

Koncentration av kemiska metaboliter i urin hos friska hundar

Urinkreatininkvoter och fraktionerad utsöndring

Concentration of chemical metabolites in urine of healthy dogs

Creatinine ratios and fractional excretion



Evelina Damm

*Uppsala
2020*

Koncentration av kemiska metaboliter i urin hos friska hundar

Urinkreatininkvoter och fraktionerad utsöndring

Concentration of chemical metabolites in urine of healthy dogs

Creatinine ratios and fractional excretion

Evelina Damm

Handledare: Inger Lilliehöök, Institutionen för kliniska vetenskaper

Biträdande handledare: Lena Pelander, Institutionen för kliniska vetenskaper

Examinator: Anna Svensson, 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>

Omslagsillustration: Fotografi taget av Evelina Damm

Nyckelord: hund, urin, fraktionell utsöndring, kreatininkvoter, kemiska metaboliter

Key words: dog, urine, fractional excretion, creatinine ratios, chemical metabolites

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

SAMMANFATTNING

Det vanligaste sättet att tolka analytiska tester är via referensintervall. Provtagningsvärden från en misstänkt sjuk individ jämförs med detta referensintervall och tolkas för att försöka diagnostisera sjukdom. Det finns inga studier som beskriver nivåer av kemiska variabler i spontankastad urin från friska sällskapshundar utom för urinprotein. Syftet med denna studie var därför att undersöka koncentrationer av 10 kemiska variabler i urin och dessa variablers urinkreatininkvoter samt fraktionella utsöndring för att få fram riktvärden för tolkning. Blodprov och spontankastat urinprov togs inom en timme av varandra på 30 friska, fastade hundar och analyserades med avseende på kreatinin, cystatin C, urea, glukos, protein, natrium, kalium, klorid, kalcium och fosfat. Utifrån resultaten beräknades urin-kreatininkvoter och fraktionell utsöndring. Resultaten presenterades som median, min-max och riktvärden för tolkning. Vid beräkning av riktvärdena exkluderades det högsta värdet hos samtliga variabler då värdena inte var normalfördelade och de flesta avvikande värdena låg över medianvärdet. Utifrån dessa data finns möjlighet att tolka urinkemivariabler för prover från sjuka hundar vid utredning av flera olika sjukdomstillstånd. Dock krävs prover från fler hundar för att få säkrare referensintervall. Värdena var inte normalfördelade, speciellt de övre gränsvärdena är osäkra.

SUMMARY

The most common procedure to interpret analytical tests are through reference intervals. Blood sample taken from a sick patient are compared to the reference interval to determine whether it is considered normal or not. There are no research describing levels of chemical metabolites in spontaneous voided urine in pet dogs except for protein. Therefore the aim of this study was to investigate several specific variables in urine of dogs as well as the creatinine ratio and fractional excretion of the variables to attain guideline values for interpretation. A blood sample and urine was collected within one hour of each other from 30 healthy, fasted dogs and analyzed. The following variables were analyzed: creatinine, cystatin C, glucose, protein, Na, K, Cl, Ca and PO_4 . From the results creatinine ratio and fractional excretion was calculated for each variable. The results were presented as median, min-max and guidelines for interpretation, where the highest value was excluded from each variable. The highest value was excluded because the data was not normally distributed and the outliers were usually higher than the median. Based on these results comes the possibility to interpret samples from sick dogs in investigation of several different illnesses. However, more samples are needed to achieve more reliable reference intervals. The results were not normally distributed and therefore the higher cut-off limits are uncertain.

INNEHÅLL

INLEDNING	1
LITTERATURÖVERSIKT	2
Biologisk variation och referensintervall	2
Urinkreatininkvoter och fraktionell utsöndring	2
Kemiska metaboliter	3
Kreatinin i blod och urin	3
Urea i blod och urin	3
Protein i blod och urin	4
Cystatin C i blod och urin	5
Kalcium och fosfat i blod och urin	5
Natrium i blod och urin	6
Kalium i blod och urin	7
Glukos i urin	7
Diagnostisk användning av fraktionell utsöndring och urinkreatininkvoter	8
MATERIAL OCH METOD	10
Blodprov	10
Urinprov	11
Statistik	11
RESULTAT	13
DISKUSSION	15
POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING	18
REFERENSER	20

INLEDNING

Tolkning av urinkemi medför svårigheter som skiljer sig ifrån de som uppkommer i samband med samma analys på serum (Mutter & Korzelius, 2012). Till skillnad från serumanalyser som vanligtvis har ett relativt smalt omfång på normalvärden kan man förvänta sig en större spridning hos urinanalyserna (Mutter & Korzelius, 2012). Detta beror på att värdena påverkas inte bara av den absoluta kvantiteten av ämnet som utsöndras utan även av hur mycket vätska som utsöndras och därmed urinens specifika vikt (Waldrop, 2008). Båda värdena kan variera avsevärt och utsöndring av ämnen i urinen påverkas av flera faktorer såsom diet, medicinering, om kroppen är i jämvikt med avseende på tänkta ämnet eller inte, njurfunktion och påverkan av ADH (antidiuretiskt hormon) för att nämna några exempel (Pressler, 2013). Urinanalyser kan inte tolkas isolerat utan klinikern måste beakta dels patientens kliniska status, serumvärden samt njurarnas status. Ett värde som hamnar inom gränsen för vad som är normalt kan i en viss klinisk situation vara onormalt (Mutter & Korzelius, 2012; Pressler, 2013).

I dagsläget relateras variabler i urin ofta till kreatininkoncentrationen i urin. Detta för att uppskatta hur mycket av en variabel som faktiskt förloras i urinen. Det kan även ge information om var denna förlust sker (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2019). Urinkreatininkvoter används för att korrigera för urinens koncentrationsgrad istället för att endast mäta den absoluta koncentrationen av en variabel i urin. Det är främst urinprotein/urinkreatininkvot som används, men kvotering av andra variabler förekommer. Till exempel kan urinkortisol/urinkreatininkvot användas vid klinisk misstanke om hyperadrenokorticism för att utesluta förekomst av sjukdomen (Peterson, 2007).

För att minska problemet med olika koncentrerad urin samt volymutspädning kan man även använda fraktionell utsöndring som en kostnadseffektiv och lättillgänglig markör vid olika sjukdomstillstånd hos hund och katt (Segev *et al.*, 2015). Detta används redan inom vissa delar av humanmedicinen (Brown *et al.*, 2015). Fraktionell utsöndring är procenten av ett ämne som filtreras av njuren och hamnar i urinen (Pressler, 2013). Fraktionell utsöndring kan räknas ut via blodprov samt urinprov tagna samtidigt. I nuläget finns inga bra referensvärden för fraktionell utsöndring hos friska hundar (Pressler, 2013). Det finns inte heller publikationer som beskriver nivåer av kemiska variabler i spontankastad urin hos friska sällskapshundar utom för urinprotein.

I denna studie undersöktes ett flertal kemiska variabler i både blod och urin för beräkning av fraktionell utsöndring och urinkreatininkvoter. Följande parametrar undersöktes: kreatinin, cystatin C, urea, glukos, protein, elektrolyter (Na, K, Cl), Ca och P.

Syftet med denna studie var att undersöka koncentrationer av flera olika specifika variabler i urin och dessa variablers urinkreatininkvoter samt fraktionella utsöndring hos friska sällskapshundar för att få fram riktvärden för tolkning, så de i framtiden kan användas som diagnostiska tester.

LITTERATURÖVERSIKT

Biologisk variation och referensintervall

Det vanligaste sättet att tolka analytiska tester är att använda sig av referensintervall. Referensintervall är ett intervall av värden med en övre och nedre begränsning vilket är baserat på provtagningar från en grupp friska individer vars värden anses vara ”normala” (AACC, 2019).

Referensintervall har däremot begränsningar (Ricós *et al.*, 2004). Det finns framförallt två variabler som påverkar biologisk variation och dessa brukar delas upp i intra- och intervariabler. Intraindividuell skillnader är skillnader inom varje individ som kan påverka koncentrationen av olika variabler i både blod och urin såsom ålder, kön, vikt eller diet. Interindividuell skillnader är skillnader som påverkar värdet av olika variabler mellan individer. Intraindividuell skillnader är ofta mindre än interindividuell skillnader vilket medför att en individ kan ligga inom referensintervallet trots att det skett en signifikant förändring i värdet hos individen (Ricós *et al.*, 2004).

I dagsläget finns mycket få studier som beskriver nivåer av kemiska variabler, urinkreatininkvoter eller fraktionell utsöndring beräknade utifrån urin från friska hundar.

Urinkreatininkvoter och fraktionell utsöndring

Urinkreatininkvoter används istället för att mäta den absoluta koncentrationen av en variabel i urin för att korrigera för urinens koncentrationsgrad. En av de vanligaste variablerna att kvoterar är urinprotein/urinkreatininkvot (UPC) men även andra variabler kan kvoterar.

Det säkraste sättet att mäta fraktionell utsöndring av olika lösliga molekyler i urinen sker genom uppsamling av urin under 24 timmar (Segev *et al.*, 2015). Detta kräver egentligen konstant uppsamling av urin under den fastställda perioden och är därmed tidskrävande och ofta inom veterinärmedicin mindre lämpliga på grund av praktiska skäl då det kräver kateterisering eller andra omständiga uppsamlingsmetoder (Segev *et al.*, 2015). Fraktionell utsöndring kan härledas via matematiska formler för att få fram en matematisk ekvation vilket använder engångs urinprovstagning samt blodprov för att uppskatta utsöndringen av visst ämne (Brown *et al.*, 2015). Fraktionell utsöndring är procenten av ett ämne som filtreras av njuren som hamnar i urinen. Genom att mäta fraktionell utsöndring och inte den absoluta koncentrationen av ett ämne i urinen kommer man även ifrån problemet med att olika koncentrerad urin påverkar provsvaren liknande som vid kreatinin-kvoter (Brown *et al.*, 2015).

Fraktionell utsöndring av ett ämne X räknas ut med följande formel:

$$FX = \frac{(\text{urinkoncentration av } X) \times (\text{plasmakoncentration av kreatinin})}{(\text{urinkoncentration av kreatinin}) \times (\text{plasmakoncentration av } X)} \times 100$$

(Pressler, 2013; Segev *et al.*, 2015).

För bra värden på fraktionell utsöndring rekommenderar Pressler (2013) en standarddiet en vecka innan provtagning, att dehydrering korrigeras (hos en frisk individ kommer njurarna vid

dehydrering reabsorbera Na för att spara på vatten via påverkan av aldosteron) samt att relatera värdena till koncentrationerna av samma elektrolyt i blodet då höga koncentrationer av ämnet i blodet kommer att ge en högre fraktionell utsöndring. Det är även viktigt att hundarna inte har hormonella sjukdomar (Pressler 2013).

Kemiska metaboliter

Kreatinin i blod och urin

Kreatinin är en nedbrytningsprodukt från kreatininfosfat, en molekyl involverad i att omvandla ADP till ATP, i muskelceller och utsöndras kontinuerligt till blodet (Watson *et al.*, 2002). Koncentrationen kreatinin är därmed relativt konstant i plasma. Molekylen utsöndras dessutom fritt i glomeruli i njuren och resorberas ej i senare delar av njuren. Detta gör att kreatinin länge ansetts vara den bästa markören för GFR (glomerular filtration rate) och därmed utvärdering av njurfunktion (Watson *et al.*, 2002). Kreatinin påverkas även av minskad GFR på grund av pre-renal och postrenal orsaker samt påverkas av flera endogena och exogena faktorer, såsom ras, kroppsstorlek, ålder och hydreringsstatus (IRIS, 2013). Det är således svårt att få ett bra referensintervall som stämmer in på en större population (Von Hendy-Willson *et al.*, 2011).

Serum-kreatinin (S-kreatinin) påverkas av muskelmassa eftersom det är en nedbrytningsprodukt från kreatininfosfat i musklerna (Pelander *et al.*, 2019). Detta utgör ett problem eftersom det finns flera raser med stor spridning i både utseende och kroppsstorlek vilket varierar muskelmassa och gör det svårt att få bra referensvärden som stämmer för hela hundpopulationen. För de studier som tittat på normalvärde på S-kreatinin är det svårt få en bra sensitivitet utan att det leder till att flera hundar klassificeras som "falskt" azotemiska (Pelander *et al.*, 2019). Enligt studier gjorda av Pelander *et al.* (2019) på friska hundar kategoriserades flera större hundar som att de hade azotemi då flera hade kreatininvärden över gränsvärdet på 115 μmol S-kreatinin som användes som cut-off värde. Enligt IRIS, International Renal Interest Society (2015) finns även skillnader mellan olika raser trots att raserna storleksmässigt var relativt homogena; t.ex. greyhounds har ökat S-kreatinin efter arbete vilket inte slädhundar har. Även ålder och typ av födoing påverkar samt endogena tillfälliga faktorer såsom dehydrering (IRIS, 2015).

Kreatinin i urin används i uträkning av fraktionell utsöndring av andra variabler såsom elektrolyter eller för uträkning av UPC (urinprotein/urinkreatininkvot) vilket kompenserar för urindensitet och därmed tar bort vattenutsöndring som variabel som tidigare nämnts (Reddi, 2013). Eftersom kreatinin filtreras fritt i glomeruli och ej reabsorberas är kreatininkoncentrationen i urin vanligtvis hög (Reddi, 2013).

Urea i blod och urin

Urea är en liten vattenlöslig molekyl som kommer från metabolism av protein (Sjaastad *et al.*, 2010). Det är det lösta ämnet som det finns mest av i urin. Urea kan reabsorberas i proximala tubuli i njuren medan den ascenderande delen av Henles slinga, distala tubuli och kortikala delen av uppsamlingsrören är nästan helt opermeabla för urea som då inte kan reabsorberas i de senare delarna av njuren. I de senare delarna kan urea istället transporteras över cellmembranen med specifika transportörer (Sjaastad *et al.*, 2010). Urea i serum mäts ofta tillsammans med kreatinin för att utvärdera GFR men anses sämre då det bland annat påverkas av externa faktorer såsom svält, födoing, gastrointestinala blödningar och dehydrering (Medaille *et al.*,

2004). I studier gjorda av Medaille *et al.* (2004) var S-kreatinin och S-urea korrelerade, dock endast svagt, och S-urea hade en större spridning än S-kreatinin. Kreatinin anses därmed vara en bättre markör för GFR än urea men urea och kreatinin kan tolkas tillsammans för bästa resultat (Medaille *et al.*, 2004).

I urin kan urea användas som substitut för fraktionell utsöndring av Na (FE Na) (Reddi, 2013; Mutter & Korzelius, 2012). Inom humanmedicin när patienter får diuretika vid AKI (akut njurskada) stiger FE Na trots hypoperfusion i njurarna. Eftersom FE Na vanligtvis används för att differentiera prerenal azotemi från ATN (akut tubulär nekros) gör det att värdet av FE Na ej kan användas för utvärdering av dessa patienter. Istället används fraktionell utsöndring av urea (FE urea) som substitut då reabsorption av urea inte direkt påverkas av diuretika (Reddi, 2013; Mutter & Korzelius, 2012). Hos hypovolemiska människor är FE Urea < 35 % jämfört med 50 – 65 % hos euvolemiska patienter (Reddi, 2013). En studie på hundar med AKI visade ingen signifikant skillnad på FE Urea för att skilja på hundar med funktionell AKI (orsakad av för dålig genomblödning till njurarna) och strukturell AKI (direkt skada på glomeruli eller nefronen) vilket tros bero på att dess diagnostiska värde minskar p.g.a. stora individuella skillnader i ureametabolism, renal hantering och dietära skillnader (Troía *et al.*, 2018).

I urin förväntar vi oss en hög koncentration urea men värdena varierar då det bl.a. påverkas av njurens utsöndring av vatten (Reddi, 2013).

Protein i blod och urin

Majoriteten av alla plasmaproteiner syntetiseras i levern och dessa varierar i både storlek och funktion; allt från transportprotein till koagulationsfaktorer (IRIS, 2013). Alla dessa proteiner filtreras genom njuren och skiljer sig i både laddning och morfologi. De flesta protein hamnar inte i filtratet i njuren då de storleksmässigt är för stora för att passera det fenestrerade endotelet i glomeruli. Ytterligare hindras vissa proteiner från att komma ut i urinen eftersom de glomerulära kapillärerna är negativt laddade vilket även proteinerna är; detta medför att de repelleras och inte passerar genom det fenestrerade kapillärnätverket. De proteinmolekyler som filtreras reabsorberas normalt nästan helt i proximala tubuli (IRIS, 2013).

Proteinuri är ett begrepp som syftar på abnormal närvaro av olika proteiner i urin (Lees *et al.*, 2019). Hos friska individer bör protein i urinen vara låg men bör alltid tolkas i relation till urinens specifika vikt. Dessa kan vara olika sorters protein (albumin, globulin m.fl.) och kan orsakas av flera mekanismer. Ofta är det glomerulära skador i njuren som orsakar renal proteinuri då protein hamnar i filtratet (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2019). Proteinuri kan även bero på en mätnad i de transportörer som ska reabsorbera protein i tubuli eller en skada på de tubulära cellerna vilket i sin tur minskar deras kapacitet att reabsorbera proteinet (IRIS, 2013). Proteinuri kan uppstå till följd av prerenala anledningar och har påvisats vid multipelt myelom eller vid postrenala neoplasier i urinblåsan (Waldrop, 2008). Andra vanliga orsaker till proteinuri är på grund av postrenala orsaker såsom inflammation i urinvägarna eller blödning (Lees *et al.*, 2019). Både postrenala och prerenala anledningar till proteinuri måste därmed utestlutas innan renal proteinuri kan diagnosticeras.

Urinstickor är kolometriska testreaktionsremsor som doppas ner i urin och ändrar färg vid specifika biokemiska förändringar (Murgier *et al.*, 2009). Dessa är semikvantitativa och mäter

framförallt albumin vid koncentration > 300 mg/l. Positiva utslag förekommer i till exempel högt koncentrerad urin eller alkalisk urin då $\text{pH} > 7,5$, men är ovanligt. Alla urinprover som är positiva för protein i urinen bör följas upp med UPC oavsett specifik vikt om misstanke om renal proteinuri finns (Murgier *et al.*, 2009).

Urinprotein/urinkreatininkvot (UPC) används för att få en uppskattning av hur mycket protein som förloras i urinen och för att korrigera för urinens koncentrationsgrad. Friska hundar bör ha en $\text{UPC} < 0,5$ (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2019). Hos hundar påverkas UPC inte av kön, urinsamlingsmetod, om djuret är fastad eller ej eller när på dagen urinsamling gjorts. UPC kan även ge information om orsak till förlusten. En hög UPC på $> 2,0$, det vill säga där mycket protein förloras innebär en misstanke om att en glomerulär komponent bör finnas (Lees *et al.*, 2019). Försiktighet bör dock iaktas vid misstanke om cystit eller vid hematuri då inflammatoriska sjukdomar och erythrocyter i urinvägarna leder till protein i urinen. Därför bör även sediment undersökas vid bedömning av proteinuri (Lees *et al.*, 2019).

Cystatin C i blod och urin

Cystatin C är en inhibitor av endogena extracellulära proteinaser och produceras av alla kärnförande celler (Monti *et al.*, 2012). Den produceras liksom kreatinin kontinuerligt och är stabil i plasma samt filtreras fritt i glomeruli och reabsorberas nästan fullständigt i proximala tubuli (Nelson & Couto, 2014). Cystatin C har därmed föreslagits som en alternativ markör vid njurskada då den till skillnad från S-kreatinin är opåverkad av muskelmassa. Andra studier som är gjorda indikerar däremot att S-cystatin C inte alls är en bra markör för njurskada hos hund (Ghys *et al.*, 2014). En studie gjort av Pelander *et al.* (2018) konstaterade att både SDMA (symmetric dimethylarginine) och kreatinin hade ett högre diagnostiskt värde vid njursjukdom hos hund. Hos hund har S-cystatin C setts öka vid högre ålder vilket inte U-cystatin C gör (Monti *et al.*, 2012).

Få studier är gjorda på cystatin C i urin hos hund och inga normalvärden finns framtagna. U-cystatin C har setts öka i urinen vid olika sjukdomar hos hund som orsakar renal tubulär skada till exempel leishmanios (García-Martínez-Subiela *et al.* 2015).

Kalcium och fosfat i blod och urin

Kalcium, Ca, är den mest prevalenta katjonen i kroppen och har en viktig roll i skelettmineralisering, koagulation av blod och neuromuskulär fortledning (Sava *et al.*, 2005). Ca finns i flera former, där fritt joniserat Ca är den metaboliskt aktiva varianten. Resten är upplagrat i skelettet eller bundet till proteiner, framför allt albumin (Sava *et al.*, 2005). Fosfat, P, är en viktig komponent i levande celler samt som strukturell byggsten i ben och tänder. Hög S-P har sett vara en riskfaktor vid AKI (Brown *et al.*, 2015).

Reglering av Ca och P sker via tarmarna, njurarna och skelettet och regleras tillsammans för att uppnå homeostas i kroppen (de Brito Galvao *et al.*, 2013). Kvoten Ca/P i serum bör vara 2:1. Regleringen påverkas av framförallt tre olika hormoner; calcitriol, parathormon (PTH) och fibroblast growth factor 23 (FGF23). Kalcium och fosfat kan antingen utsöndras eller reabsorberas i njurarna vilket framförallt påverkas av PTH (parathormon). P filtreras fritt i njurarna och reabsorption styrs av behovet i kroppen, det vill säga styrs av plasmakoncentrationen. Om

P i plasma är låg medför det att P reabsorberas; annars sker en förlust som står i direkt proportion till plasmakoncentrationen med avseende på GFR (de Brito Galvao *et al.*, 2013). Endast obunden Ca samt anjon-bunden Ca kan filtreras (Sjaastad *et al.*, 2010). 60-70 % av reabsorptionen sker passivt i proximala tubuli tillsammans med Na. Regleringen sker huvudsakligen i de sista delarna av nefronen i Henles slinga och distala tubuli där receptorer för PTH finns. Utsondring av PTH ökar reabsorption av Ca i njurarna. Renalt upptag är så effektivt att endast 1-2 % av det filtrerade Ca utsöndras och Ca i urin bör därför vara låg (Sjaastad *et al.*, 2010). Calcitriol i sin tur ökar framför allt P- och Ca-absorption i magtarmkanalen (de Brito Galvao *et al.*, 2013). FGF23 är en relativt nyupptäckt molekyl som är med i regleringen av Ca och P (Fukagawa & Kazama, 2005). FGF23 utsöndras av framför allt osteocyter och minskar dels reabsorptionen av P i proximala tubuli och inhiberar dessutom utsöndring av PTH samt minskar cirkulerande calcitriol (Wolf, 2010).

Inte heller urinanalys av P och Ca är utförligt beskrivet och används sällan inom veterinärmedicin. FE P är inte utförligt undersökt men bör ligga under 40 %.

Koncentrationen Ca i urinen bör vara låg och hyperkalcemiuri har setts predisponera för sjukdom, såsom kalcium oxalatkristallformation och hyperkalcemiuri ses vid pankreatit, alkalemi (sekundärt till bikarbonaturi då Ca binder in till bikarbonat och utsöndras tillsammans), tumörer i thyroideas C-celler och renal sjukdom (Martorelli *et al.*, 2017).

Natrium i blod och urin

S-Na styrs av hypothalamus där osmoreceptorer signalerar förändringar i plasmaosmolaritet (Waldrop *et al.*, 2008). Om vatten behöver sparas utsöndras ADH för maximalt upptag av vatten i samlingsrören via aquaporiner. Genom reglering av Na styr kroppen även den cirkulerande volymen via stretchreceptorer i till exempel aortabågen (Waldrop, 2008). Cirkulerande volym styrs av olika hormoner, mest prominent av aldosteron (Mutter & Korzelius, 2012). Aldosteron ökar Na-reabsorption för att öka kroppens intravaskulära volym och om ökad reabsorption behövs utsöndras även ADH vilket ytterligare koncentrerar urinen genom ökad vattenresorption (Mutter & Korzelius, 2012).

Reabsorption av Na (70 % sker i proximala tubuli och 20 % i Henles slinga) ger drivkraft till reabsorption av andra ämnen, såsom glukos och aminosyror medan K och H kan utsöndras (Sjaastad *et al.*, 2010). I sista delen av distala tubuli sker reabsorptionen via hormonell påverkan genom aktiv transport (Waldrop, 2008). Vid utsöndring av både ADH och aldosteron blir slutresultatet urin med låg koncentration Na och ökad specifik vikt (Mutter & Korzelius, 2012).

Hos människor kan U-Na användas för att skilja på hypovolemi och renal tubulär dysfunktion hos patienter med azotemi (Waldrop, 2008). Maximal stimulering av RAAS (renin-angiotensinsystemet) vid hypovolemi ger U-Na så lågt som < 20 mEq/l (även U-Cl påverkas på samma sätt) medan en icke responsiv njure endast stimuleras och kan få värden på U-Na och U-Cl > 40 mEq/l. Hög U-Na kan förutom vid akut tubulär nekros även ses vid hypotyroidism, hypoadrenokorticism eller vid användning av diuretika. Man bör dock alltid tolka U-Na med försiktighet då en defekt i natriumreabsorption kan ge falskt hög U-Na trots till exempel hypovolemi eller i närvaro av polydipsi. Vid diabetes insipidus fås maximal utspädd urin och därmed låg U-Na. Man kan då istället använda fraktionell utsöndring av Na (Waldrop, 2008).

U-Na används även inom humanmedicin inom diagnostik av hypoadrenokorticism (Lennon *et al.*, 2017). Studier av Lennon *et al.* (2017) utvärderade användning av U-Na inom diagnostiken hos hundar med hypoadrenokorticism. Hypoadrenokorticism beror ofta på hypoadrenokorticism vilket leder till att Na förloras i urinen trots lågt Na i blodet. U-Na var signifikant högre hos hundar med hypoadrenokorticism och ingen av hundarna hade ett U-Na < 30 mmol/l. De föreslog därmed att ett U-Na < 30 mmol/l gör att sjukdomen Addison är osannolik men fler studier krävs för att kunna använda det diagnostiskt. Man bör dock utesluta andra anledningar till hög U-Na såsom hypotyreos, osmotisk diures eller renal skada (Lennon *et al.*, 2017).

Kalium i blod och urin

Kalium (K) är den intracellulära katjon det finns mest av i cellerna, endast 5 % finns i den extracellulära vätskan. Serum-K (S-K) är strikt reglerat då små förändringar kan vara potentiellt livshotande (eClinpath, 2019). Det mesta av det K som tas upp via dieten utsöndras i urinen (Reddi, 2013). Hos friska individer reflekterar därför koncentrationen K i urinen mängden dietärt K en individ får i sig då K sedan utsöndras i de distala delarna av njurnefronen (Reddi, 2013).

Avvikande S-K kan vara relaterat till ett absolut överskott, brist på K eller en skillnad mellan det intra- och extracellulära kaliumet s.k. ”shift” (eClinpath, 2019). Akut hyperkalemi beror ofta på en förändring mellan det intra- och extracellulära kaliumet medan kronisk hyperkalemi ofta är relaterat till en defekt i renal utsöndring relaterat till hypoadrenokorticism. Avvikelse kan även bero på anuri/oliguri, njursvikt eller obstruktion (Reddi *et al.*, 2013). Hypokalemi beror ofta på kronisk K-brist p.g.a. gastrointestinal eller renal förlust (eClinpath, 2019).

Njurens hantering av K skiljer sig avsevärt jämfört med Na (Sjaastad *et al.*, 2010). Nästan allt K reabsorberas i proximala tubuli och Henles slinga paracellulärt och sekundärt till det osmotiska flödet av vatten, för att sedan utsöndras i distala tubuli. Det är i distala tubuli regleringen sker beroende på om kroppen behöver utsöndra eller uppta K via Na/K-pumpar (Sjaastad *et al.*, 2010). Aldosteron är det hormon som påverkar utsöndringen av K mest (Sjaastad *et al.*, 2010; eClinpath, 2019). K påverkas även av vattenreabsorption i samlingsrören, urinflöde samt pH (Reddi *et al.*, 2013; eClinpath, 2019).

U-Kalium mäts inom humanmedicin för att se om njuren svarar ändamålsenligt på koncentrationen K i serum (Reddi, 2013). Vid hyperkalemi ska njurarna utsöndra kalium och vid hypokalemi reabsorberas men eftersom kaliumutsöndring påverkas av flödet kan sjukdomar med påföljande polyuri förstärka en förlust av K via urinen trots hypokalemi. Eftersom huruvida kroppen utsöndrar eller sparar på vatten påverkar koncentrationen K i urinen (minskad vattenreabsorption minskar kaliumutsöndring och tvärt om) används transtubulär K⁺ gradient (TTKG) inom humanmedicin för att korrigera för vattenabsorptionens påverkan (Reddi, 2013). Den används som surrogat för mätning av K i samlingsrören samt aldosteronpåverkan (Mutter & Korzelius, 2012; Reddi, 2013).

Glukos i urin

Glukos filtreras fritt genom glomeruli och reabsorberas i proximala tubuli (Nelson & Couto, 2014). Normalt resorberas nästan allt glukos inom den första halvan av proximala tubuli och

det sker via en sekundär aktiv transport. Glukos hamnar i urinen om det blir en överbelastning av de transportprotein som i normala fall reabsorberar glukos. Blod-plasmavärden över 10 mmol/l hos hund överstiger den renala kapaciteten och innebär att glukos utsöndras i urinen (Nelson & Couto, 2014). Hos en frisk individ ska det således endast finnas mycket små mängder glukos i urinen. De vanligaste orsakerna till glukosuri är hormonella sjukdomar (diabetes mellitus), stressrelaterad hyperglykemi hos katt, olika defekter (medfödda eller förvärvade) hos de tubulära transportproteinerna eller skada på de tubulära epitelcellerna vid akut njurskada (Heiene *et al.*, 2010). Glukosuri ses mer sällan hos kroniskt njursjuka hundar (Heiene *et al.*, 2010).

Diagnostisk användning av fraktionell utsöndring och urinkreatininkvoter

Renal skada ändrar dels filtration och dels urinproduktion (Brown *et al.*, 2015). Det har därför föreslagits att fraktionell utsöndring kan användas som både en tidig potentiell markör för njurskada och prognostiskt för renal återhämtning hos patienter med akut njursvikt (AKI) (Brown *et al.*, 2015). AKI är associerad med plötslig minskning i GFR och förändringar i urinvolym samt ökad utsöndring av vissa variabler. Serum och urinkemi används inom humanmedicin för att bedöma graden av AKI och för att skilja på funktionell och strukturell AKI samt prognos (Troía *et al.*, 2018). En funktionell AKI beror på hypoperfusion till njurarna vilket leder till en minskad GFR, det är således ingen skada på njurparenkymet (Konstantinos & Loukia, 2016). Det kan orsakas av till exempel minskad blodvolym till njuren på grund av en hypovolemisk chock. En strukturell AKI däremot beror på direkt skada på njuren; på tubuli, glomeruli, interstitiet eller de intrarenala blodkärlen. Detta kan orsakas av till exempel nefrotoxiner, infektioner eller renal ischemi (Konstantinos & Loukia, 2016).

Överlevande hundar med AKI hade högre FE av elektrolyter (Na, Ca, K) och fraktionell utsöndring kunde även differentiera funktionell AKI från strukturell AKI. Hos hundar med azotemi var FE av Na, Cl och K högre hos nästan alla hundarna jämfört med de friska individerna. Detta gällde framförallt hos de individer med mer allvarlig renal azotemi (Buranakarl *et al.*, 2007). Reddi (2013) såg en skillnad på FE Na vid prerenal azotemi (<1 %) jämfört med akut tubulär nekros (>2 %-3 %). FE Cl ger ofta inte mer information än den som kan fås av FE Na (Waldrop, 2008). Ifall skillnaden mellan U-Na och U-Cl >15 mEq/l hos ett hypovolemiskt djur beror det däremot sannolikt på en utsöndring av Na tillsammans med en annan anjon, såsom bikarbonat, eller katjon, till exempel ammoniak. Detta sker ofta vid en metabolisk alkalos. Waldrop (2008) föreslår tre scenarion där analys av Na och Cl i kombination är mest användbart: 1: NSAID-toxicitet, 2: monitorering av aminoglykosider och 3: allvarlig hypotension. Det finns dessutom fördelar jämfört med mätning av S-urea eller S-kreatinin vid akut njurskada då dessa serumvariabler dels har låg sensitivitet för detektion av AKI och dels ofta inte stiger förrän 36-48 timmar efter skadetillfället. Detta gäller även analys av specifik vikt på urinen då det påverkas av diuretika vilket dessa patienter ibland får som behandling vid förekomst av nedsatt urinproduktion (Waldrop, 2008).

Värmeslag kan leda till AKI (Segev *et al.*, 2015). Patogenesen är troligtvis multifaktoriell (minskad perfusion, direkt termal skada, systemic inflammatory response syndrome, med mera) men leder i slutändan till tubulär och glomerulär njurskada. Vid en AKI grad 1 enligt IRIS indelning kan S-kreatinin vara inom referensintervallet och det är därmed svårt att använda

kreatinin som diagnostisk variabel. I en studie på hundar med värmeslag av Segev *et al.* (2015) var FE Na 4 timmar efter presentation på kliniken mellan 0,01-0,41 % och var signifikant högre hos hundar med AKI grad 1-4 jämfört med hundar som inte klassades ha AKI. Således drog de slutsatsen att FE Na kan vara en bra, kostnadseffektiv variabel för diagnostik vid tidig njurskada. Även urinprotein/urinkreatininkvot var signifikant högre jämfört med kontrollgruppen (Segev *et al.*, 2015). Liknande sågs i en studie av Brown *et al.* (2015), nämligen att FE av urea, Na, K, Ca, Mg, glukos och P stadigt minskade hos hundar med AKI under behandlingstiden. Hos de hundar som dog sågs ingen förbättring eller till och med en försämring i fraktionell utsöndring. En stadig minskning av FE föreslogs bero på en gradvis återhämtning av epitelcellerna i njuren. Alla hundar med AKI som inkom hade vid presentation FE Na >20 och FE K > 150 %. Även fraktionell utsöndring av andra ämnen var påverkade, såsom glukos, Ca och P, men var inte prognostiskt för återhämtning eller som differentiering mellan olika grupper (Brown *et al.*, 2015).

En studie av cystatin C i urin som potentiell markör vid njursjukdom gjord av Monti *et al.* (2012) kom fram till att U-cystatin C och U-cystatin C/kreatininkvot kunde skilja på njursjuka och friska hundar och att det var en lovande markör. U-cystatin C/kreatinin-kvot fungerar dock snarare som ett funktionellt test för tubulär funktion än för glomerulär dysfunktion då cystatin C reabsorberas och degraderas av cellerna i proximala tubuli. Det skulle därmed inte ersätta utan snarare komplettera redan existerande analyser av S-kreatinin eller S-cystatin C. Det fanns inga större skillnader i koncentrationen S-cystatin C och U-cystatin C mellan friska och hundar sjuka i en icke njurrelaterad sjukdom men U-cystatin C/urinkreatininkvot var signifikant skilt. Det diskuterades om det kunde bero på för få djur i studien och/eller en åldersskillnad mellan hundarna i studien men fler studier krävs för att kunna dra en slutsats (Monti *et al.*, 2012). Användbarheten av både U-cystatin C och cystatin C/urinkreatininkvot för förutsägelse av närvaro, allvarlighetsgrad och prognos vid njursjukdom har dock diskuterats då studier kommit fram till motstridiga resultat (Pressler, 2013).

Fraktionell utsöndring av fosfat kan potentiellt vara en värdefull markör vid kronisk njursjukdom hos hundar (Martorelli *et al.*, 2017). Kontroll av fosfatnivåer i kroppen är viktigt för hantering av hundar med kronisk njursjukdom (CKD) eftersom hyperfosfatemi bidrar till progression av sjukdomen. FE P kan indikera en närvaro av fosfatstörning hos hundar med CKD och därmed påverka behandlingsplan. Detta kan användas prognostiskt hos hundar där sjukdomen är långt gången då en minskning av FE P associerat till hyperfosfatemi indikerar en större förlust av antalet nefron i njuren. Det krävs mer forskning innan det kan användas kliniskt (Martorelli *et al.*, 2017).

Fraktionell utsöndring av fosfat har även använts inom diagnostik hos hundar med akromegali (Fracassi *et al.*, 2014). Hos hundar med akromegali sågs ett signifikant lägre FE P vilket tros bero på antingen en ökad koncentration av vitamin-D på grund av ökad GH (tillväxthormon) och/eller IGF-1 (insulin-like growth factor-1) alternativt p.g.a. IGF-1 medierad calcitriol. Detta i sin tur leder till ökad tubulär fosfatresorption (Fracassi *et al.*, 2014).

Fanconis syndrom är ett av de sjukdomstillstånd där fraktionell utsöndring har använts extensivt diagnostiskt (Freeman *et al.*, 1994). Fanconis syndrom innebär defekter i renal reabsorption och

orsakar förlust av bland annat vatten, glukos, P, Na, K och bikarbonat till urinen medan serum-nivåerna i kroppen ligger normalt (Freeman *et al.*, 1994).

MATERIAL OCH METOD

I den här studien inkluderades prover från två olika insamlingar och totalantalet blev 30 hundar. Totalt provtogs och undersöktes 20 nya hundar men två fick exkluderas. En hund exkluderas då den upplevde blodprovstagnning som mycket stressande och en annan då urinprovtagning inte lyckades förrän flera timmar efter blodprovstagnning. För de övriga 12 proverna användes serum och urin från hundar provtagna i samband med Hanna Palmqvists foderstudie. Alla hundarna inkom till kliniken på Universitetsdjursjukhuset i Uppsala på morgonen alternativt förmiddagen och var fastade. Inga restriktioner gavs i fråga om vattenintag innan provtagning. I enstaka fall togs blodprov och urinprov på eftermiddagen om hundarna kunde fasta fram tills dess.

Hundar under 6 månader exkluderas men ingen övre åldersgräns sattes så länge hunden var frisk. Djurägarna fick fylla i en enkät med frågor om hundens hälsostatus och eventuell medicinering samt frågor angående typ av diet. Hundarna skulle vara friska, dock godkändes vissa åldersrelaterade förändringar såsom mindre kutana nybildningar samt artros. Provtagning skedde löpande under september till november 2019.

Hundarna i studien var av rasen riesenschnauzer (2 st), flatcoated retriever (2 st), Nova Scotia duck tolling retriever (2 st), pointer (2 st), blandras (2 st), lagotto (2 st), blandras (2 st), mellanpudel (2 st), staffordshire bullterrier, welsh springerspaniel, engelsk springerspaniel, beagle, whippet, chinese crested, labrador, shetland sheepdog, bodercollie, greyhound, samojed, mexikansk nakenhund, kooikerhondje, berner sennen, dansk-svensk gårdshund samt en okänd ras.

23 av 30 hundar var tikar. Medelåldern på hundarna var 4 år, den yngsta hunden var 2 år och den äldsta 11 år. Medelvikten var 19,7 kg och varierade från 5 kg till 42,7 kg.

Urin och blodprov från hundarna i Hanna Palmqvists studie var insamlat under augusti 2019 i samband med en utfodringsstudie och proverna var sparade i -20° fram till analys i den här studien. Alla hundarna från utfodringsstudien hade ätit samma vetebaserade foder inför provtagningen.

Studierna var godkänd av djurförsöksetiska nämnden, Dnr: 5.8.18-15533/2018 samt Dnr: 5.8.18-18808/2017.

Blodprov

Blodprov togs med vacutainer enligt standardrutiner. Ett 5 ml serumrör fylldes och tid för blodprovstagnning antecknades. Tiden från urinprov tills att blodprov togs översteg aldrig en timmes tid. Centrifugering av serumröret skedde efter att provet fått stå 30-60 min och därefter analyserades blodproverna vid kliniska kemiska laboratoriet.

Följande blodprovsvariabler analyserades: kreatinin, cystatin C, urea, glukos, protein, elektrolyterna natrium (Na) och kalium (K), klorid (Cl), kalcium (Ca) och fosfat (P). De flesta variabler analyserades i serum inom 3 timmar från provtagning medan vissa provers serum analyserades

vid ett senare tillfälle. Kreatinin, urea, glukos, protein, elektrolyter, Ca och P analyserade med kemiska metoder (spektrofotometri) med ett automatiskt kemiinstrument Architect c4000 (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA) med reagens från Abbott Laboratories medan cystatin C analyserades med en immunoturbidometrisk metod från Gentian AB (1509 Moss, Norway). Innan proverna analyserades kördes kontrollprover som kvalitetskontroll.

Serum som blev över efter den initiala analysen frystes in i två kryorör (500 µl var) och förvarades i fryr för eventuell vidare analys vid ett senare tillfälle.

Urinprov

Djurägare tog själva urinprov i de flesta fallen. Urin som undersöktes var spontankastad, helst mittstråleprov, med material tillhandahållet av kliniken (papperstallrik och centrifugrör). Proverna analyserades samma dag, inom en timme, med avseende på specifik vikt med refraktometer (ATAGO Master-URC/Na U.G. 1.000-1.050, ATAGO co LTD, Tokyo, Japan) samt urinsticka som avlästes maskinellt (Urisys 1100 urine analyzer, Roche Diagnostics, Basel, Schweiz).

En del av urinprovet surgjordes genom att urinen blandades noga och därefter pipetterades 380 µl i ett kryorör med 20 µl HCl (3.2 M) för senare analys av Ca och P. Proverna frystes in i -20° fram tills analys skulle ske. Resten av urinen centrifugerades (1800 varv/min, 5 min). 1,5 ml av supernatanten frystes in i 3 separata kryorör och sparades för senare analys. Urinsediment undersöktes med avseende på framförallt vita blodkroppar och kristaller eftersom dessa fynd kan vara kopplade till protein och mineralkoncentrationen i urinen. Även röda blodkroppar, cylindrar samt epitelceller räknades manuellt.

Urinproverna analyserades med Architect c4000 (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA) under oktober och november 2019 månad på kliniska kemiska laboratoriet, UDS SLU. Samma metoder som för serum användes men med anpassade program för urinprover med spädningar och mätområden anpassade för hundurin. De surgjorda urinproverna pH-testades med pH-papper för att se att tillräckligt lågt pH uppnåts. pH efter surgörning var <3 på samtliga surgjorda urinprover.

Statistik

Resultaten presenterades som koncentration, urinkreatininkvoter samt fraktionell utsöndring. Surgjorda prover räknades om genom att multiplicera resultatet med 1.05 för att korrigera för spädningen på grund av tillsatsen HCl.

Urinkreatininkvoter för samtliga kemiska variabler räknades ut med formel:

$$UX: Cr = \frac{(\text{urinkoncentration av ämne } X)}{(\text{urinkoncentration av kreatinin})}$$

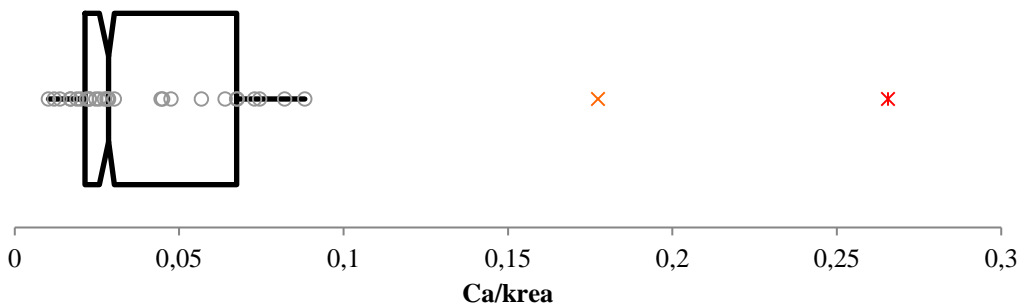
Viktigt vid användning av ovanstående formel för uträkning av kvoter är att bägge variablerna har samma enhet.

Fraktionell utsöndring räknades ut för samtliga kemiska variabler med formeln:

$$FX = \frac{(\text{urinkoncentration av } X) \times (\text{plasmakoncentration av kreatinin})}{(\text{urinkoncentration av kreatinin}) \times (\text{plasmakoncentration av } X)} \times 100$$

Planen initialt var att använda referensprogrammet Reference Value Advisor v2.1. Reference Value Advisor är ett program som räknar ut referensintervall utifrån värden i excelformat. Eftersom antalet prover understeg 40 var det för få prover för att använda rekommenderade standard nonparametric referensintervall. Alla provresultaten analyserades därmed med Reference Value Advisor och plottar för alla variabler bedömdes, se exempel i Figur 1.

Resultaten presenteras med deskriptiv statistik där värdena presenteras som median och max-min då de flesta värden ej var normalfördelade. Många variabler hade en sned fördelning, se exempel i figur 1.



Figur 1. Urin-kalcium/urinkreatininkvot i spontankastad urin från 30 friska sällskapshundar.

Figur 1 visar samtliga värden från den här studiens urinkalcium/urinkreatininkvot. Figuren visar en distribution som sågs hos flertalet av variablerna för koncentrationerna och även efter uträkning av urinkreatininkvoter samt fraktionell utsöndring. Resultaten valdes att presenteras som min-max och inte som referensvärden på grund av ett lågt totalantal provtagna hundar samt en icke normalfördelad spridning. Riktvärdena har beräknats genom att exkludera det högsta värdet, eftersom de tydligt avvikande värdena var höga. Vanligtvis utgår man från 95 % av populationen vid fastställande av referensintervall då i ett givet test i normalpopulationen hamnar 5 % utanför referensintervallet. I det här fallet exkluderas ett prov av 30, vilket blev 96,7 %.

RESULTAT

Resultat från 30 friska sällskapshundar sammanställdes för att få urinkemivärden som kan användas för tolkning vid olika kliniska tillfällen. Enstaka inkluderade hundar avvek vid undersökning av urinsediment och analys av serum. Bakterier i urinsedimentet sågs i urinprov från en hund men inkluderades i studien då inga kliniska symptom såsom onormal urinering eller ökad törst sågs och klinisk undersökning var utan anmärkning. Vidare var hundens analyserade serumvärden normala. Två hundar hade lindrigt avvikande sediment med lindrigt till måttligt ökat antal erythrocyter. En av dessa hundar löpte och den andra förväntades börja löpa inom kort. Denna hund brukar även ha så kallade tysta löp och därför antogs erythrocyterna bero på löp då inget annat kliniskt avvikande kunde ses. Även U-protein låg normalt och även dessa hundar inkluderades därmed i studien. Endast en hund hade serumvärde tydligt utanför referensvärde med ett S-urea på 18,3 mmol/l (ref 2,5–8,8). Eftersom övriga variabler var inom referens och hunden var kliniskt frisk inkluderades hunden och ureavärdet i studien. I studien låg ytterligare 5 av 30 hundar strax utanför referensvärde för en variabel vardera vid analys av serum. Bland annat hade en hund ett S-krea på 140 µmol/l (refv 46–115 µmol/l) och var av rasen greyhound.

Urinens specifika vikt varierade från 1,020 till >1,050 vilket bedömdes som normalt då alla hundar upplevdes ha normal törst av djurägaren.

Koncentrationen av kreatinin, urea, Na, K, Cl, Ca, P glukos, protein och cystatin C i urin från 30 friska hundar presenteras i tabell 1. Resultaten är presenterade som median och min-max. Resultat för fraktionell utsöndring syns i Tabell 2 och kreatininkvoter syns i Tabell 3 och presenteras som median, min-max och riktvärden. I riktvärdena är det högsta värdet är exkluderat, dvs inkluderar 96,7% av populationen.

Enstaka värden presenteras endast som ett övre gränsvärde då koncentrationen var för låg för exakt kvantifiering. Ett nedre riktvärde skulle därmed ej vara tillförlitligt.

Tabell 1. *Urinkoncentration (median och min-max) av kliniskt kemiska variabler i spontankastad urin från 30 friska sällskapshundar*

Variabel i urin	Median	Min-max
Urea (mmol/l)	937	416 - 1616
Natrium (mmol/l)	60	< 20 - 243
Kalium (mmol/l)	148	55 - 265
Klorid (mmol/l)	141	<20 - 290
Kalcium (mmol/l)	0,79	0,26 - 3,8
Fosfat (mmol/l)	73	6,6 - 144
Glukos (mmol/l)	0,54	0,26 - 2,06
Cystatin C (mg/l)	0,02	0 - 0,12
Protein (g/l)	0,13	0,04 - 3,28

Tabell 2. Median, min-max och riktvärden för fraktionell utsöndring (FE) av kliniskt kemiska variabler i spontankastad urin från 30 friska sällskapshundar

Variabel i urin	Median	Min-max	Riktvärden
FE Urea (%)	65	38 - 93	38 - 86
FE Natrium (%)	0,16	< 0,02 - 0,66	< 0,58
FE Kalium (%)	11	5,9 - 35	5,9 - 22
FE Klorid (%)	0,48	< 0,02 - 1,2	< 1,2
FE Kalcium (%)	0,10	0,04 - 0,89	0,04 - 0,61
FE Fosfat (%)	22	2,4 - 45	2,4 - 38
FE Glukos (%)	0,04	0,03 - 0,26	0,03 - 0,17
FE Cystatin C (%)	0,02	0 - 0,25	< 0,20
FE Protein (% x 10 ³)	0,72	0,12 - 12	0,12 – 6,6

Tabell 3. Median, min-max och riktvärden på urinkreatininkvoter beräknade på urinkoncentrationen kvoterad med urinkreatinin från samma hund från spontankastad urin hos 30 friska sällskapshundar

Variabel i urin	Median	Min-max	Riktvärden
Urea/krea	45	25 - 148	25 – 124
Natrium/krea	3,0	< 0,4 - 12,4	< 11,4
Kalium/krea	6,6	3,4 - 19,2	3,4 – 18,7
Klorid/krea	6,7	< 0,37 - 26,5	< 17,2
Kalcium/krea	0,03	0,01 - 0,28	< 0,19
Fosfat/krea	3,82	0,52 - 5,9	0,52 – 5,0
Glukos/krea	0,02	0,01- 0,1	< 0,1
Cystatin C/krea (x 10 ⁶)	7,4	0- 65	< 35
Prot/krea	0,06	0,01 – 1,1	< 0,47

DISKUSSION

I denna studie beskrivs koncentration, urinkreatininkvot och fraktionerad utsöndring för 10 olika kemiska variabler i urin hos 30 friska sällskapshundar. Förutom en del studier om urinprotein och urinprotein/urinkreatininkvot, så finns det få publicerade studier som beskriver normaldata för kemiska variabler i hundurin. Antalet hundar i denna studie var för få för att kunna beräkna exakta referensvärden, så istället presenteras riktvärden för tolkning baserat på 97 % av den provtagna populationen. Dessa riktvärden får därför anses som riktmärken och inte absoluta gränser. Framförallt hundar som ligger över det föreslagna riktvärdet men kring maxvärdet bör tolkas med försiktighet. Fler hundar behöver provtas för att få fram mer slutgiltiga referensvärden, men dessa data ger ett underlag för att använda både urinkreatininkvoter och fraktionell utsöndring som ett komplement vid t.ex. utredningar av hundar med akut och kronisk njursvikt (Martorelli *et al.*, 2017; Monti *et al.*, 2012), vid hypoadrenokorticism (Lennon *et al.*, 2017) eller Fanconis syndrom (Freeman *et al.*, 1994).

I den här studien beräknades både värden för urinkreatininkvoter och fraktionell utsöndring. Fördelen med urinkreatininkvoter är att de endast kräver ett urinprov medan fraktionell utsöndring kräver både urinprov och blodprov taget inom några timmar. Dels blir analyserna för fraktionell utsöndring dyrare och mer tidskrävande och dels kräver det att patienten inkommer till kliniken för blodprovstagning. Potentiellt kan urinen tas hemma av djurägaren för att sedan frysas in och analyseras vid ett senare tillfälle för urinkreatininkvoter. Nackdelen med urinkreatininkvoter är att man inte får en helhetsbild då urinkoncentrationen inte relateras direkt till serumnivån vid samma tillfälle. Fraktionell utsöndring kan därför anses mer pålitligt.

Resultaten från studien visar att det finns en relativt stor spridning i urinkemivärdena och att dessa inte var normalfördelade. För vissa av variablerna i denna studie presenteras värden med endast ett övre riktvärde. Det berodde på att koncentrationen av ämnet i urin var för lågt för exakt kvantifiering. Detta gällde för U-Na (4 st) men även U-Cl (1 st) och U-cystatin C (1 st).

Det finns en publicerad studie om fraktionell utsöndring baserad på provtagning av 48 greyhounds för framtagning av referensvärden för fem urinkemivariabler (Bennet *et al.*, 2006). I studien togs enstaka urinprov och blodprov för att sedan räkna ut fraktionell utsöndring. Precis som i den här studien var flertalet variabler inte normalfördelade. I den studien föreslogs följande referensvärden för fraktionell utsöndring hos greyhounds: Na <0,72, K <12,2, Cl <0,55, Ca <0,13 och P <16,5. Endast övre referensvärden angavs då det är av större vikt vid utvärdering av tubulär njurskada samt då flera prover hade koncentrationer som var för låga för analys, framförallt Na och Cl. Riktvärdena för fraktionell utsöndring för elektrolyter och mineraler i urin från greyhound (Bennet *et al.*, 2006), var generellt lägre än i den här studien. Greyhounds har ofta referensvärden som ligger utanför referensvärden för andra hundraser t.ex. vad gäller S-kreatinin, S-Na och S-Cl (Freeman *et al.*, 2003). Detta kan därmed förklara det avvikande S-kreatininet på en av hundarna i den här studien. En studie av Freeman *et al.* (2003) provtog 30 greyhounds och föreslog referensintervall på 106–168 $\mu\text{mol/l}$ för S-kreatinin hos greyhounds (medelvärde 141 $\mu\text{mol/l}$). Greyhunden i den här studien låg på ett S-krea på 140 $\mu\text{mol/l}$. Alla greyhound i studien fick samma kommersiella foder (1 % salt) under blodprovstagningen vilket också skulle kunna förklara de generellt lägre referensvärdena.

En annan studie av Laroute *et al.* (2005) jämförde fraktionell utsöndring hos valpar och vuxna hundar av rasen beagle. De kom fram till följande värden hos de vuxna individerna (medelvärde \pm SD): Na $0,17 \pm 0,082$, K $8,1 \pm 3,83$, Cl $0,26 \pm 0,127$, Ca $0,099 \pm 0,060$ och P $18,4 \pm 7,01$ (Laroute *et al.*, 2005). De presenterade medelvärdena av Laroute *et al.* (2005) stämmer bra överens med medianvärdena för vår studie.

I den här studien användes enstaka urinprov och blodprov för att utvärdera urinkreatininkvoter och fraktionell utsöndring. Det finns andra metoder med både fördelar och nackdelar jämfört med metoderna i den här studien. Renal clearance är den mest pålitliga metoden för utvärdering av njurens hantering av elektrolyter vilket är en proportionell konstant som beskriver relationen mellan hastigheten en elektrolyt överförs till urinen i tidsenheter och dess koncentration i urinen samt även volymen serum som totalt filtreras genom njurarna (Watson *et al.*, 2002). Det räknas ut genom att dividera hur mycket av elektrolyten som hamnar i urinen över en viss tid med medelvärdet av plasmakoncentrationen för sagd elektrolyt över samma tidsperiod. Värdet som fås blir i ml/min/kg (Watson *et al.*, 2002). Metoden är dock mer tidskrävande och används därför endast inom forskning. Det är varken funktionellt ur tidsaspekt eller praktisk synpunkt på sjuka patienter inom veterinärmedicin. Andra metoder kräver att man först räknar ut GFR via 24 timmars insamling av urin. Hunden placeras i en specialdesignad bur så kallad ”metabolismbur” som kan upplevas stressande och kräver att djuren tränas att bli bekväma i det för att få pålitliga värden (Kurien *et al.*, 2004; Watson *et al.*, 2002). Man måste dessutom tvätta av buren för att få med eventuellt intorkade ämnen. Detta är inte heller rimligt att använda kliniskt men kan användas för forskning. Hos större djur men även för hund har kateter använts för uppsamling av urin under 24 timmar (Brewer *et al.*, 1991; Kurien *et al.*, 2004). Kateterisering medför dock en risk att tillföra bakterier och därmed ge en iatrogen urinvägsinfektion (Kurien *et al.*, 2004).

Fördelen med metoden som använts i den här studien är att det endast kräver ett blodprov och urinprov och patienten behöver därmed inte vara en ineliggande patient. Nackdelen är att trots enstaka prover som tas vid samma tidpunkt är värdet i serum ett momentant värde som reflekterar hur koncentrationen är i blodet vid exakt den tidpunkten. Värdet i urinen är däremot, trots enstaka provtagning, värdet av variabeln som poolats och samlats sedan senaste tömning av blåsan. Studier gjorda på neonatala föl visade dock inga större skillnader i värde för clearance under 6 efter varandra följande tvåtimmarsperioder jämfört med fraktionell utsöndring via enstaka urin- och blodprovstagningar (Brewer *et al.*, 1991). Även Brown *et al.* (2015) testade fraktionell utsöndring av flera variabler vid AKI hos hundar och kom fram till att fraktionell utsöndring stämde väl överens med clearance med en generellt hög korrelation. Liknande studier gjorda på katter under 72 timmar kom däremot fram till att enstaka provtagningar inte alls var bra som uppskattning och flertalet variabler hamnade utanför medelvärdet ± 2 SD för fraktionell utsöndring över hela studiens tidsperiod (Finco *et al.*, 1997).

Urinvariabler, framförallt fraktionell utsöndring, är som tidigare nämnt inte särskilt väl undersökt inom veterinärmedicin. Studier gjorda på fraktionell utsöndring visar på stora interindividuella skillnader i utsöndring och diet anses vara en av de faktorer som påverkar urinkoncentration mest. En standarddiet som Pressler (2013) rekommenderar innan undersökning av FE var inte önskvärt i den här studien då det så gott som möjligt skulle reflektera verkligheten inom

veterinärmedicin. Eftersom hundar som inkommer till kliniken vid sjukdom eller för annan diagnostik inte kommer ha haft en standarddiet var den här studien inte heller utformad utefter det kriteriet. Man kan dock förvänta sig en större spridning och därigenom svårare tolkning av både fraktionell utsöndring och urinkreatininkvoter eftersom dieten påverkar flera variabler i urinen. Intressant är att proverna från Hanna Palmqvists foderstudie alla hade ätit samma vete-baserade standardfoder inför provtagning. 12 av 30 hundar i den här studien har således stått på en standarddiet och intagit samma föda medan de andra 18 hundarna alla utfodrats med olika foder. I studien fanns både hundar som ätit torrfoder och hundar som ätit rawfoder, samt en blandning av båda. Tyvärr fanns inte mineralinnehållet i standardfodret att få tag på men det är något som hade varit intressant att studera vidare för att jämföra värde för urinkreatininkvoter samt fraktionell utsöndring jämfört med de andra hundarna i studien som ätit av den icke-standardiserade födan. Vid undersökning av de värden som låg över eller i de övre gränserna för den här studiens föreslagna riktvärden tillhörde majoriteten av värdena de hundar som inte gått på en standarddiet.

Samtliga hundar i studien var fastade eftersom intag av föda påverkar urinkomposition. Det har till exempel länge ansetts att proteinintag kan öka njurens hemodynamik (Woods & Young, 1991). Studier visar att GFR kan öka i njuren med 25-50 % i flera timmar efter konsumtion av ett proteinrikt mål, vilket inte ses i samma utsträckning vid intag av kolhydrater eller fettrika måltider. FE Na ökade från 0,24 till 0,71 90 minuter efter intag av en proteinrik måltid hos hundar (Woods & Young, 1991). Fasteprover är speciellt viktigt hos patienter med misstänkta njurtubuliskador eller defekter då fasta utmanar patientens förmåga att spara på elektrolyter eller andra variabler i ett tillstånd med brist (Bennett *et al.*, 2006).

I denna studie var könsfördelningen ojämn med 23 tikar av totalt 30 hundar. Det är dock osäkert huruvida kön påverkar utsöndring av de variabler inkluderade i den här studien då få studier är gjorda inom ämnet. Inga studier på hund finns angående skillnader i fraktionell utsöndring mellan tikar och hanhundar i dagsläget; studier visar däremot en skillnad i urinosmolalitet där tikar har 17 % lägre osmolalitet jämfört med hanar (Izzar & Rosborough, 1989). Det är därmed möjligt att andra skillnader existerar men osäkert hur mycket det påverkar resultaten i den här studien.

POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Vid besök hos läkare eller veterinär tas ibland blod-och/eller urinprov för utredning av specifika sjukdomstillstånd. Dessa provsvar jämförs med förutbestämda värden som baseras på referensintervall, intervall som beräknats fram genom provtagning av friska individer. Utan dessa riktvärden skulle ett blod-och/eller urinprov inte kunna tolkas och därmed leda den medicinskt kunnige vidare i sin utredning.

På humansidan används analys av flera kemiska ämnen i urin vid vissa sjukdomar, detta är fortfarande ovanligt inom veterinärmedicin. Tolkning av urinkemi medför svårigheter i jämförelse med samma analys på blod. Till skillnad från blodanalyser som vanligtvis har ett relativt smalt omfång på normalvärden kan man förvänta sig en större spridning hos urinalyserna. Detta beror på att värdena påverkas inte bara av hur mycket av ämnet som utsöndras i urinen utan även av hur mycket vätska som utsöndras. Båda värdena kan variera avsevärt och utsöndring av ämnen i urinen påverkas av flera faktorer såsom diet, medicinering, om kroppen är i jämvikt med avseende på tänkta ämnet eller inte samt njurfunktion för att nämna några exempel.

Denna studie undersökte koncentrationen av ämnena i urin hos friska hundar, samt beräknade urinkreatininkvoter och fraktionell utsöndring. Urinkreatininkvot innebär att man delar koncentrationen av ett ämne i urin med koncentrationen av kreatinin i urin. Även fraktionell utsöndring räknades ut, vilket är hur stor del (procenten) av ett ämne som kommer ut med urinen. Båda dessa metoder försöker komma ifrån inverkan av hur mycket vätska urinen innehåller då det försvårar tolkning. Studien undersökte följande ämnen i urinen: kreatinin, urea, natrium (Na), kalium (K), klorid (Cl), kalcium (Ca), fosfat (P), glukos, cystatin C och protein.

Hundarna kom till universitetsdjursjukhuset (Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala) på morgonen eller förmiddagen och var fastade, d.v.s. de hade inte ätit på morgonen. Först samlades urin från hunden och därefter gjordes en undersökning av hunden för att se att den var frisk. Efteråt, inom en timme av urinprovet, togs ett blodprov. Blodprovet analyserades på klinisk kemiska laboratoriet, SLU, och urinen undersöktes. En del av urinen frystes in och sparades för att analyseras senare. I mikroskop undersöktes urinen framförallt med avseende på blod, vita blodkroppar och kristaller eftersom det kan påverka proteinkoncentrationen i urinen.

Vid undersökning av urinen i mikroskop sågs lite avvikelser hos några hundar, såsom blod eller bakterier i urinen. Men eftersom hundarna inte visade några symptom på sjukdom och deras blodanalyser var normala kunde de vara med i studien.

I studien redovisas median, min-max-värden samt riktvärden för tolkning för urin-kreatininkvot och fraktionell utsöndring för 10 olika urinkemivariabler.

Eftersom för få hundar var med i studien för att beräkna referensvärden får riktvärdena anses vara riktmärken och inte absoluta gränser. Framförallt hundar som ligger över det föreslagna riktvärdet men kring maxvärdet bör tolkas med försiktighet. Fler hundar behöver provtas för att få fram mer slutgiltiga referensvärden, men dessa data ger ett underlag för att börja använda både urinkreatininkvoter och fraktionell utsöndring som ett komplement vid t.ex. utredningar av hundar med njursvikt, både akut och kronisk eller vid t.ex. hormonella sjukdomar. Det finns enstaka tidigare studier som undersökt fraktionell utsöndring hos friska hundar. I en studie med

prover från beaglehundar var deras medelvärden för elektrolyter och mineraler snarlika med medianvärdena i den aktuella studien.

Det finns även andra metoder som kan användas för att utvärdera kreatinin-kvoter och fraktionell utsöndring. Det som anses bäst innebär konstant uppsamling av urin under längre perioder, ofta under 24 h. Mätning av ämnena i urinen jämfört med hur mycket av blodet i kroppen som filtrerats genom njuren. Den här metoden är mer tidskrävande och används endast inom forskning. Andra metoder är att hunden placeras i en ”uppsamlingsbur” för urin. Hundar tycker dock ofta att det är stressande och behöver vänja sig och det används därför inte heller på sjuka djur. Man kan även använda en kateter som förs upp i urinblåsan men då finns risk för urinvägsinfektion.

Vid forskning på ämnen i hundars urin och hur det utsöndras så brukar hundarna i studierna stå på ett standardiserat foder. Detta eftersom vad man äter också påverkar vad som hamnar i urinen. I den här studien var det inte önskvärt eftersom det så mycket som möjligt skulle spegla hur det ser ut på ett djursjukhus. Till djursjukhus inkommer patienter som äter olika sorters foder och därmed behöver riktvärdena också baseras på olika typer av foder. Det kan däremot då bli svårare att tolka koncentrationen av ett ämne i urinen. Därmed är det också viktigt att, när det är möjligt, provta hundar som är fastade d.v.s. inte har ätit på några timmar. Detta eftersom värdena i studien är baserade på hundar som fastat över natten. Intag av mat påverkar hur mycket av ämnet som hamnar i urinen och försvårar tolkningen av provresultaten.

I denna studie var könsfördelningen ojämn med 23 tikar av totalt 30 hundar. Man vet inte hur mycket kön påverkar de ämnen som kan hamna i urinen. Däremot har studier visat att hanar kan koncentrera sin urin mycket mer än vad tikar kan. Det är därför möjligt att andra skillnader existerar.

REFERENSER

- AACC (2019). *Reference Ranges and What They Mean / Lab Tests Online*. <https://lab-testsonline.org/articles/laboratory-test-reference-ranges> [28 Oct. 2019]
- Bazzi, C. & D'Amico, G. (2002). The urinary excretion of IgG and α 1-microglobulin predicts renal outcome and identifies patients deserving treatment in membranous nephropathy. *Kidney International*, 61:2276.
- Bennett, S., Abraham, L., Anderson, G., Holloway, S. & Parry, B. (2006). Reference limits for urinary fractional excretion of electrolytes in adult non-racing Greyhound dogs. *Australian Veterinary Journal*, 84:393-397.
- Brewer, B., Clement, S., Lotz, W. & Gronwall, R. (1991). Renal clearance, urinary excretion of endogenous substances, and urinary diagnostic indices in healthy neonatal foals. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 5:28-33.
- Brown, N., Segev, G., Francey, T., Kass, P. & Cowgill, L. (2015). Glomerular filtration rate, urine production, and fractional clearance of electrolytes in acute kidney injury in dogs and their association with survival. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29:28-34.
- Cornell University College of Veterinary Medicine. (2019). *Urinalysis*. <https://www.vet.cornell.edu/animal-health-diagnostic-center/testing/protocols/urinalysis> [18 Nov. 2019].
- de Brito Galvao, J., Nagode, L., Schenck, P. & Chew, D. (2013). Calcitriol, calcidiol, parathyroid hormone, and fibroblast growth factor-23 interactions in chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 23:134-162.
- Deegens, J. & Wetzels, J. (2007). Fractional excretion of high- and low-molecular weight proteins and outcome in primary focal segmental glomerulosclerosis. *Clinical Nephrology*, 68:201-208.
- eClinpath. (2019). *Potassium / eClinpath*. <http://eclinpath.com/chemistry/electrolytes/potassium/> [27 Oct. 2019].
- Feeman, W., Couto, C. & Gray, T. (2003). Serum creatinine concentrations in retired racing Greyhounds. *Veterinary Clinical Pathology*, 32:40-42.
- Finco DR., Brown, SA., Barsanti, JA., Bartges JW. & Cooper, TA. (1997) Reliability of using random urine samples for spot determination of fractional excretion of electrolytes in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 58:1184-7.
- Fracassi, F., Zagnoli, L., Rosenberg, D., Furlanello, T. & Caldin, M. (2014). Spontaneous acromegaly: A retrospective case control study in German shepherd dogs. *The Veterinary Journal*, 202:69-75.
- Freeman, L., Breitschwerdt, E., Keene, B. & Hansen, B. (1994). Fanconi's syndrome in a dog with primary hypoparathyroidism. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 8:349-354.
- Fukagawa, M. & Kazama, J. (2005). With or without the kidney: the role of FGF23 in CKD. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 20:1295-1298.
- García-Martínez, J., Martínez-Subiela, S., Tvarijonavičiute, A., Caldin, M. & Ceron, J. (2015). Urinary ferritin and cystatin C concentrations at different stages of kidney disease in leishmaniotic dogs. *Research in Veterinary Science*, 99:204-207.
- Ghys, L., Paepe, D., Smets, P., Lefebvre, H., Delanghe, J. & Daminet, S. (2014). Cystatin C: A new renal marker and its potential use in small animal medicine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28:1152-1164.
- Heiene, R., Bjorndal, H. & Indrebo, A. (2010). Glucosuria in Norwegian elkhounds and other breeds during dog shows. *Veterinary Record*, 166:459-462.

- IRIS, International Renal Interest Society (2013). *Proteinuria, measurement and interpretation of proteinuria and albuminuria*. <http://iris-kidney.com/education/proteinuria.html> [2019-09-23].
- IRIS, International Renal Interest Society (2015). *Creatinine (Dog) - Interpreting blood creatinine concentration in dogs*. http://iris-kidney.com/education/creatinine_dogs.html [2019-09-23].
- Izzat, N. & Rosborough, J. (1989). Renal function in conscious dogs: Potential effect of gender on measurement. *Research in Experimental Medicine*, 189:371-379.
- Konstantinos, M. & Loukia, S. (2016). Acute kidney injury: definition, pathophysiology and clinical phenotypes. *The Clinical Biochemist Reviews*, 37:85-98.
- Kurien, B., Everds, N. & Scofield, R. (2004). Experimental animal urine collection: a review. *Laboratory Animals*, 38:333-361.
- Laroute, V., Chetboul, V., Roche, L., Maurey, C., Costes, G., Pouchelon, J., De La Farge, F., Boussof, M. & Lefebvre, H. (2005). Quantitative evaluation of renal function in healthy Beagle puppies and mature dogs. *Research in Veterinary Science*, 79:161-167.
- Lees, G., Brown, S., Elliott, J., Grauer, G. & Vaden, S. (2019). Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: *2004 ACVIM Forum Consensus Statement (Small Animal)*.
- Lennon, E., Hummel, J. & Vaden, S. (2017). Urine sodium concentrations are predictive of hypoadrenocorticism in hyponatraemic dogs: a retrospective pilot study. *Journal of Small Animal Practice*, 59:228-231.
- Martorelli, C., Kogika, M., Chacar, F., Caragelasco, D., de Campos Fonseca Pinto, A., Lorigados, C. & Andrade, L. (2017). Urinary fractional excretion of phosphorus in dogs with spontaneous chronic kidney disease. *Veterinary Sciences*, 4:67.
- Medaille, C., Trumel, C., Concordet, D., Vergez, F., & Braun, J. P. (2004). Comparison of plasma/serum urea and creatinine concentrations in the dog: a 5-year retrospective study in a commercial veterinary clinical pathology laboratory. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 51:119-123.
- Monti, P., Benchekroun, G., Berlato, D. & Archer, J. (2012). Initial evaluation of canine urinary cystatin C as a marker of renal tubular function. *Journal of Small Animal Practice*, 53:254-259.
- Murgier, P., Jakins, A., Bexfield, N. & Archer, J. (2009). Comparison of semiquantitative test strips, urine protein electrophoresis, and an immunoturbidimetric assay for measuring microalbuminuria in dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 38:485-492.
- Mutter, W. & Korzelius, C. (2012). Urine chemistries. *Hospital Medicine Clinics*, 1:338-e352.
- Nelson, R. & Couto, C. (2014). *Small animal internal medicine*. 5. ed. Elsevier Mosby
- Pelander, L. (2018) *Chronic kidney disease in the dog*. Diss. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala
- 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. (2007). Diagnosis of hyperadrenocorticism in dogs. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 22:2-11.
- Pressler, B. (2013). Clinical approach to advanced renal function testing in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 43:1193-1208.
- Reddi, A. (2013). Interpretation of urine electrolytes and osmolality. *Fluid, Electrolyte and Acid-Base Disorders*, 13-19.

- Ricós, C., Cava, F., García-Lario, J., Hernández, A., Iglesias, N., Jiménez, C., Minchinela, J., Perich, C., Simón, M., Domenech, M. & Álvarez, V. (2004). The reference change value: a proposal to interpret laboratory reports in serial testing based on biological variation. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 64:175-184.
- Sava, L., Pillai, S., More, U. & Sontakke, A. (2005). Serum calcium measurement: Total versus free (ionized) calcium. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 20:158-161.
- Segev, G., Daminet, S., Meyer, E., De Loor, J., Cohen, A., Aroch, I. & Bruchim, Y. (2015). Characterization of kidney damage using several renal biomarkers in dogs with naturally occurring heat-stroke. *The Veterinary Journal*, 206:231-235.
- Sjaastad, Ø., Hove, K. and Sand, O. (2010). *Physiology of domestic animals*. 2. ed. Norway: Scandinavian Veterinary Press.
- Troia, R., Gruarin, M., Grisetti, C., Serafini, F., Magna, L., Monari, E., Giunti, M. & Dondi, F. (2018). Fractional excretion of electrolytes in volume-responsive and intrinsic acute kidney injury in dogs: Diagnostic and prognostic implications. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32:1372-1382
- Waldrop, J. (2008). Urinary electrolytes, solutes, and osmolality. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 38:503-512.
- Watson, A., Lefebvre, H., Concordet, D., Laroute, V., Ferré, J., Braun, J., Conchou, F. & Toutain, P. (2002). Plasma exogenous creatinine clearance test in dogs: comparison with other methods and proposed limited sampling strategy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16:22.
- Wehner, A., Hartmann, K. & Hirschberger, J. (2008). Utility of serum cystatin C as a clinical measure of renal function in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 44:131-138.
- Wolf, M. (2010). Forging forward with 10 burning questions on FGF23 in kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, 21:1427-1435.
- Von Henty-Willson, V. & Pressler, B. (2011). An overview of glomerular filtration rate testing in dogs and cats. *The Veterinary Journal*, 188:156-165.
- Woods, L. & Young, E. (1991). Impaired renal hemodynamic response to protein feeding in dogs with experimental Fanconi syndrome. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 261:14-21.