;  $r = 0,90$  hos 10 katter (Braff *et al.*, 2014),  $r = -0,77$  hos 42 katter (Hall *et al.*, 2014a) respektive  $r = -0,50$  hos 32 katter (Hall *et al.*, 2014b).

Studier har undersökt hur stor andel av njurfunktionen som är icke-funktionell då kreatinin överstiger referensintervallet genom att mäta den procentuella minskningen av GFR och dessa studier visade följande resultat; 60 % då kreatinin steg över  $185,6 \mu\text{mol/l}$  hos 21 katter med CKD (Hall *et al.*, 2014a), 39-60 % (medelvärde 48 %) då kreatinin steg över  $106,1 \mu\text{mol/l}$  hos

8 hundar med anlag för utveckling av njursjukdom (Nabity *et al.*, 2015) respektive 75 % då kreatinin steg över 123,8  $\mu\text{mol/l}$  hos 19 hundar med CKD (Hall *et al.*, 2016).

Koncentrationen av kreatinin i serum hade hög specificitet (100 %) och ett högt positivt prediktivt värde (100 %) men låg sensitivitet (17 %) för detektion av CKD, definierat som en minskning av GFR med  $>30\%$  (GFR  $<1,36\text{ ml/min/kg}$ ), då tröskelvärdet 185,6  $\mu\text{mol/l}$  användes för kreatinin, i en studie med 42 katter (Hall *et al.*, 2014a). Detta innebär att markören inte identifierar många katter med CKD, framför allt inte de som befinner sig i de mindre allvarliga stadierna av sjukdomen, men när kreatinin väl är förhöjt är det mycket stor sannolikhet att katten faktiskt har sjukdomen.

Kreatinin bildas i en takt som är direkt relaterad till mängden muskelmassa och koncentrationen av kreatinin i serum har visats variera med korrigerad kroppsvikt (så kallad *lean mass*) samt minska med ökande ålder ( $r = -0,42$ ) (Finch *et al.*, 2014; Hall *et al.*, 2014b). Koncentrationen av kreatinin varierar även beroende på djurets hydreringsgrad, typ av prov (serum eller plasma) och analysmetod, vilket ytterligare begränsar dess användbarhet som markör för CKD (Finch *et al.*, 2014).

### **Asymmetriskt dimetylarginin**

Koncentrationen av asymmetriskt dimetylarginin (ADMA) i plasma visades vara signifikant högre hos kraftigt azotemiska katter (kreatinin  $>350,1\ \mu\text{mol/l}$ ) jämfört med icke azotemiska katter i en studie med totalt 69 katter (Jepson *et al.*, 2008). Ingen signifikant skillnad sågs dock mellan icke azotemiska katter och katter med lindrigare grader av azotemi. En måttlig korrelation mellan koncentrationen av ADMA och kreatinin i plasma ( $r = 0,50-0,61$ ) påvisades.

### **Cystatin C**

Koncentrationen av Cystatin C i serum korrelerade endast svagt med GFR ( $r = 0,62$ ) och kunde inte skilja friska katter från katter med CKD i en studie med totalt 90 katter (Ghys *et al.*, 2016). Cystatin C analyserades i serum samt i urin och jämfördes med GFR som uppskattades genom mätning av clearance av iohexol och kreatinin. Katter med CKD hade signifikant högre koncentration av Cystatin C i serum samt urin Cystatin C/urinkreatinin-kvot jämfört med friska katter. Cystatin C kunde dock inte detekteras i urin hos 15 av 49 (31 %) katter med CKD, samtidigt som det kunde detekteras hos 5 av 41 (12 %) friska katter.

### **Fibroblast growth factor 23**

Azotemiska katter hade en högre koncentration av fibroblast growth factor 23 (FGF-23) i plasma jämfört med icke azotemiska katter i en studie där totalt 62 katter följdes under 12 månader (Finch *et al.*, 2013). Hos 14 av katterna utvecklades azotemi (kreatinin  $<176,8\ \mu\text{mol/l}$ ) under studiens gång och dessa hade signifikant högre koncentration av FGF-23, både vid studiens början samt efter 12 månader, jämfört med de katter som förblev icke azotemiska. Resultatet visade även en korrelation mellan FGF-23 och kreatinin ( $r = 0,38$ ) samt mellan FGF-23 och GFR ( $r = -0,47$ ).

Koncentrationen av FGF-23 i plasma hos icke azotemiska katter respektive katter med CKD av varierande stadie undersöktes i en studie med 100 katter (Geddes *et al.*, 2013). Resultatet visade

en tydlig korrelation mellan FGF-23 och kreatinin ( $r = 0,81$ ) och en signifikant skillnad i koncentrationen av FGF-23 mellan olika stadier av CKD där koncentrationen av FGF-23 ökade med ökande koncentration av kreatinin.

Koncentrationen av FGF-23 i plasma jämfördes med SDMA och kreatinin i en studie med 143 icke azotemiska (kreatinin  $<176,8 \mu\text{mol/l}$ ) katter (Sargent *et al.*, 2019). Koncentrationen av FGF-23 var signifikant högre hos de katter som hade en förhöjd koncentration av SDMA ( $>0,69 \mu\text{mol/l}$ ). Svaga korrelationer påvisades mellan koncentrationen av FGF-23 och SDMA ( $r = 0,35$ ) samt mellan FGF-23 och kreatinin ( $r = 0,23$ ). En måttlig korrelation påvisades mellan SDMA och kreatinin ( $r = 0,53$ ).

### **Parathormon**

Då koncentrationen av parathormon (PTH) analyserades i plasma från 118 icke azotemiska katter (kreatinin  $<176,8 \mu\text{mol/l}$ ) visade resultatet att renal sekundär hyperparatyreoidism kan uppstå tidigare än azotemi hos katter med CKD (Finch *et al.*, 2012). Hos de 31 katter som utvecklade azotemi var koncentrationen av PTH signifikant högre, både vid studiens början och efter utveckling av azotemi, jämfört med de katter som förblev icke azotemiska under samma tidsperiod.

### **UP/C, UA/C och NAG index**

En prospektiv studie undersökte om det finns något samband mellan proteinuri och utveckling av azotemi (Jepson *et al.*, 2009). Studien följde 118 katter och analyserade bland annat kreatinin i plasma, urinprotein/urinkreatinin-kvot (UP/C) samt urinalbumin/urinkreatinin-kvot (UA/C). Då studien började var samtliga katter icke azotemiska (kreatinin  $<176,8 \mu\text{mol/l}$ ). Inom 12 månader blev 31 % av katterna azotemiska, hos dessa sågs ingen signifikant förändring av UP/C eller UP/A jämfört med då studien började. Signifikanta skillnader sågs dock då dessa kvoter jämfördes mellan de katter som utvecklade azotemi och de som inte utvecklade azotemi vid 12 månader. Då kreatinin kombinerades med antingen UP/C eller UP/A sågs även en signifikant korrelation till utveckling av azotemi.

I samma studie undersöktes även koncentrationen av N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG) i urin (Jepson *et al.*, 2009). Urin-NAG-kreatininkvoten (NAG index) var signifikant högre hos katter som utvecklade azotemi jämfört med de som förblev icke azotemiska och svaga samband sågs mellan NAG index och UP/C respektive UA/C.

### **Övriga potentiella markörer**

Andra potentiella biomarkörer för nedsatt njurfunktion inkluderar Clusterin, Cystatin B, Neutrophil-associated lipocalin, Inosine, Kidney injury molecule-1, Retinol binding protein, Trefoil factor 3, Insulinlike growth factor binding protein-7 och Tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (Yerramilli *et al.*, 2016).



## **MATERIAL OCH METODER**

### **Prov- och datainsamling**

Från augusti till oktober 2019 insamlades serum från friska katter samt från patientkatter som varit inskrivna för undersökning och behandling av olika sjukdomstillstånd på Universitetsdjursjukhuset (UDS) vid Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) i Uppsala.

För de katter som kom till UDS som patienter erhöles ett skriftligt godkännande från djurägarna att SLU får använda journal och överblivna blodprover i utbildnings- och forskningssyfte i samband med inskrivning. Ett godkännande erhöles även från ägare till friska katter i samband med provtagning. Provtagning av de friska katterna skedde enligt ett godkännande från djurförsöksetiska nämnden (diarienummer C12/15) i samband med att de besökte UDS för att genomgå hjärtultraljud i screeningsyfte ur ett avelsperspektiv.

Målet var att rekrytera totalt 60 katter av alla raser, kön och åldrar till studien. För att friska katter skulle inkluderas i studien, fick de inte ha någon känd historia av njurrelaterade eller systemiska sjukdomar, och de fick vid provtagningstillfället, enligt anamnes och en allmän klinisk undersökning, inte uppvisa några tecken på sjukdom eller dehydrering. Patientkatter med olika sjukdomar och skador samt olika diagnoser rekryterades. För att patientkatter skulle inkluderas i studien krävdes att koncentrationen av kreatinin i serum hade analyserats i samband med besöket på UDS samt att tillräcklig volym överblivet serum ( $\geq 100 \mu\text{l}$ ) för analys av SDMA fanns att tillgå. Dessa katter identifierades genom att överblivna serumprover samlades in fortlöpande från Klinisk kemiska laboratoriet vid UDS och därefter kopplades till journalnummer och analysresultat i laboratoriets datasystem.

Information från respektive katts journal; inklusive kattens namn, journalnummer, kön, ras, födelsedatum, vikt, Body Condition Score (BCS), provtagningsdatum, hydreringsstatus vid provtagning, besöksorsak, diagnos vid besöket, datum och fynd på njurarna vid eventuellt bukultraljud samt analysresultat för kreatinin och SDMA sammanställdes i ett Excel-dokument.

Katterna delades in i fyra olika grupper baserat på information inhämtad från journalerna:

- Friska icke azotemiska katter (kreatinin  $< 160 \mu\text{mol/l}$ )
- Icke azotemiska katter (kreatinin  $< 160 \mu\text{mol/l}$ ) utan förekomst av misstanke om njurrelaterad sjukdom/skada eller nedsatt njurfunktion, men med andra sjukdomar eller skador
- Icke azotemiska katter (kreatinin  $< 160 \mu\text{mol/l}$ ) med ultraljudsfynd i form av renal avvikelse
- Azotemiska katter (kreatinin  $> 160 \mu\text{mol/l}$ ) med ultraljudsfynd i form av renal avvikelse

### **Provhantering och förvaring**

Blodprov samlades i serumrör med eller utan gel. Blodprov från patientkatterna centrifugerades och separerades enligt protokoll på Klinisk kemiska laboratoriet vid UDS. Serum förvarades i

rumstemperatur fram till klockan 16:20 den dagen provet togs och därefter i  $-20^{\circ}\text{C}$  i 5-6 veckor (serumprover sparas rutinmässigt vid laboratoriet för att fler analyser ska kunna utföras vid behov). Proverna tinades tillfälligt i samband med överföring till kryorör och förvarades därefter i  $-80^{\circ}\text{C}$  i 2-8 veckor. Blodprov från friska katter fick stå i ca 30 minuter innan de centrifugerades, serum överfördes till kryorör och förvarades därefter i  $-80^{\circ}\text{C}$  i 4-91 veckor.

### **Analys av prover**

Samtliga prover analyserades vid samma tillfälle i november 2019 med avseende på SDMA. Då instrument för analys av SDMA ej var tillgängligt vid Klinisk kemiska laboratoriet vid UDS, analyserades koncentrationen av SDMA på AniCura Regiondjursjukhuset Bagarmossen med Catalyst SDMA Test (IDEXX Laboratories). Ett pågående samarbete mellan handledare av detta arbete och veterinär vid Regiondjursjukhuset Bagarmossen möjliggjorde nyttjande av denna utrustning.

Kreatinin analyserades antingen då provet var nytaget (patientkatter) eller en vecka efter analysen av SDMA (friska katter). Koncentrationen av kreatinin analyserades på Klinisk kemiska laboratoriet vid UDS med en enzymatisk metod på instrumentet Architect c4000 (Abbott Laboratories). Normalreferensintervallet för denna analysmetod av kreatinin vid UDS anges till 70-160  $\mu\text{mol/l}$ , där analysresultat  $>160 \mu\text{mol/l}$  tolkas som azotemi.

### **Statistisk analys**

För den statistiska analysen användes ett kommersiellt tillgängligt program; JMP® 14.0.0 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA). Gruppdata rapporteras som median samt interkvartilavstånd (*interquartile range*, IQR). Statistisk signifikans sattes till  $p < 0,05$  om inte annat anges i arbetet. För att undersöka eventuella skillnader i koncentrationen av SDMA mellan de fyra olika grupperna användes Kruskal-Wallis test. Parvis jämförelse utfördes med Mann-Whitney U-test med korrektion enligt Bonferroni, där  $p < 0,008$  bedömdes statistiskt signifikant. Potentiella samband mellan koncentrationen av SDMA och kattarnas signalement (kön, ålder, vikt, BCS), koncentrationen av kreatinin och lagringstid av blodprov i frysen undersöktes genom linjär regression och Kruskal-Wallis test.

## RESULTAT

Innan analyserna av SDMA utfördes var målet att 60 katter skulle inkluderas i studien, men då ett av proverna analyserades med Catalyst SDMA Test erhöles inget resultat. Instrumentet hänvisade till fel på slide eller reagens och analysen kunde inte köras om på grund av för lite kvarvarande provvolym. En annan katt, tilltänkt att ingå i gruppen Friska katter, exkluderades på grund av att koncentrationen av kreatinin låg över referensintervallet ( $>160 \mu\text{mol/l}$ ).

Totalt 58 katter med en medianålder på 10,4 år (interkvartilavstånd 3,9-13,3), en medianvikt på 4,0 kg (interkvartilavstånd 3,4-5,0) och en median BCS på 5/9 (kvartilavstånd 4-6/9) inkluderades i studien. Majoriteten av katterna (35 av 58) var av rasen korthårig huskatt, övriga var av raserna långhårig huskatt (4), maine coon (4), sibirisk katt (4), birma (2), perser (2), devon rex (1), ocicat (1), orientaliskt korthår (1), ragdoll (1), russian blue (1), siames (1) och sphynx (1). Signalement för respektive grupp (Friska katter, Icke azotemiska katter utan misstanke om nedsatt njurfunktion, Icke azotemiska katter med renal avvikelse vid ultraljud samt Azotemiska katter med renal avvikelse vid ultraljud) redovisas i Tabell 3.

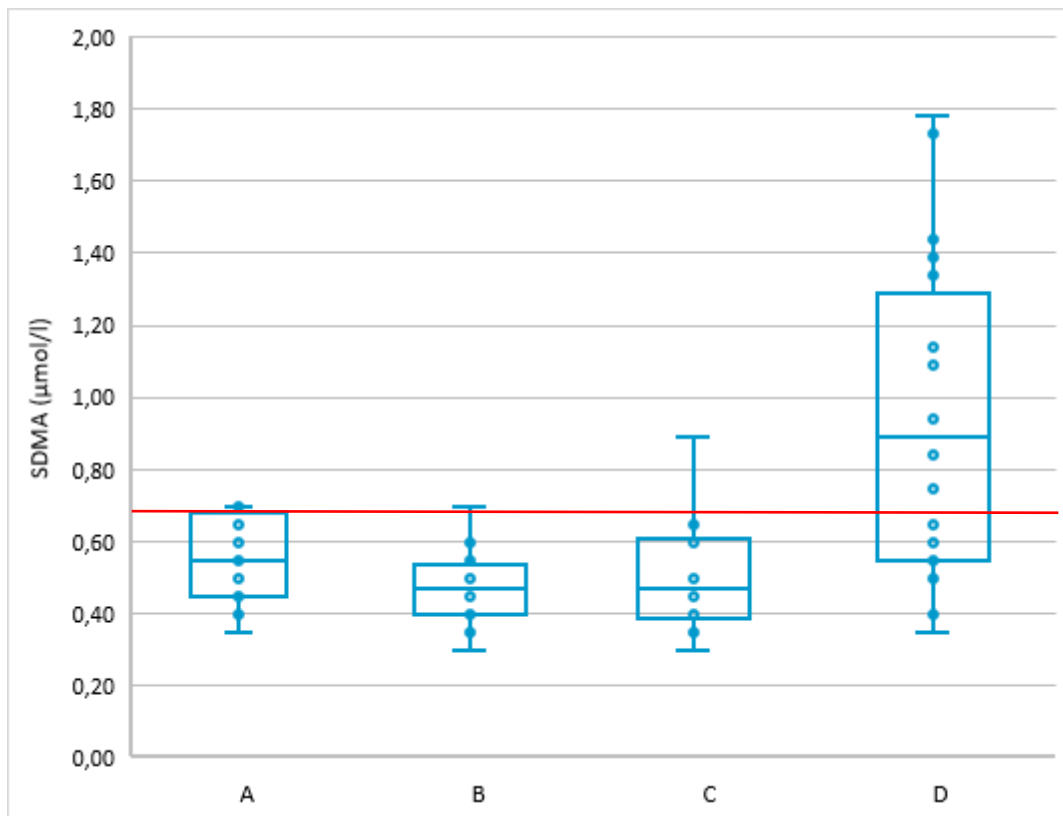
Tabell 3. Sammanställning av de olika grupperna; katternas signalement, förvaringstid av serumprover från provtagning till analys av SDMA, samt uppmätta serumkoncentrationer av SDMA och kreatinin. Värden presenteras i form av median, samt interkvartilavstånd inom parentes. Ingen signifikant skillnad ( $p > 0,008$ ) sågs mellan de värden som, inom respektive rad, följs av samma upphöjda bokstav

	Friska katter	Icke azotemiska katter utan misstanke om nedsatt njurfunktion	Icke azotemiska katter med renal avvikelse vid ultraljud	Azotemiska katter med renal avvikelse vid ultraljud
<b>Antal</b>	16	12	10	20
<b>Kön (honor/hanar)</b>	9/7 <sup>a</sup>	6/6 <sup>a</sup>	5/5 <sup>a</sup>	8/12 <sup>a</sup>
<b>Ålder (år)</b>	3,6 <sup>a</sup> (2,1-4,8)	4,3 <sup>ab</sup> (2,9-10,6)	11,6 <sup>bc</sup> (10,7-14,1)	13,0 <sup>c</sup> (11,2-15,3)
<b>Vikt (kg)</b>	4,1 <sup>a</sup> (3,6-4,7)	4,2 <sup>a</sup> (3,3-5,8)	3,9 <sup>a</sup> (3,4-4,4)	4,1 <sup>a</sup> (3,4-4,8)
<b>BCS</b>	5/9 <sup>a</sup> (4-6/9)	5/9 <sup>a</sup> (4,9-5,3/9)	4/9 <sup>a</sup> (3,5-5,0/9)	4/9 <sup>a</sup> (3-5/9)
<b>Tid från provtagning till analys av SDMA (dygn)</b>	32,0 (27,0-415,3)	70,5 (68,0-73,8)	70,0 (57,0-78,5)	66,5 (50,8-71,0)
<b>SDMA (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	0,54 <sup>a</sup> (0,44-0,66)	0,47 <sup>a</sup> (0,40-0,51)	0,47 <sup>a</sup> (0,40-0,57)	0,89 <sup>b</sup> (0,54-1,19)
<b>Kreatinin (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	100,5 (84,5-115,5)	102,0 (89,8-124,5)	106,5 (92,3-140,0)	228,5 (181,5-277,0)

Diagnoser hos de icke azotemiska katter där ingen misstanke om njurrelaterad sjukdom/skada eller nedsatt njurfunktion förelåg inkluderade; elektrolytrubbning, fraktur, främmande kropp i tarm, gastroenterologisk sjukdom, inflammatorisk sjukdomsprocess, sår, tumör i tunntarm samt urolitiasis.

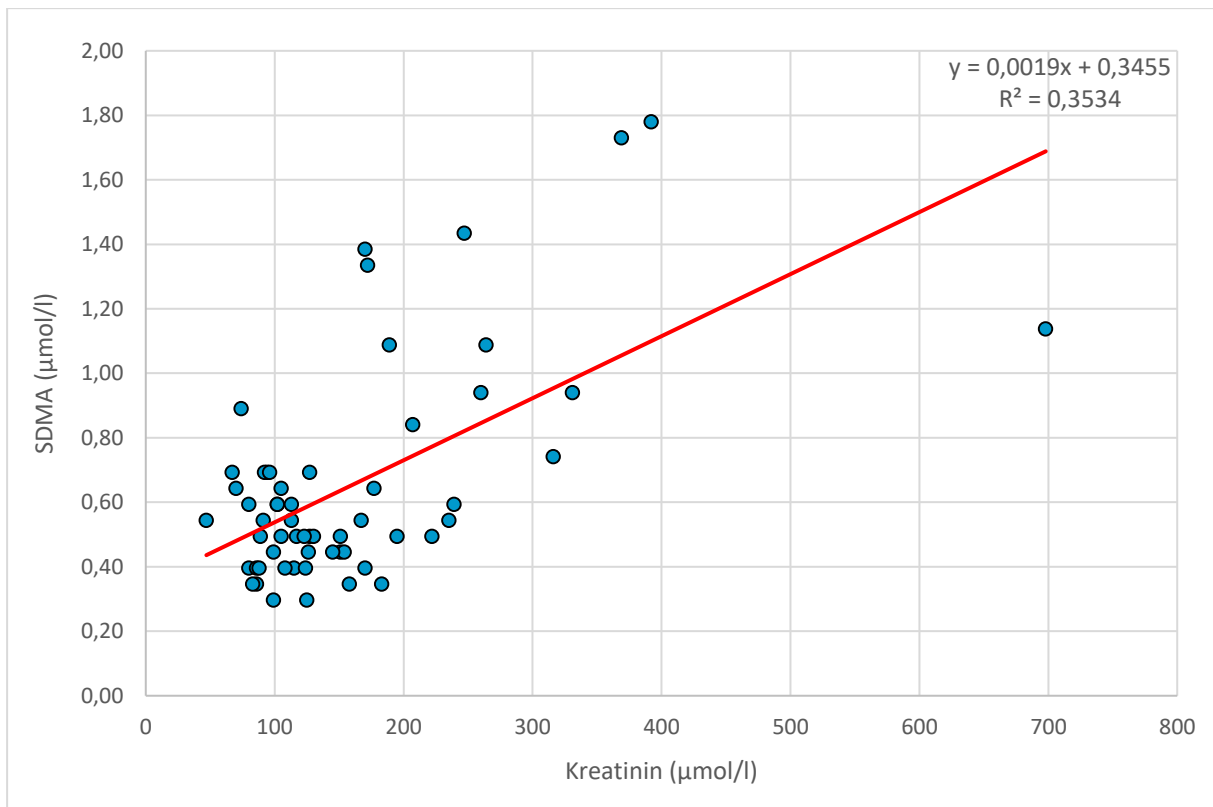
De renala avvikelser som detekterades hos katterna vid bukultraljundsundersökning inkluderade; storleksförändring av njure, oregelbunden yttre kontur, onormal ekogenicitet, nedsatt kortikomedullär definition, *medullary rim sign*, dilaterat njurbäcken, kroniska infarkter, mineraliseringar och cystor. Majoriteten av individerna med renala avvikelser hade två eller flera avvikelser (genomsnittet var 3,7 för de azotemiska katterna respektive 3,0 för de icke azotemiska katterna). Tre av de azotemiska katterna hade både akuta renala avvikelser (förstorad njure/njurar och dilaterat njurbäcken, diagnos akut pyelonefrit) och kroniska renala avvikelser (hyperekoiska strukturer, nedsatt kortikomedullär definition) vid ultraljud, hos dessa utfördes bukultraljudet samma dag eller dagen före blodprovstagningen från vilken serum samlades till studien. Övriga patienter med förändringar på njurarna vid ultraljud hade kroniska renala avvikelser, hos dessa patienter utfördes det senaste bukultraljudet från samma dag upp till 2,6 år (median 22 dygn) före blodprovstagningen från vilken serum samlades till studien.

En skillnad i koncentrationen av SDMA påvisades mellan grupperna ( $p = 0,0009$ ), vilket illustreras i Figur 2. För resultatet av parvisa jämförelser mellan grupperna, se Tabell 3.



Figur 2. Diagram över koncentrationen av SDMA ( $\mu\text{mol/l}$ ) hos 58 katter indelade i respektive grupp. A = Friska katter, B = Icke azotemiska katter utan misstanke om nedsatt njurfunktion, C = Icke azotemiska katter med renal avvikelse, D = Azotemiska katter med renal avvikelse. De blå lådorna representerar minimumvärdet, första kvartilen, medianen, tredje kvartilen samt maximumvärdet i respektive grupp. Den röda linjen representerar den övre gränsen av referensintervallet för SDMA ( $0,69 \mu\text{mol/l}$ ).

Ett samband sågs mellan koncentrationen av SDMA och koncentrationen av kreatinin ( $r = 0,59$ ,  $p < 0,0001$ ), vilket illustreras i Figur 3. Inget signifikant samband sågs dock mellan serumkoncentrationen av SDMA och kön, ålder, vikt, BCS eller tid från provtagning till analys av SDMA.



Figur 3. Koncentrationen av SDMA jämfört med koncentrationen av kreatinin hos 58 katter med och utan nedsatt njurfunktion. Den röda linjen motsvarar den linjära ekvation (anges uppe till höger i grafen) som bäst beskriver förhållandet mellan SDMA och kreatinin.

## DISKUSSION

I detta examensarbete uppvisade samtliga friska katter och icke azotemiska katter utan misstanke om nedsatt njurfunktion en serumkoncentration av SDMA som låg inom referensintervallet 0-0,69  $\mu\text{mol/l}$ . Koncentrationen av SDMA var signifikant högre hos azotemiska katter (kreatinin  $>160 \mu\text{mol/l}$ ) med renal avvikelse vid ultraljud jämfört med övriga grupper. 8 av 20 (40 %) azotemiska katter hade dock en koncentration av SDMA som låg inom det normala referensintervallet för katt. Serumkoncentrationen av SDMA var förhöjt hos 1 av 10 (10 %) icke azotemiska katter med renal avvikelse vid ultraljud.

Mediankoncentrationen av SDMA var 0,54  $\mu\text{mol/l}$  hos de friska katterna och 0,47  $\mu\text{mol/l}$  hos de icke azotemiska katterna utan misstanke om nedsatt njurfunktion. Samtliga av dessa katter hade en serumkoncentration på  $\leq 0,69 \mu\text{mol/l}$ . Resultatet i detta arbete stämmer alltså väl överens med referensintervallet 0-0,69  $\mu\text{mol/l}$ , vilket bygger på en studie med 86 friska katter som utfördes av anställda vid analysföretaget som tillhandahåller SDMA-testet (Relford *et al.*, 2016). Referensintervallet bestämdes med ett tvåsidigt 95 % konfidensintervall, vilket innebär att 2,5 % av katterna hade en koncentration  $>0,69 \mu\text{mol/l}$ . I en annan studie med 206 friska katter beräknades ett referensintervall till 0,15-0,74  $\mu\text{mol/l}$  med ett 90 % konfidensintervall, vilket innebär att 5 % av katterna hade en koncentration  $>0,74 \mu\text{mol/l}$  (Peterson *et al.*, 2018). I ytterligare en studie hade 8,7 % av 46 friska katter av olika raser en koncentration över 0,69  $\mu\text{mol/l}$  och motsvarande siffra för 50 friska birmor var 20 % (Paltrinieri *et al.*, 2018). Resultaten från dessa studier indikerar att det finns både individer och raser som avviker från referensintervallet 0-0,69  $\mu\text{mol/l}$ .

År 2019 uppdaterade IRIS riktlinjerna för bedömning av stadie av CKD hos katt (International Renal Interest Society, 2019). Enligt de nya riktlinjerna bör bedömning av stadie baseras på analys av koncentrationen av kreatinin och/eller SDMA. Detta kan jämföras med de tidigare riktlinjerna (modifierade senast 2017) i vilka IRIS endast rekommenderade analys av kreatinin för bedömning av stadie, samt gav råd om att SDMA kan ge en mer korrekt uppskattning av stadie jämfört med kreatinin om katten har lågt BCS (International Renal Interest Society, 2017). I de nya riktlinjerna framgår det även att ett persistent förhöjt SDMA  $>0,69 \mu\text{mol/l}$  kan användas för att ställa diagnosen CKD. Vid bedömning av stadie anser IRIS dessutom att mer vikt ska läggas på koncentrationen av SDMA jämfört med kreatinin, exempelvis ska en katt med konstant förhöjt SDMA  $>0,89 \mu\text{mol/l}$  bedömas befinnas i stadie 2, även om koncentrationen av kreatinin är  $<140 \mu\text{mol/l}$ . IRIS anser alltså inte bara att SDMA är en tillräckligt bra markör för bedömning av njurfunktion hos katt, utan dessutom att SDMA är en mer känslig markör jämfört med kreatinin. I detta arbete låg emellertid koncentrationen av SDMA inom referensintervallet hos 8 av 20 (40 %) azotemiska katter (enligt uppmätt kreatininkoncentration) med renal avvikelse vid ultraljud, samtidigt som den var förhöjd hos 1 av 10 (10 %) icke azotemiska katter med renal avvikelse vid ultraljud. Resultaten i detta arbete indikerar därmed inte att SDMA är en mer känslig markör jämfört med kreatinin för detektion av nedsatt njurfunktion. SDMA kan dock potentiellt identifiera katter med nedsatt njurfunktion som kreatinin missar, och tvärtom, vilket även har noterats hos hund (Pelander *et al.*, 2019). För att kunna besvara frågeställningen om vilken av dessa markörer som är mest känslig för detektion av nedsatt njurfunktion behövs dock en annan studiedesign än den som använts i detta arbete.

Ett signifikant samband sågs mellan koncentrationen av SDMA och kreatinin ( $r = 0,59$ ,  $p < 0,0001$ ). Detta samband är relativt svagt jämfört med de som rapporterats i andra studier hos katt ( $r = 0,74$ ,  $p < 0,001$ ;  $r = 0,85$ ,  $p = 0,0017$ ;  $r = 0,72$ ,  $p < 0,0001$ ; respektive  $r = 0,41$ ,  $p = 0,03$ ), vilket sannolikt beror på att en stor andel av katterna i denna studie var icke azotemiska (38 av 58, 66 %) och hos dessa korrelerar SDMA och kreatinin sämre jämfört med hos azotemiska katter (Jepson *et al.*, 2008; Braff *et al.*, 2014; Hall *et al.*, 2014a; Hall *et al.*, 2014b). Ett samband mellan koncentrationen av SDMA och kreatinin är förväntat eftersom båda markörerna korrelerar med GFR (Braff *et al.*, 2014; Hall *et al.*, 2014a; Hall *et al.*, 2014b).

Katternas ålder skiljde sig signifikant mellan grupperna och var högre i grupperna med renal avvikelse vid ultraljud jämfört med de friska katterna och de utan misstanke om nedsatt njurfunktion. Detta beror sannolikt på att det framför allt är äldre katter som drabbas av CKD, vilket visades i en studie där prevalensen beräknades till 0,1 % hos katter  $< 9$  år, jämfört med 3,6 % hos katter  $\geq 9$  år, och medianåldern för diagnos beräknades till 14,8 år (Conroy *et al.*, 2019). Därmed är det mer sannolikt att en äldre katt har en renal avvikelse jämfört med en yngre katt. Inget signifikant samband sågs emellertid mellan katternas ålder och koncentrationen av SDMA, vilket däremot rapporterades i en tidigare studie med 32 friska katter, där SDMA ökade med ökande ålder ( $r = 0,38$ ,  $p = 0,04$ ) (Hall *et al.*, 2014b). I studien antogs detta bero på sambandet mellan SDMA och GFR, då GFR visades minska med ökande ålder i samma studie.

Koncentrationen av kreatinin har däremot visats minska med ökande ålder hos katt (Hall *et al.*, 2014b). Detta beror sannolikt på att kreatinin bildas i en takt som är direkt relaterad till mängden muskelmassa, och att mängden muskelmassa minskar med ökande ålder (Finch, 2014). Med tanke på att CKD framför allt drabbar äldre katter samt att avmagring är ett vanligt sjukdomstecken vid CKD (Conroy *et al.*, 2019) riskerar därmed kreatinin att bli falskt lågt hos dessa katter. I detta arbete sågs inget samband mellan SDMA och vikt eller BCS, vilket indikerar att SDMA ej varierar med muskelmassa, dock har ett relativt litet material utvärderats och mer omfattande studier krävs för att säkerställa detta.

Koncentrationen av kreatinin varierar även med djurets hydreringsgrad, vilket anses vara ytterligare en nackdel med denna markör (Finch, 2014). Dock gäller sannolikt detsamma för SDMA, eftersom både kreatinin och SDMA visats korrelera med GFR, vilket minskar med en minskande blodvolym (DiBartola & Westropp, 2014). I detta arbete saknas en grupp med azotemiska katter utan renal avvikelse vid ultraljud (exempelvis katter som är dehydrerade eller hypovolemiska av olika sjukdomsorsaker). Detta beror på att väldigt få serumprover fanns att tillgå från katter som skulle kunna placeras i en sådan grupp. Inför analys av SDMA var denna grupp alltför liten för att resultatet skulle kunna användas i statistiska beräkningar och dessa katter inkluderades sålunda inte i studien. I kommande studier bör fokus läggas på att även inkludera individer som passar denna beskrivning.

Kreatinin anses även vara en markör med låg känslighet för detektion av nedsatt njurfunktion (Finch, 2014). Sensitivitet har inte beräknats i detta arbete eftersom njurfunktionen ej bedömts utifrån GFR. I en studie med 42 katter beräknades sensitiviteten för koncentrationen av kreatinin till 17 %, då en minskning av GFR med 30 % (uppskattat genom mätning av clearance av

iohexol) tolkades som CKD och kreatinin  $>185,6 \mu\text{mol/l}$  användes som tröskelvärde, och specificiteten beräknades till 100 % (Hall *et al.*, 2014a). I en annan studie var koncentrationen av kreatinin förhöjd hos 18 av 43 katter (42 %) diagnosticerade med njursten (vilket benämndes som CKD-fynd) och kreatinin  $>185,6 \mu\text{mol/l}$  användes som tröskelvärde, specificiteten kommenterades dock ej (Hall *et al.*, 2017). Dessa värden jämfördes med SDMA, vars sensitivitet beräknades till 100 % respektive 91 %, och specificitet till 91 % respektive 100 %, då SDMA  $>0,69 \mu\text{mol/l}$  användes som tröskelvärde. Sensitiviteten beror emellertid på vilket tröskelvärde som väljs och kan enkelt ökas genom en sänkning av tröskelvärdet (då ökar dock samtidigt andelen falskt positiva vilket innebär att specificiteten minskar). Detta innebär att det inte är möjligt att jämföra sensitiviteten för kreatinin med SDMA på det sätt som görs i dessa studier, där tröskelvärdet för respektive markör motsvarar olika stora minskningar av GFR. Sensitiviteten skulle kunna jämföras om den beräknades utifrån tröskelvärden som baserats på samma procentuella minskning av GFR.

Denna studie hade några begränsningar. Katterna delades in i grupper baserat på bland annat ultraljudsfynd på njurarna. De kroniska renala avvikelser som registrerades är förenliga med CKD (Paepe *et al.*, 2012) och de akuta förändringar som noterades hos ett par av katterna är förenliga med akut pyelonefrit (Quimby *et al.*, 2017). Renala avvikelser vid ultraljud i form av onormal form, hyperekogenicitet och liten njurvolym har även visats korrelera med lågt GFR, uppskattat genom scintigrafi, hos hund (Mattei *et al.*, 2019). För bedömning av njurfunktion anses GFR, uppskattat genom mätning av clearance, vara den mest relevanta faktorn (Finch, 2014). I detta arbete, med denna studiedesign, var det dock inte möjligt att mäta GFR.

Hos katterna med akuta renala avvikelser utfördes bukultraljudet samma dag eller dagen före blodprovstagningen. Hos katterna med kroniska renala avvikelser utfördes bukultraljudet med en median på 22 dygn från dagen för blodprovstagningen. Hos enstaka katter med kroniska renala avvikelser fanns dock endast äldre bukultrajudsresultat att tillgå (upp till 2,6 år). Kroniska förändringar på njurarna kan dock med stor sannolikhet inte förväntas normaliseras med tiden, utan snarare försämrats ytterligare, med tanke på att CKD i många fall är en progressiv sjukdom (Paepe *et al.*, 2012).

Serumproverna förvarades under relativt lång tid innan de analyserades med avseende på SDMA; upp till 92 dygn (varav upp till 42 dygn i  $-20^{\circ}\text{C}$  och resten i  $-80^{\circ}\text{C}$ ) för proverna från patientkatterna, respektive upp till 639 dygn i  $-80^{\circ}\text{C}$  för proverna från de friska katterna. Inget signifikant samband sågs dock mellan serumkoncentrationen av SDMA och tiden från provtagning till analys av SDMA, vilket indikerar att koncentrationen av SDMA i proverna ej påverkades av förvaringstiden.

I denna studie togs ingen hänsyn till behandlingar av olika sjukdomsprocesser som patientkatterna genomgick vid tillfället för provtagningen. Det var svårt att skapa en komplett sammanställning över de läkemedel och läkemedelsdoser som varje individ behandlades med för de patienter som i normala fall behandlas vid extern klinik. Vid ett besök på UDS dokumenteras alla former av behandlingar i journalen, men i de fall då journalkopia från extern klinik saknades var det ej möjligt att verifiera att informationen i anamnesen var korrekt.



En av de katter som var tänkt att ingå i denna studie exkluderades på grund av problem vid analys av SDMA. Detta analysproblem uppstod vid totalt tre tillfällen, vid analys av prov från tre olika katter, och resulterade i att inget analysresultat erhöles. Instrumentet hänvisade då till fel på slide eller reagens. En gemensam faktor som noterades var att samtliga slides och reagens som användes då felet uppstod kom från en och samma ask. Detta tyder på att felet sannolikt snarare uppstod under själva produktionen av slide och/eller reagens än under analysen. I ett av fallen då felet påvisades fanns ej tillräckligt med serum för att köra om analysen, vilket medförde att provet, och därmed en katt, fick strykas från studien. Bortfallet av ett enda prov bör inte ha påverkat resultatet i detta arbete, men om detta är ett vanligt förekommande problem vid analys med Catalyst SDMA Test kan många analysresultat potentiellt gå förlorade.

## **Konklusion**

Serumkoncentrationen av SDMA hos samtliga friska katter samt icke azotemiska katter utan misstanke om nedsatt njurfunktion låg inom det tidigare fastställda referensintervallet för SDMA hos katt. Ett samband sågs mellan koncentrationen av SDMA och koncentrationen av kreatinin. Koncentrationen av SDMA varierade inte med kön, ålder, vikt eller BCS. Koncentrationen av SDMA var signifikant högre hos azotemiska katter med renal avvikelse vid ultraljud jämfört med övriga grupper, men 40 % av dessa katter hade en koncentration av SDMA inom referensintervallet. Samtidigt var SDMA förhöjt hos 10 % av icke azotemiska katter med renal avvikelse vid ultraljud. Med andra ord var andelen azotemiska katter med en normal koncentration av SDMA större, jämfört med andelen icke azotemiska katter med en förhöjd koncentration av SDMA. Detta bör dock undersökas vidare i en större population där GFR uppskattas genom mätning av clearance, alternativt scintigrafi, innan vidare slutsatser kan dras kring SDMA:s användbarhet som markör för nedsatt njurfunktion hos katt.

## POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Kronisk njursjukdom är ett vanligt förekommande sjukdomstillstånd hos framför allt äldre katter och även en vanlig orsak till avlivning hos katt. För att bedöma hur njurarna fungerar hos katt analyseras vanligtvis koncentrationen av kreatinin i blod, vilket är en enkel men relativt okänslig metod. En mer optimal markör för nedsatt njurfunktion vore därför av stort värde.

Syftet med detta examensarbete var att undersöka om koncentrationen av symmetriskt dimetylarginin (SDMA) i blod skiljer sig mellan katter med misstänkt nedsatt njurfunktion och normal eller förhöjd koncentration av kreatinin, samt katter utan misstanke om nedsatt njurfunktion och normal koncentration av kreatinin. Studien syftade även till att undersöka hur koncentrationen av SDMA förhåller sig till koncentrationen av kreatinin i den studerade populationen samt om serumkoncentrationen av SDMA varierar med kön, ålder, vikt eller hull.

Blod samlades in från friska katter samt från katter som varit inskrivna för undersökning och behandling på Universitetsdjursjukhuset (UDS) vid Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) i Uppsala. Totalt 58 katter inkluderades i studien och delades in i fyra grupper baserat på koncentration av kreatinin i blod samt resultat från eventuell ultraljudsundersökning av njurarna; friska katter, katter med normal koncentration av kreatinin utan misstanke om nedsatt njurfunktion men med andra sjukdomar eller skador, katter med normal koncentration av kreatinin och avvikelser på njurarna vid ultraljud, samt katter med förhöjd koncentration av kreatinin och avvikelser på njurarna vid ultraljud.

Koncentrationen av SDMA i blod var högre hos katter med förhöjd koncentration av kreatinin och avvikelser på njurarna vid ultraljud jämfört med övriga grupper. Dock hade 8 av 20 katter med förhöjd koncentration av kreatinin en normal koncentration av SDMA. Samtidigt hade 1 av 10 katter med normal koncentration av kreatinin och avvikelser på njurarna vid ultraljud en förhöjd koncentration av SDMA. Samtliga friska katter samt katter med normal koncentration av kreatinin utan misstanke om nedsatt njurfunktion hade en normal koncentration av SDMA.

Ett signifikant samband sågs mellan koncentrationen av SDMA och koncentrationen av kreatinin, där SDMA ökade med ökande koncentration av kreatinin. Inget signifikant samband sågs dock mellan koncentrationen av SDMA och kön, ålder, vikt eller hull.

Det konkluderades att koncentrationen av SDMA i blod var signifikant högre hos katter med förhöjd koncentration av kreatinin och avvikelser på njurarna vid ultraljud jämfört med övriga grupper, men 40 % av dessa katter hade en normal koncentration av SDMA. Samtidigt var SDMA förhöjt hos 10 % av katter med normal koncentration av kreatinin och avvikelser på njurarna vid ultraljud. Användbarheten hos SDMA som markör för nedsatt njurfunktion hos katt bör undersökas vidare i en större population, och gärna med en studiedesign där njurfunktionen bedöms med en mer exakt metod än det en ultraljudsundersökning av njurarna möjliggör.

## REFERENSER

- Al Banchaabouchi, M., Marescau, B., Possemiers, I., D'Hooge, R., Levillain, O. & De Deyn, P.P. (2000). N<sup>G</sup>,N<sup>G</sup>-Dimethylarginine and N<sup>G</sup>,N<sup>G</sup>-dimethylarginine in renal insufficiency. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 439:524-531.
- Bedford, M.T. & Richard, S. (2005). Arginine methylation: An emerging regulator of protein function. *Molecular Cell*, 18:263-272.
- Bijsmans, E.S., Jepson, R.E., Syme, H.M., Elliott, J. & Niessen, S.J.M. (2016). Psychometric validation of a general health quality of life tool for cats used to compare healthy cats and cats with chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30:183-191.
- Bilbrough, G., Evert, B., Hathaway, K., Panagakos, G., Robertson, J. & Yerramilli, M. (2018). *IDEXX Catalyst SDMA Test for in-house measurement of SDMA concentration in serum from dogs and cats*. [https://idexxcom-live-b02da1e51e754c9cb292133b-9c56c33.aldryn-media.com/filer\\_public/c7/52/c752b6d6-d0b9-4f8d-9083-1fccc8b7bea4/catalyst-sdma-white-paper.pdf](https://idexxcom-live-b02da1e51e754c9cb292133b-9c56c33.aldryn-media.com/filer_public/c7/52/c752b6d6-d0b9-4f8d-9083-1fccc8b7bea4/catalyst-sdma-white-paper.pdf) [2019-10-02]
- Boyd, L.M., Langston, C., Thompson, K., Zivin, K. & Imanishi, M. (2008). Survival in cats with naturally occurring chronic kidney disease (2000–2002). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22:1111-1117.
- Braff, J., Obare, E., Yerramilli, M., Elliott, J. & Yerramilli, M. (2014). Relationship between serum symmetric dimethylarginine concentration and glomerular filtration rate in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28:1699-1701.
- Buresova, E., Stock, E., Paepe, D., Stammeleer, L., Vandermeulen, E., Smets, P., Duchateau, L., Lefebvre, H.P. & Daminet, S. (2019). Assessment of symmetric dimethylarginine as a biomarker of renal function in hyperthyroid cats treated with radioiodine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33:516-522.
- Böger, R.H. & Zoccali, C. (2003). ADMA: a novel risk factor that explains excess cardiovascular event rate in patients with end-stage renal disease. *Atherosclerosis (Supplements)*, 4:23-28.
- Closs, E.I., Basha, F.Z., Habermeier, A. & Förstermann, U. (1997). Interference of L-arginine analogues with L-arginine transport mediated by the y<sup>+</sup> carrier hCAT-2B. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry*, 1:65-73.
- Conroy, M., Brodbelt, D.C., O'Neill, D., Chang, Y. & Elliott, J. (2019). Chronic kidney disease in cats attending primary care practice in the UK: a VetCompass™ study. *The Veterinary Record*, doi: 10.1136/vr.105100. [2019-09-17]
- DeMonaco, S.M., Panciera, D.L., Morre, W.A., Conway, T. & Werre, S. (2019). Symmetric dimethylarginine in hyperthyroid cats before and after treatment with radioactive iodine. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, doi: 10.1177/1098612X19859947. [2019-09-02]
- DiBartola, S.P. & Westropp, J.L. (2014). Urinary tract disorders. I: Nelson, R.W. & Couto, C.G. (ed). *Small Animal Internal Medicine*. 5. ed. Saint Louis: Elsevier, 629-712.
- DLD Diagnostika GmbH (2019-03-14). *Instruction for use: SDMA vet ELISA*. [https://www.dld-diagnostika.de/uploads/uploads/Sdmavet-e\\_7.pdf](https://www.dld-diagnostika.de/uploads/uploads/Sdmavet-e_7.pdf) [2019-10-02]
- Egenvall, A., Nødtvedt, A., Häggström, J., Ström Holst, B., Möller, L. & Bonnett, B.N. (2009). Mortality of life-insured swedish cats during 1999-2006: Age, breed, sex, and diagnosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23:1175-1183.

- Elliott, J., Grauer, G.F. & Westropp, J.L. (2017). *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*. 3. ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.
- Finch, N. (2014). Measurement of glomerular filtration rate in cats: Methods and advantages over routine markers of renal function. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 16:736-748.
- Finch, N.C., Geddes, R.F., Syme, H.M. & Elliott, J. (2013). Fibroblast growth factor 23 (FGF-23) concentrations in cats with early nonazotemic chronic kidney disease (CKD) and in healthy geriatric cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27:227-233.
- Finch, N.C., Syme, H.M. & Elliott, J. (2012). Parathyroid hormone concentration in geriatric cats with various degrees of renal function. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 241:1326-1335.
- Forni, L.G., Darmon, M., Ostermann, M., Oudemans-van Straaten, H.M., Pettilä, V., Prowle, J.R., Schetz, M. & Joannidis, M. (2017). Renal recovery after acute kidney injury. *Intensive Care Medicine*, 43:855-866.
- Geddes, R.F., Elliott, J. & Syme, H.M. (2015). Relationship between plasma fibroblast growth factor-23 concentration and survival time in cats with chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29:1494-1501.
- Geddes, R.F., Finch, N.C., Elliott, J. & Syme, H.M. (2013). Fibroblast growth factor 23 in feline chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27:234-241.
- Ghys, L.F.E., Paepe, D., Lefebvre, H.P., Reynolds, B.S., Croubels, S., Meyer, E., Delanghe, J.R. & Daminet, S. (2016). Evaluation of cystatin C for the detection of chronic kidney disease in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30:1074-1082.
- Hall, J.A., Yerramilli, M., Obare, E., Li, J., Yerramilli, M. & Jewell, D.E. (2017). Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in cats with kidney stones. *PLoS ONE*, 12:e0174854.
- Hall, J.A., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M., Almes, K. & Jewell, D.E. (2016). Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with naturally occurring chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30:794-802.
- Hall, J.A., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M. & Jewell, D.E. (2014a). Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in cats with chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28:1676-1683.
- Hall, J.A., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M., Yu, S. & Jewell, D.E. (2014b). Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in healthy geriatric cats fed reduced protein foods enriched with fish oil, L-carnitine, and medium-chain triglycerides. *The Veterinary Journal*, 202:588-596.
- Harris, D.C. (2007). *Quantitative Chemical Analysis*. 7. ed. New York: W. H. Freeman and Company.
- IDEXX Laboratories, Inc. (2017). *SDMA reference interval update: Use of the IDEXX SDMA Test to assess kidney function in puppies and kittens*. <https://ca.idexx.com/files/sdma-puppies-and-kittens-dx-update-ca-en.pdf> [2019-10-02]
- IDEXX Laboratories, Inc. (2018). *Catalyst SDMA Test and Catalyst SDMA and Total T4 Kit: Quick reference guide*. <https://www.idexx.com/files/catalyst-sdma-test-and-total-t4-quick-reference-guide.pdf> [2019-10-02]

- International Renal Interest Society (2017). *IRIS Staging of CKD (modified 2017)*. [http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS\\_2017\\_Staging\\_of\\_CKD\\_09May18.pdf](http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS_2017_Staging_of_CKD_09May18.pdf) [2019-09-05]
- International Renal Interest Society (2019). *IRIS Staging of CKD (modified 2019)*. [http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS\\_Staging\\_of\\_CKD\\_modified\\_2019.pdf](http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS_Staging_of_CKD_modified_2019.pdf) [2019-09-25]
- Jepson, R.E., Brodbelt, D., Vallance, C., Syme, H.M. & Elliott, J. (2009). Evaluation of predictors of the development of azotemia in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23:806-813.
- Jepson, R.E., Syme, H.M., Vallance, C. & Elliott, J. (2008). Plasma asymmetric dimethylarginine, symmetric dimethylarginine, L-arginine, and nitrite/nitrate concentrations in cats with chronic kidney disease and hypertension. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22:317-324.
- Kakimoto, Y. & Akazawa, S. (1970). Isolation and identification of N<sup>G</sup>,N<sup>G</sup>- and N<sup>G</sup>,N<sup>'G</sup>-dimethylarginine, N<sup>ε</sup>-mono-, di-, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl- and galactosyl-δ-hydroxylysine from human urine. *The Journal of Biological Chemistry*, 245:5751-5758.
- Kielstein, J.T., Salpeter, S.R., Bode-Boeger, S.M., Cooke, J.P. & Fliser, D. (2006). Symmetric dimethylarginine (SDMA) as endogenous marker of renal function - a meta-analysis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 21:2446-2451.
- Lamglait, B. & Vandenburg-Beltrame, M. (2017). Evaluation of symmetric dimethylarginine as an early biomarker of chronic kidney disease in captive cheetahs (*Acinonyx Jubatus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 48:874-877.
- MacAllister, R.J., Rambausek, M.H., Vallance, P., Williams, D., Hoffmann, K.H. & Ritz, E. (1996). Concentration of dimethyl-L-arginine in the plasma of patients with end-stage renal failure. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 11:2449-2452.
- Matsuguma, K., Ueda, S., Yamagishi, S., Matsumoto, Y., Kaneyuki, U., Shibata, R., Fujimura, T., Matsuoka, H., Kimoto, M., Kato, S., Imaizumi, T. & Okuda, S. (2006). Molecular mechanism for elevation of asymmetric dimethylarginine and its role for hypertension in chronic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, 17:2176-2183.
- Mattei, C., Pelander, L., Hansson, K., Uhlhorn, M., Olsson, U., Häggström, J., Ljungvall, I. & Ley, C.J. (2019). Renal ultrasonographic abnormalities are associated with low glomerular filtration rate calculated by scintigraphy in dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 60:432-446.
- McDermott, J.R. (1976). Studies on the catabolism of N<sup>G</sup>-methylarginine, N<sup>G</sup>,N<sup>'G</sup>-dimethylarginine and N<sup>G</sup>,N<sup>G</sup>-dimethylarginine in the rabbit. *Biochemical Journal*, 154:179-184.
- Nabity, M.B., Lees, G.E., Boggess, M.M., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M., Rakitin, A., Aguiar, J. & Relford, R. (2015). Symmetric dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a marker for the early detection of chronic kidney disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29:1036-1044.
- Newman, S.J. (2012). The urinary system, I: Zachary, J. F. & McGavin, M. D. (ed). *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 5. ed. Saint Louis: Elsevier, 589-659.
- Ogawa, T., Kimoto, M., Watanabe, H. & Sasaoka, K. (1987). Metabolism of N<sup>G</sup>,N<sup>G</sup>- and N<sup>G</sup>,N<sup>'G</sup>-dimethylarginine in rats. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 252:526-537.
- O'Neill, D.G., Church, D.B., McGreevy, P.D., Thomson, P.C. & Brodbelt, D.C. (2015). Longevity and mortality of cats attending primary care veterinary practices in England. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 17:125-133.

- Paepe, D., Saunders, J.H., Bavegems, V., Paes, G., Peelman, L.J., Makay, C. & Daminet, S. (2012). Screening of ragdoll cats for kidney disease: a retrospective evaluation. *Journal of Small Animal Practice*, 53:572-577.
- Paltrinieri, S., Giraldi, M., Prolo, A., Scarpa, P., Piseddu, E., Beccati, M., Graziani, B. & Bo, S. (2018). Serum symmetric dimethylarginine and creatinine in Birman cats compared with cats of other breeds. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 20:905-912.
- Patch, D., Obare, E., Prusevich, P., Xie, H., Yerramilli, M., Farace, G., Cross, J. & Yerramilli, M.V. (2015). AACC Abstract B-047: High throughput immunoassay for kidney function biomarker symmetric dimethylarginine (SDMA). *Clinical Chemistry (Supplement)*, 61:135.
- Pedersen, L.G., Tarnow, I., Olsen, L.H., Teerlink, T. & Pedersen, H.D. (2006). Body size, but neither age nor asymptomatic mitral regurgitation, influences plasma concentrations of dimethylarginines in dogs. *Research in Veterinary Science*, 80:336-342.
- Pelander, L., Häggström, J., Larsson, A., Syme, H., Elliott, J., Heiene, R. & Ljungvall, I. (2019). 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*, 33:630-639.
- Peterson, M.E., Varela, F.V., Rishniw, M. & Polzin, D.J. (2018). Evaluation of serum symmetric dimethylarginine concentration as a marker for masked chronic kidney disease in cats with hyperthyroidism. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32:295-304.
- Prusevich, P., Patch, D., Obare, E., Cross, J., Xie, H., Yerramilli, M., Farace, G. & Yerramilli, M.V. (2015). AACC Abstract B-048: Validation of a novel high throughput immunoassay for the quantitation of symmetric dimethylarginine (SDMA). *Clinical Chemistry (Supplement)*, 61:135.
- Quimby, J.M., Dowers, K., Herndon, A.K. & Randall, E.K. (2017). Renal pelvic and ureteral ultrasonographic characteristics of cats with chronic kidney disease in comparison with normal cats, and cats with pyelonephritis or ureteral obstruction. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19:784-790.
- Relford, R., Robertson, J. & Clements, C. (2016). Symmetric dimethylarginine: Improving the diagnosis and staging of chronic kidney disease in small animals. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 46:941-960.
- Sargent, H.J., Jepson, R.E., Chang, Y., Biourge, V.C., Bijmans, E.S. & Elliott, J. (2019). Fibroblast growth factor 23 and symmetric dimethylarginine concentrations in geriatric cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, doi: 10.1111/jvim.15590. [2019-10-15]
- Schepers, E., Barreto, D.V., Liabeuf, S., Glorieux, G., Eloit, S., Barreto, F.C., Massy, Z. & Vanholder, R. (2011). Symmetric dimethylarginine as a proinflammatory agent in chronic kidney disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 6:2374-2383.
- Schepers, E., Glorieux, G., Dhondt, A., Leybaert, L. & Vanholder, R. (2009). Role of symmetric dimethylarginine in vascular damage by increasing ROS via store-operated calcium influx in monocytes. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 24:1429-1435.
- Sparkes, A.H., Caney, S., Chalhoub, S., Elliott, J., Finch, N., Gajanayake, I., Langston, C., Lefebvre, H.P., White, J. & Quimby, J. (2016). ISFM consensus guidelines on the diagnosis and management of feline chronic kidney disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 18:219-239.

- Syme, H.M., Markwell, P.J., Pfeiffer, D. & Elliott, J. (2006). Survival of cats with naturally occurring chronic renal failure is related to severity of proteinuria. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20:528-535.
- Tatematsu, S., Wakino, S., Kanda, T., Homma, K., Yoshioka, K., Hasegawa, K., Sugano, N., Kimoto, M., Saruta, T. & Hayashi, K. (2007). Role of nitric oxide-producing and -degrading pathways in coronary endothelial dysfunction in chronic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, 18:741-749.
- Tojo, A., Welch, W.J., Bremer, V., Kimoto, M., Kimura, K., Omata, M., Ogawa, T., Vallance, P. & Wilcox, C.S. (1997). Colocalization of demethylating enzymes and NOS and functional effects of methylarginines in rat kidney. *Kidney International*, 52:1593-1601.
- Von Henty-Willson, V.E. & Pressler, B.M. (2011). An overview of glomerular filtration rate testing in dogs and cats. *The Veterinary Journal*, 188:156-165.
- Ware, W.A. (2014). Management of heart failure. I: Nelson, R.W. & Couto, C.G. (ed). *Small Animal Internal Medicine*. 5. ed. Saint Louis: Elsevier, 53-73.
- Waugh, L., Lyon, S., Cole, G.A., D'Agostino, J., Cross, J., Strong-Townsend, M., Yerramilli, M., Li, J., Rakitin, A., Hardy, S. & Brandão, J. (2018). Retrospective analysis and validation of serum symmetric dimethylarginine (SDMA) concentrations in cheetahs (*Acinonyx Jubatus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 49: 623-631.
- Wild, D. (2013). *The Immunoassay Handbook: Theory and applications of ligand binding, ELISA and related techniques*. 4. ed. Oxford: Elsevier.
- Yerramilli, M., Farace, G., Quinn J. & Yerramilli, M. (2016). Kidney disease and the nexus of chronic kidney disease and acute kidney injury: The role of novel biomarkers as early and accurate diagnostics. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 46:961-993.