

UTILISATION
DE LA CLAIRANCE PLASMATIQUE DE
L'IOTHALAMATE
POUR LA DETERMINATION
DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE
CHEZ LE CHIEN :
COMPARAISON AVEC LES AUTRES
METHODES

A Monsieur le Professeur Jean-Louis MONTASTRUC

Professeur des Universités,
Praticien Hospitalier,
Pharmacologie médicale et clinique,
qui nous à fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

A Monsieur le Professeur Hervé LEFEBVRE

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Physiologie et thérapeutique,
qui a bien voulu diriger notre travail.

Qu'il puisse trouver dans cet ouvrage l'expression de notre plus vive gratitude et de notre profond respect.

A Monsieur le Docteur Jean-Luc GUERIN

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Productions animales,
qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.

Sincères remerciements.

Remerciements à Messieurs les Professeurs **SAUTET J.** et **RUBERTE J.**, ainsi qu'à la
société d'édition **MULTIMEDICA.**

A mes parents,

Pour le soutien et la confiance dont ils ont fait preuve ; qu'ils trouvent à travers ce travail une modeste récompense à tous leurs efforts.

A mes grands parents, Marie-Rose et Marcel,

C'est aussi grâce à vous que je suis devenu vétérinaire. Merci.

A ma sœur et à mon frère,

Pour m'avoir supporter durant toutes ces années, que tous leurs souhaits se réalisent.

A toute ma famille

A la Mémoire de mes Grands Parents, Janine et Albert

A mes Amis

A Romain et Cécile (Dada et Buz), Jérôme et Sylvie (Djedje et Meuh), Jérôme et Violaine (Thévenal et Vio), Xavier et Emilie (Vax et Milou), Emmanuel (Tapan), Geoffrey (Jeff), Cédric (Minetto), Olivier et Béatrice (Renato et Béa), François et Séverine (Chouchou et Sév), Raphaël (Raph), Sébastien (Cochon), Charles, Michaël et Frédérique (Bubble et Fred), Carole, Anne-Sophie (Anneso), Jean-Manuel (Zooz), Freddy...

A toutes les personnes qui se reconnaîtront derrière ces noms

Les Claudettes, Brassine, St Simon, Maya, Bayonne...

Un grand merci à Fred, Céline et Thévenal pour la logistique...

LISTE DES ILLUSTRATIONS

<u>Figure 1</u>	: Topographie des reins de la chienne d'après Ruberte J. et Sautet J.	13
<u>Figure 2</u>	: Coupe saggitale d'un rein et son organisation d'après Ruberte J. et Sautet J.	14
<u>Figure 3</u>	: Le néphron et ses tubules collecteurs d'après Banks W.J.	16
<u>Figure 4</u>	: Détail du corpuscule rénal d'après Burkitt H.G., Young B. et Heath J.W.	19
<u>Figure 5</u>	: Le filtre glomérulaire d'après Banks W.J	20
<u>Figure 6</u>	: Schéma des pressions mise en jeu d'après Reece W.O.	24
<u>Figure 7</u>	: Exemple de l'évolution de la croissance plasmatique lors d'une perfusion constante	41
<u>Figure 8</u>	: Exemple de l'évolution de la concentration plasmatique lors d'une injection unique en IV.	46
<u>Figure 9</u>	: Illustration du modèle tricompartimental.	48
<u>Figure 10</u>	: Interprétation graphique de la concentration plasmatique de l'inuline d'après Miyamoto.	51
<u>Figure 11</u>	: Formule de l'iothalamate.	69
<u>Figure 12</u>	: Exemples de chromatogrammes.	72
<u>Figure 13</u>	: Représentation semi-logarithmique de la concentration plasmatique de l'iothalamate chez les chats avant et après chirurgie.	79

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau 1</u>	: Valeurs de la clairance de l'inuline et de la créatinine endogène chez le chien d'après Finco et coll.	44
<u>Tableau 2</u>	: Valeurs de la clairance urinaire de l'inuline et de la créatinine exogène chez le chien d'après Finco et coll.	44
<u>Tableau 3</u>	: Valeurs de la clairance plasmatique de l'inuline chez le chat d'après Miyamoto.	52
<u>Tableau 4</u>	: Comparaison des valeurs obtenues chez le chien par Fettman et coll., Bovée et coll. et Finco et coll.	54
<u>Tableau 5</u>	: Clairance de la créatinine endogène sur des animaux vigiles et anesthésiés d'après Bovée et coll.	59
<u>Tableau 6</u>	: Valeurs du DFG obtenues sur des chiens sains dans différentes études.	61
<u>Tableau 7</u>	: Valeurs des clairances de l'inuline, de la créatinine et de l'iothalamate sur six chiens Beagles sains.	88

LISTE DES ABBREVIATIONS

ADH : Hormone Anti-Diurétique

AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien

AUC : Aire sous la courbe

C : Concentration

Cl : Clairance

C_u : Concentration libre de la substance

DFG : Débit de Filtration Glomérulaire

F_u : Fraction libre de la substance

GC : pression oncotique dans la lumière du capillaire

HPLC : High Performance Liquid Chromatography

(Chromatographie en phase liquide de haute performance)

IEC : Inhibiteur de l'Enzyme de Conversion

IRC : Insuffisance Rénale Chronique

IV : Intraveineuse

K : constante de perméabilité de la paroi du glomérule

k₁₀, k₁₂, k₂₁, k₁₃, k₃₁ : constantes d'équilibre

P_{GC} : pression hydrostatique dans la lumière du capillaireglomérulaire

P_T : pression hydrostatique dans la capsule de Bowman

SC : Sous-cutanée

SNGFR : Single Nephron Glomerular Filtration Rate

(Débit de filtration glomérulaire par néphron)

τ : pression oncotique dans la capsule de Bowman

TCD : Tube Contourné Distal

TCP : Tube Contourné Proximal

v_{filtration} : vitesse de filtration

PLAN

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE : LA FILTRATION GLOMERULAIRE

I. ANATOMIE

II. HISTOLOGIE DU GLOMERULE

III. PHYSIOLOGIE DE LA FILTRATION

IV. VARIATIONS DE LA FILTRATION

SECONDE PARTIE : MESURES DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE

I. MESURES DIRECTES

II. MESURES DIRECTES

**TROISIEME PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE
L'IOTHALAMATE**

I. DESCRIPTION DE LA MOLECULE

II. METHODE DE DOSAGE

III. PHARMACOCINETIQUE DE L'IOTHALAMATE

IV. TOXICITE

V. UTILISATION POUR LA MESURE DU DFG

QUATRIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

I. MATERIEL ET METHODES

II. RESULTATS

III. DISCUSSION ET CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

SOMMAIRE

INTRODUCTION

Un des syndromes majeurs du chien âgé est l'insuffisance rénale chronique (IRC). Ainsi sur une population de chiens présentant cette pathologie, 45% des animaux sont âgés de plus de 10 ans [108]. Cette affection est progressive, d'évolution lente et secondaire à une néphropathie chronique et irréversible.

Le diagnostic de l'IRC est basé sur des signes biologiques et cliniques. L'azotémie, qui est le principal signe biologique, correspond à une augmentation de l'urée et de la créatinine sanguine. Les manifestations cliniques sont polymorphes (signes généraux, troubles digestifs, perturbation de la diurèse). Elles permettent d'orienter le diagnostic qui est souvent tardif et de pronostic mauvais, du fait de son irréversibilité. Le besoin d'évaluer la fonction rénale précocement, avant l'apparition de symptômes cliniques, est donc primordial.

Pour cela, il existe des techniques indirectes reposant sur le dosage de marqueurs plasmatiques (urée, créatinine) filtrés par le glomérule ou des techniques directes reposant sur la mesure du débit de filtration glomérulaire. Le dosage des marqueurs plasmatiques est une méthode qui possède des avantages pratiques indéniables, mais elle reste tardive. La mesure du débit de filtration glomérulaire est une méthode directe plus sensible car permettant une estimation précise de l'état fonctionnel des reins. La mesure du débit de filtration glomérulaire peut se réaliser par l'intermédiaire d'une collecte d'urine ou par l'étude d'une cinétique plasmatique d'un marqueur approprié.

L'iothalamate, produit de contraste, est une molécule dont la clairance plasmatique a notamment été utilisée comme marqueur du débit de filtration glomérulaire chez le chat. L'objectif de ce travail est de confirmer l'hypothèse que la clairance plasmatique de l'iothalamate peut être utilisée comme marqueur du débit de filtration glomérulaire chez le chien, en le comparant aux méthodes classiquement utilisées avec d'autres marqueurs (dans le cas présent la créatinine et l'inuline).

1^{ère} Partie

LA FILTRATION GLOMERULAIRE.

I. ANATOMIE

I-1 Caractères macroscopiques et morphologiques

Les reins du chien sont unifiés, lisses en surface, et possèdent une crête rénale. Ils ont une forme de haricot, et sont essentiellement de couleur rouge sombre [105]. Ils ont approximativement la même taille, et représentent environ 0,5% du poids corporel [18, 104, 105].

Le rein droit est situé sous les vertèbres thoraciques 12 et 13, lombaires 1, 2 et 3 ; le rein gauche est situé en position légèrement plus caudale [104, 105] (figure 1 [118]).

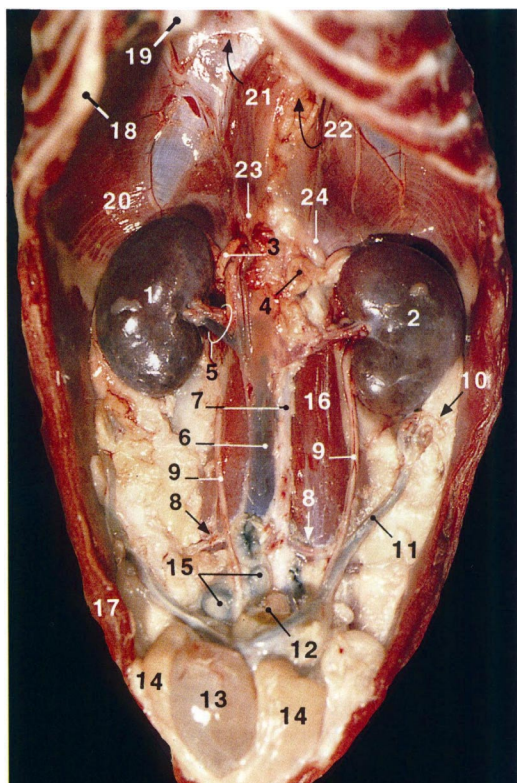
Le rein présente deux zones bien distinctes :

- une portion superficielle de couleur foncée : le cortex
- une portion plus profonde de couleur plus claire : la médulla. La médulla est composée d'une série de structure conique : les pyramides de Malpighi ou pyramides médullaires. Ces structures sont en contact avec la zone interne du cortex, et leurs sommets (papilles) sont dirigés vers le calice [7, 18, 27, 104, 126] (figure 2 [118]).

Différentes structures sont présentes dans ces deux zones. Le cortex contient le corpuscule rénal, des tubules, du tissu interstitiel, et des vaisseaux.

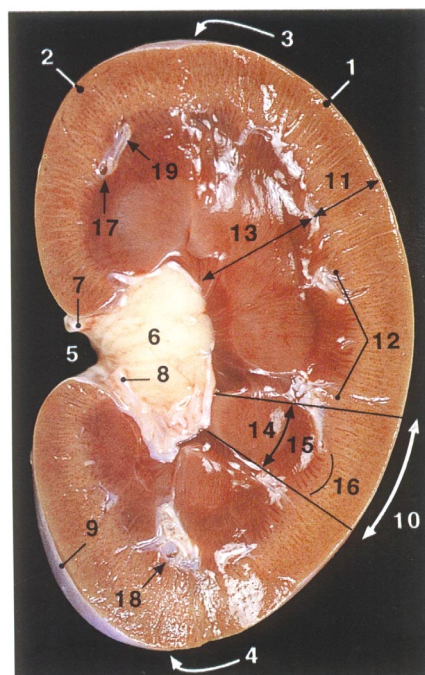
La médulla est divisée en deux parties distinctes et différenciable à l'œil nu :

- la médullaire externe qui contient des portions de tubules droits proximaux, de tubules droits distaux, d'anse de Henlé et des portions externes des tubes collecteurs médullaires.
- la médullaire interne qui contient des portions d'anse de Henlé et des portions internes des tubes collecteurs médullaires [18, 105].



- 1** Rein droit. **2** Rein gauche. **3** Glande surrénale (droite). **4** Glande surrénale (gauche).
5 Artère et Veine rénales. **6** Veine cave caudale. **7** Aorte abdominale.
8 Artère et Veine circonflexes iliaques profondes. **9** Uretère. **10** Bourse ovarique.
11 Corne utérine. **12** Colon descendant. **13** Vessie. **14** Ligament latéral de la vessie.
15 Lymphocentre ilio-sacré. **16** Muscles grand psoas et petit psoas. **17** Muscles de l'abdomen.
18 Cartilage costal (13^{ème}). **19** Processus xiphoïde. **20** Partie lombaire (diaphragme).
21 Orifice de la veine cave caudale. **22** Hiatus oesophagien. **23** Pilier droit. **24** Pilier gauche.

***Figure 1 : Topographie des reins de la chienne
d'après Ruberte J. et Sautet J. [118]***



- 1** Bord latéral. **2** Bord médial. **3** Extrémité caudale. **4** Extrémité crâniale. **5** Hile rénal.
6 Sinus rénal. **7** Artère rénale. **8** Veine rénale. **9** Capsule fibreuse. **10** Lobe rénal.
11 Cortex rénal. **12** Colonnes rénales. **13** Médulla du rein. **14** Pyramide rénale.
15 base de la pyramide. **16** Partie radiée. **17** Artère interlobaire du rein. **18** Veine interlobaire.
19 Artère arquée.

Figure 2 : Coupe saggitale d'un rein et son organisation d'après Ruberte J. et Sautet J [118].

I-2 Unité fonctionnelle : le néphron

L'unité fonctionnelle du rein est le néphron, dont le nombre moyen est de 400 000 par rein chez le chien [18].

Le néphron est composée du **corpuscule rénal** et de **tubes corticaux** et **médullaires** [126] (figure 3 [7]).

I-2.1 Le corpuscule rénal

Le corpuscule rénal (élément de filtration) est constitué du glomérule et de la capsule de Bowman. A l'exception de quelques glomérules ectopiques, tous les glomérules sont localisés dans la partie corticale du rein.

I-2.2 Les tubes corticaux et médullaires

I-2.2.1 Le tube contourné proximal

Le tube contourné proximal (TCP) est la partie la plus longue du néphron [7, 27]. Il prend naissance au niveau du pôle urinaire du corpuscule rénal [27]. Le TCP se retrouve essentiellement dans le parenchyme cortical. Il est le siège d'importants phénomènes de réabsorption et de sécrétion [7, 27].

I-2.2.2 L'anse de Henlé

L'anse de Henlé possède une portion large et une portion étroite. C'est le prolongement du TCP [27]. Chaque anse naît dans le cortex rénal. Elle se prolonge dans la médulla par sa branche descendante et remonte dans le cortex par sa branche ascendante [7, 27, 117].

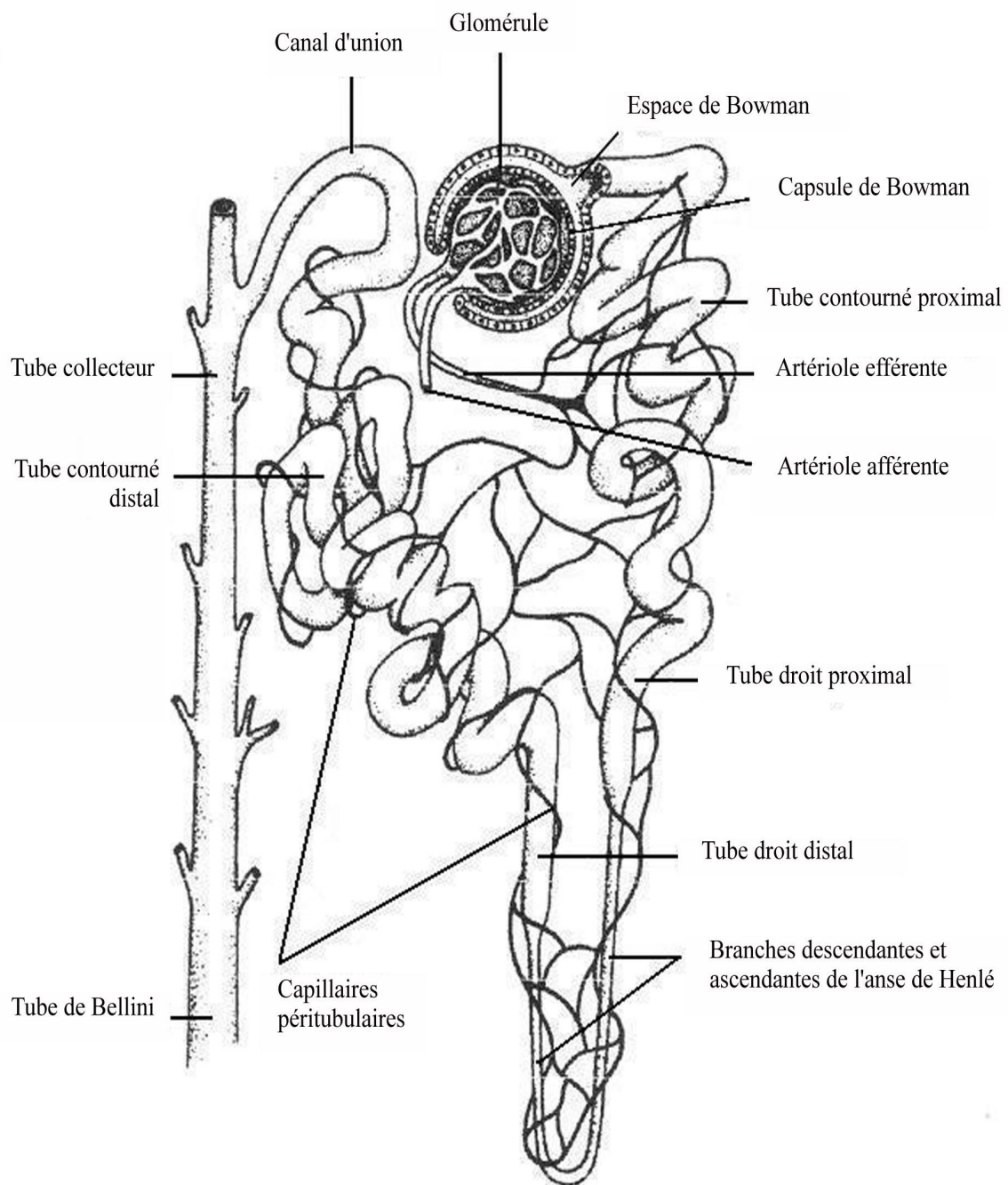


Figure 3 : Le néphron et ses tubules collecteurs
d'après Banks W.J. [7]

I-2.2.3 Le tube contourné distal

Le tube contourné distal (TCD) est le prolongement de la branche ascendante de l'anse de Henlé. Il se trouve essentiellement dans le cortex. Il s'abouche au tubule collecteur [7, 27]. Le TCD joue un rôle important dans l'équilibre acido-basique [27].

I-2.3 L'appareil juxta-glomérulaire

L'appareil juxta-glomérulaire est situé dans un espace compris entre les artérioles afférentes, les artérioles efférentes, le glomérule et la partie du tubule contourné distal [18]. Cet appareil comprend deux parties : la macula densa et le lacis [116]. L'appareil juxta-glomérulaire, qui est une zone de contact, joue un rôle primordial dans la régulation fine de la fonction rénale [7, 27].

I-3 Vascularisation rénale

Les deux reins reçoivent 25% du débit cardiaque [18]. La vascularisation provient de l'aorte abdominale. Celle-ci donne naissance aux artères rénales à environ un centimètre du hile [126]. Elles se divisent alors dans le hile, en 3 à 6 rameaux interlobaires par rein. Ces rameaux se divisent ensuite en artères arquées [27], puis interlobulaires, et enfin en artérioles glomérulaires afférentes qui irriguent le glomérule. Le sang repart alors par les artérioles glomérulaires efférentes, qui se résolvent en capillaires [126] (figure 3).

Les veines rénales rejoignent ensuite la veine cave caudale [104, 105, 118].

Remarque : des veinules étoilées en position sous-capsulaires sont visibles [105, 126].

II. HISTOLOGIE DU GLOMERULE

Le glomérule est un réseau de capillaires anastomosés qui s'invagine dans la capsule de Bowman [117] (figure 4 [27]).

II-1 Vascularisation glomérulaire

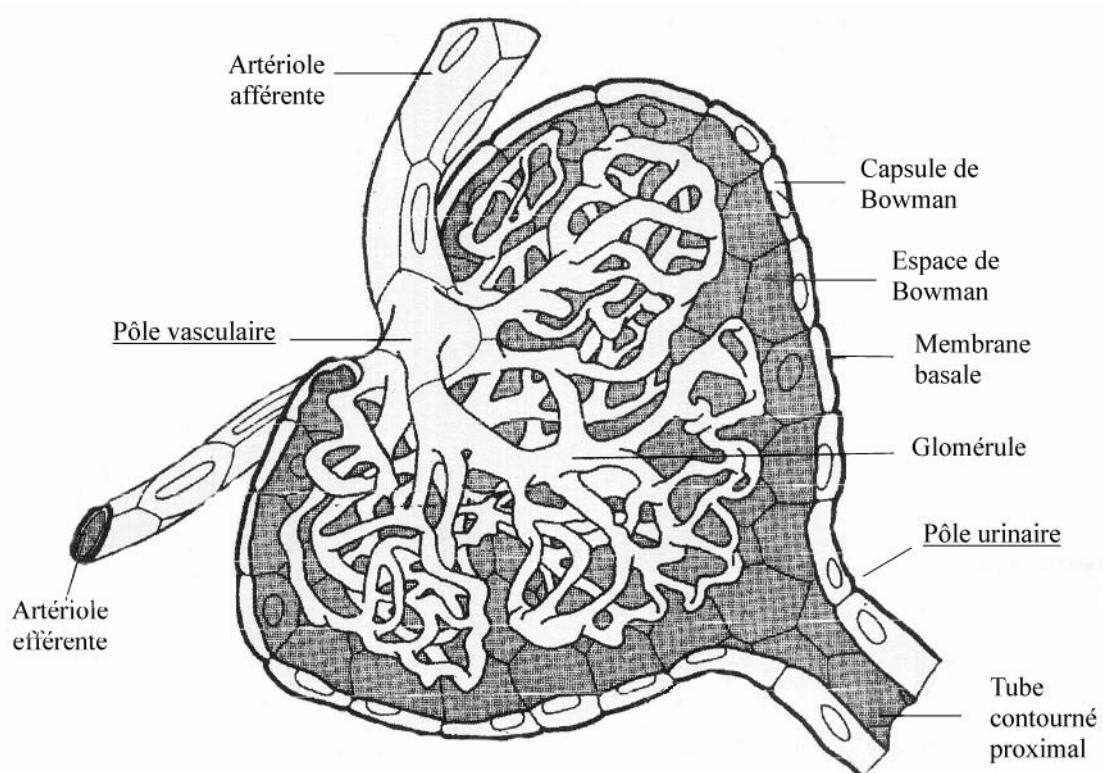
Le sang arrive dans le glomérule par l'artériole afférente. L'artériole afférente pénètre dans la capsule de Bowman par le pôle vasculaire [7]. Le glomérule est un réseau de capillaires anastomosés qui se retrouve ainsi suspendu dans la chambre glomérulaire (l'espace de Bowman) [27]. L'ultrafiltration du sang se réalise au niveau du réseau de capillaire glomérulaire et l'ultrafiltrat traverse la chambre glomérulaire avant de rejoindre le système tubulaire [126]. Le sang quitte ensuite le glomérule par l'artériole efférente pour irriguer le système tubulaire [126]. L'artériole efférente est de diamètre plus petit que l'artériole afférente [27]. Ainsi elle permet le maintien d'un gradient de pression qui intervient dans la filtration du plasma [27].

II-2 Le filtre glomérulaire

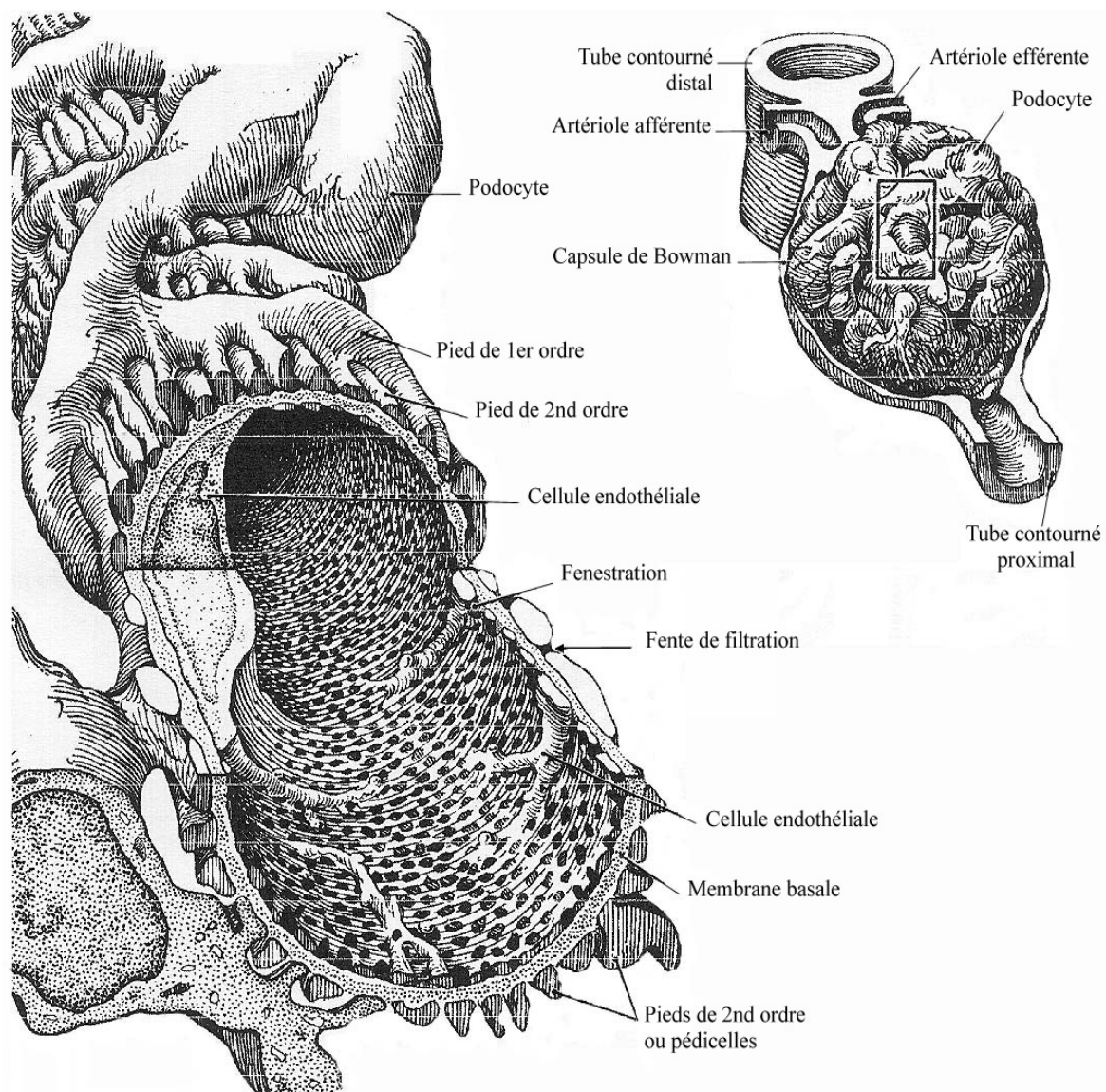
Cette barrière concerne les structures situées entre le sang des capillaires et l'ultrafiltrat contenu dans la chambre glomérulaire. Ce sont les structures qui participent à l'ultrafiltration [27, 126] (figure 5 [7]). Cette barrière est composée de :

- l'endothélium capillaire qui est mince et fenêtré [126],
- la membrane basale glomérulaire. Celle-ci est constituée de trois couches (la

lamina rara interna, la *lamina densa* composée en partie de collagène de type IV et la *lamina rara externa*) [117, 126].



***Figure 4 : Détail du corpuscule rénal
d'après Burkitt H.G., Young B. et Heath J.W. [27]***



***Figure 5 : Le filtre glomérulaire
d'après Banks W.J. [7]***

La disposition de ces couches forme une barrière physique et électrique qui empêche le passage des molécules de poids moléculaire supérieur à 68 kDa et des molécules chargées négativement [117, 126].

- la couche de podocytes. Les cellules formant cette couche, possèdent de longues expansions cytoplasmiques. Les prolongements primaires (ou pieds de 1^{er} ordre) [27, 117] vont entourer les capillaires et former des pieds de 2nd ordre (ou pédicelles) [27, 117]. Ces pédicelles sont directement appliqués contre la membrane basale et s'emboîtent avec d'autres pédicelles. Des espaces apparaissent entre les pédicelles : les fentes de filtration [7, 126].

II-3 Les cellules mésangiales

Ces cellules sont situées entre les capillaires glomérulaires [7, 27, 117, 126]. Ces cellules sont irrégulières et possèdent des prolongements cytoplasmiques qui s'étendent à la matrice mésangiale extracellulaire. Ces cellules forment avec leur matrice extracellulaire : le mésangium [117, 126]. Ces cellules possèdent des filaments d'actine qui leur confèrent la capacité de se contracter [126]. Le rôle du mésangium n'est pas bien défini. Quatre fonctions lui sont attribuées [126] :

- soutien du peloton capillaire glomérulaire,
- contrôle du débit sanguin à travers le peloton glomérulaire (capacité à se contracter),
- possibilité d'une fonction phagocytaire,
- possibilité d'un rôle de support structural pour les podocytes [117].

III. PHYSIOLOGIE DE LA FILTRATION

III-1 Filtration glomérulaire

La filtration glomérulaire dépend de plusieurs facteurs dont les trois plus importants sont :

- la pression hydrostatique capillaire qui est élevée dans les artérioles

(phénomène passif)

- la pression oncotique capillaire
- la nature même du "filtre" (morphologie et perméabilité).

Ces trois facteurs peuvent se retrouver dans l'équation suivante [46].

$$DFG = K.(P_{GC}-P_T)-(GC-T)$$

Dans cette équation nous avons :

- DFG = Débit de filtration glomérulaire
- K = Constante de perméabilité de la paroi
- P_{GC} = Pression hydrostatique dans la lumière du capillaire
- P_T = Pression hydrostatique dans la capsule de Bowman
- GC = Pression oncotique dans la lumière du capillaire
- T = Pression oncotique dans la capsule de Bowman

La constante de perméabilité de la paroi dépend de deux facteurs [46] :

- la surface : qui peut être modifiée par la contraction des cellules mésangiales.

Elles contiennent de l'actine capable de se contracter en réponse à l'angiotensine II et à l'hormone anti-diurétique (ADH). Les contractions provoquent alors une diminution de la surface et, par conséquent, une diminution de la filtration glomérulaire. Certaines pathologies peuvent provoquer une oblitération des glomérules, et ainsi diminuer la surface de contact.

- la porosité : facteur qui est expérimentalement difficile à différencier de la surface.

Les forces responsables de la filtration sont les suivantes [111, 112, 119] :

- la pression hydrostatique dans la lumière du capillaire, est la force entraînant le passage de fluide à travers la capsule de Bowman. Ce passage est directement lié à la pression dans l'artériole afférente.

- la pression oncotique dans la capsule de Bowman potentialise la filtration. Mais du fait d'une concentration en protéine faible (1 à 100 mg/L) elle n'est pas considérée comme un facteur majeur de filtration.

Les forces majeures opposées à la filtration sont :

- la pression oncotique plasmatique. La concentration en protéines est plus importante dans le plasma que dans l'ultrafiltrat. Cette concentration en protéines s'oppose donc à la filtration, puisque le mouvement des fluides doit permettre un équilibre des concentrations.

- la pression hydrostatique dans la capsule de Bowman

La différence entre les forces mises en jeu, provoque une pression de filtration, comprise entre 6 et 14 mm Hg [111, 119] (figure 6) [112]

C'est un mécanisme très efficace qui permet pour un chien de 25 kg de filtrer 60 à 80 litres par jour, soit un débit de filtration glomérulaire de 2 à 4 mL/kg/min [111, 112, 119].

Ainsi la nature de l'urine primitive est à peu près équivalente à celle du plasma sauf pour les protéines de PM supérieur 68 kDa qui ne diffusent pas. Les protéines de PM inférieur à 68 kDa et non liées aux protéines plasmatiques (la fraction libre) sont filtrées [111, 112, 119].

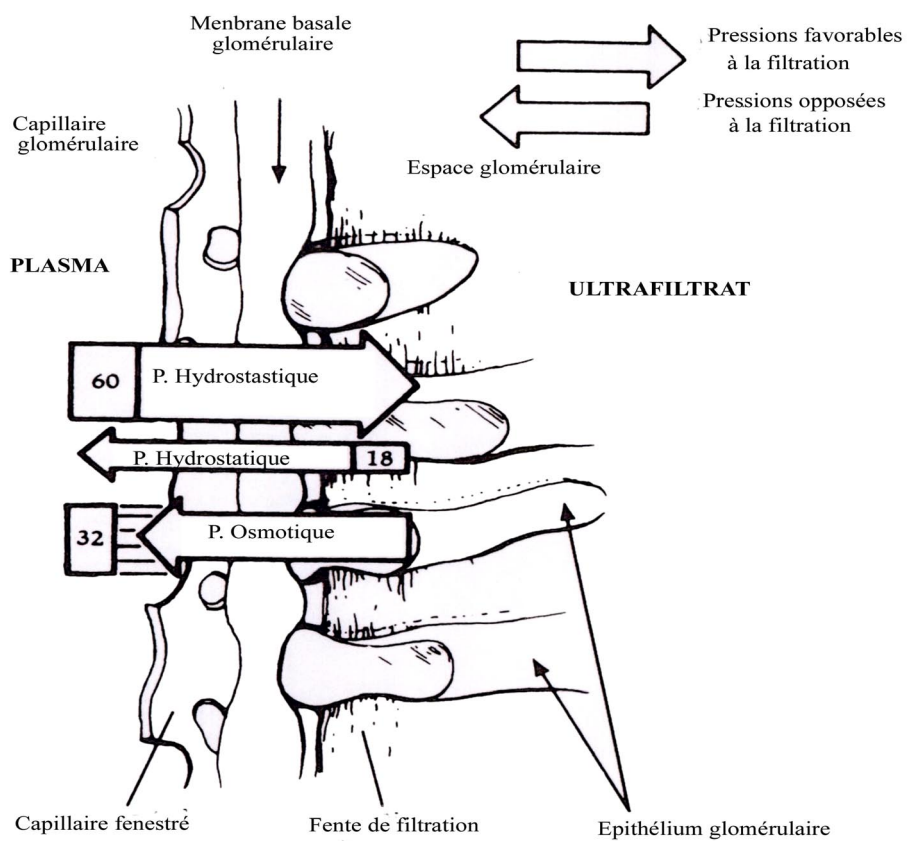


Figure 6 : Schéma des pressions mises en jeu d'après Reece W.O. [112]

III-2 Réabsorption et sécrétion tubulaire

La quasi-totalité de l'eau filtrée est réabsorbée, puisqu'1% seulement de l'eau filtrée est éliminée. Ces transferts hydriques s'effectuent grâce à des transports d'ions et de petites molécules. La réabsorption de l'eau, par exemple, est donc réalisée, par des transports passifs (puisque'elle suit le Na^+), mais les électrolytes sont, eux, le plus souvent réabsorbés par des transports actifs ou Na^+ -dépendants [18, 46].

IV. VARIATIONS DE LA FILTRATION

La fonction rénale est essentielle pour l'organisme. Son bon fonctionnement dépend de trois conditions [46] :

- une perfusion rénale adaptée,
- la présence d'un tissu rénal fonctionnel,
- un bon écoulement de l'urine formée.

Lorsqu'un facteur d'origine rénal ou extra-rénal fait varier une de ces conditions la fonction rénale s'en trouve modifiée. Il existe des mécanismes d'autorégulation rénale visant à limiter les effets de ces variations.

IV-1 Facteurs de variations physiologiques

IV-1.1 Généralités

Plusieurs facteurs peuvent intervenir et modifier le DFG :

- interspécifiques : le DFG des mammifères est supérieur à celui des amphibiens, des poissons, des reptiles et des oiseaux [119].

- l'âge : à la naissance, le nombre de glomérules du nouveau né est le même que celui de l'adulte. Mais le DFG augmente avec l'âge et la croissance car la surface corpusculaire augmente. Chez le chien âgé il y a une diminution de l'activité fonctionnelle du rein.

- la nutrition : après un repas, le DFG augmente. L'ingestion de protéines ou d'acides aminés entraîne une hyperfiltration transitoire. Ce phénomène a une influence non négligeable lors de la détermination du DFG [15, 19, 134].

- la localisation anatomique du corpuscule rénal [119].

- la pression hydrostatique et la pression oncotique [9, 111].

IV-1.2 Mécanismes d'auto-régulation.

Deux mécanismes sont décrits [111, 112, 119]. Ces deux mécanismes ont pour but d'adapter le débit sanguin rénal de manière à conserver un DFG constant.

IV-1.2.1 Mécanismes myogéniques

La diminution du débit sanguin rénal et de la pression hydrostatique doit provoquer la diminution du DFG. Or, dans cette situation, une diminution de la pression sanguine provoque moins de tension sur les parois des capillaires. Ces capillaires vont alors se dilater, ce qui va augmenter le débit sanguin rénal et la pression hydrostatique. La conséquence de ce mécanisme est la possibilité de maintenir le DFG constant. Ce mécanisme est valable pour une baisse ou une augmentation de la pression hydrostatique [46, 111].

IV-1.2.2 L'appareil juxta-glomérulaire

Lorsqu'il apparaît une hypoperfusion rénale ayant pour origine une faible pression sanguine ou une diminution du volume sanguin, les cellules de l'appareil juxta-glomérulaire sécrète la rénine qui transforme l'angiotensinogène en angiotensine I [111]. L'angiotensine I va être rapidement transformée en angiotensine II. Celle-ci provoque l'augmentation de la réabsorption tubulaire de Na^+ et d'eau de manière à compenser l'hypoperfusion [2, 111]. En outre, l'angiotensine II a aussi un effet sur le glomérule en provoquant une vasoconstriction de l'artériole efférente de manière à augmenter la pression hydrostatique dans le glomérule pour maintenir le DFG constant [9, 111, 119].

IV-2 Facteurs de variations pathologiques

IV-2.1 Variations du débit sanguin rénal

Le débit sanguin rénal est nécessaire à un bon fonctionnement rénal [46]. Il est à l'origine de la filtration glomérulaire. Le débit sanguin rénal, associée à la résistance des artérioles est à l'origine de la pression hydrostatique. Or la pression hydrostatique est, au niveau du glomérule, un des facteurs intervenant dans le DFG.

En outre, le débit sanguin rénal est aussi responsable de l'apport en nutriments et d'oxygène pour permettre la filtration.

Des facteurs extra-rénaux peuvent être responsable d'une diminution du débit sanguin [46] :

- diminution du débit cardiaque : insuffisance valvulaire ou sténose, pathologie du myocarde, arythmies, anomalies congénitales, dirofilariose.
- hypovolémie : déshydratation, chute de la pression osmotique faisant suite à une hypoalbuminémie, choc.

Des facteurs intra-rénaux peuvent intervenir dans une chute du débit sanguin rénal :

- pathologies du glomérules : glomérulonéphrite, amyloïdose [23].
- dysfonctionnement des fonctions autorégulatrices.
- dysfonctionnement dans le mode d'action d'hormones d'origine extra-rénale : angiotensine II, catécholamines, ADH.

Une diminution sévère et longue du débit sanguin rénal provoque une ischémie rénale. Le rein peut alors se nécroser ou subir un déficit fonctionnel majeur [46].

IV-2.2 Variations fonctionnelles

Les signes cliniques d'insuffisance rénale apparaissent lorsque 66% à 75% du rein est non fonctionnel [28, 21].

Si la perte de tissu fonctionnel est graduelle et régulière alors les compensations permettent de survivre avec 25% du rein fonctionnel. Mais le DFG en est affecté.

IV-2.3 Variations liée à l'écoulement de l'urine

Si l'écoulement de l'urine ne peut s'effectuer normalement, il va se provoquer une modification au niveau des pressions mise en jeu dans la formation de l'ultrafiltrat. Une diminution des différences de pression va provoquer une diminution du DFG [46].

IV-3 Facteurs de variations pharmacologiques.

IV-3.1 Les agents néphrotoxiques

La plus grande partie des agents néphrotoxiques n'ont pas d'activité directe sur le glomérule [64]. Mais, par l'intermédiaire du rétrocontrôle tubuloglomérulaire, ces agents ont une action sur la fonction glomérulaire. Au niveau du glomérule, la néphrotoxicité se caractérise par [64] :

- une perte de la surface capillaire (aminoglycosides),
- une rupture de l'intégrité endothéliale par des substances cationiques (protamine)
- une prolifération des cellules mésangiales (azathioprine).

En outre, il existe des molécules qui peuvent avoir un effet indirecte sur la filtration glomérulaire. Ces principes actifs provoquent indirectement une diminution du flux sanguin

rénal et une ischémie. Ils deviennent des facteurs de variations pharmacologiques de la filtration glomérulaire (AINS, anesthésique, IEC) [46, 64].

IV-3.2 Les diurétiques

Ils existent des médicaments qui ont pour but d'augmenter la diurèse, en augmentant la filtration glomérulaire. Ainsi la fluidothérapie a pour objectif de rétablir les déséquilibres hydro-électrolytique, acido-basique, et provoquer une augmentation de la diurèse [28, 83, 91].

Le mannitol a un effet diurétique en agissant directement sur la filtration glomérulaire. C'est un diurétique osmotique librement filtré par le glomérule. Il va favoriser la filtration glomérulaire [83].

IV-4 L'hypothèse du néphron intact

La théorie du néphron intact a été initialement proposée par Bricker et coll. [20]. Le débit de filtration glomérulaire (DFG) est la somme des débits de filtration glomérulaire ramené au néphron (SNGFR).

Lors de pathologies rénales, les fonctions glomérulaires et tubulaires sont en partie conservées [20, 37, 107]. Ainsi lorsqu'il y a une réduction du nombre de néphrons fonctionnels, les néphrons non lésés s'adaptent pour compenser le défaut de filtration : il y a une hyperfiltration compensatrice. Elle se caractérise par une augmentation du débit de filtration glomérulaire rapporté à un seul néphron (SNGFR), qui permet de maintenir un DFG global proche de la normale. Cette augmentation compensatrice résulte d'une augmentation de la pression sanguine intraglomérulaire. Cette hyperfiltration concerne la première phase de l'insuffisance rénale. Lorsque la proportion d'unité fonctionnelle lésée devient trop importante (75% du rein), les autres néphrons ne peuvent plus compenser et maintenir cette balance glomérulotubulaire. C'est la phase clinique de l'insuffisance rénale [107].

2^{ème} Partie

MESURES DU

DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE

(DFG)

L'exploration du DFG se réalise de deux façons :

- par des mesures indirectes. Elles consistent à doser la concentration plasmatique d'une molécule éliminée essentiellement par le rein, une augmentation de la concentration étant interprétée comme une diminution de la fonction rénale. Les molécules principalement utilisées sont la créatinine et l'urée.

- par des mesures directes. Elles correspondent à la détermination de la clairance urinaire ou plasmatique d'une molécule endogène ou exogène [30, 56, 59]

I. MESURES INDIRECTES

L'urée et la créatinine sont les deux marqueurs les plus fréquemment utilisés [47, 75]. Leur concentration plasmatique augmente, lorsque que leur filtration glomérulaire diminue. Par extrapolation, le débit de filtration glomérulaire (DFG) diminue [51, 53]. Cette méthode ne permet pas de fixer une valeur au DFG. Ce sont des marqueurs tardifs d'insuffisance rénale [18, 47]. A partir d'une diminution de 75% de la masse fonctionnelle, leur concentration dépasse la limite supérieure de l'intervalle de référence. Ces dosages sont donc peu sensibles. De plus, des facteurs extérieurs (exemple : une alimentation riche en protéine peut provoquer dans les heures qui suivent le repas, une augmentation de la créatininémie et de l'urémie) [134] peuvent affecter la concentration plasmatique de ces marqueurs. Mais cette méthode indirecte d'évaluation de la fonction rénale a l'avantage d'être facile et rapide [51, 53].

La mesure de la créatininémie est conseillée pour réaliser un suivi individuel. En effet, une élévation progressive dans le temps de ce paramètre permet d'évaluer la perte fonctionnelle sur la période envisagée [18, 47, 75].

I-1 La créatinine.

La créatinine provient du muscle et, est le résultat d'une dégradation de la créatine. Elle est filtrée par le glomérule, et sera non réabsorbée, et non sécrété.

Les valeurs usuelles sont généralement comprises entre 45 et 135 $\mu\text{mol/L}$ c'est à dire 5 à 15 mg/L [18, 47, 53, 75].

Mais le dosage de la créatinine n'est pas un test sensible. Cela permet néanmoins, de contrôler la progression du déficit fonctionnel ou de contrôler l'efficacité d'un traitement. Par ailleurs, ce dosage peut être effectué dans le seul but d'évaluer la fonction rénale avant d'utiliser des molécules néphrotoxiques (cisplatine [36], gentamicine) [18, 47]. Sa concentration plasmatique peut également varier sous l'influence de facteurs extra-rénaux (alimentation, effort musculaire [39, 133]).

I-2 L'urée.

L'urée est une molécule synthétisée par le foie. C'est la principale forme d'élimination de l'ammoniac, elle provient donc du catabolisme des protéines. Elle est éliminée par filtration glomérulaire, mais aussi par voie intestinale [18]. Elle est en partie réabsorbée de façon passive dans le tubule. Sa concentration plasmatique dépend aussi de facteurs extra-rénaux :

- l'alimentation ; un repas riche en protéines provoque une augmentation de la concentration de l'urée. C'est donc pour cela qu'il est conseillé d'effectuer le dosage sur des sujets mis à la diète depuis 12 à 18 heures [1, 132, 134].

- une insuffisance hépatique ou un shunt porto-cave est à l'origine d'une baisse de la production d'urée.

- un traitement à base de corticoïdes ou d'antimitotiques va provoquer une augmentation du catabolisme cellulaire, et donc provoquer une augmentation de la concentration d'urée.

Les valeurs usuelles, de l'urémie, sont comprises entre 3,5 et 7,0 mmol/L c'est à dire 0,20 à 0,40 g/L [18].

Une augmentation de l'urémie peut avoir plusieurs origines [18]:

- pré-rénale :
 - augmentation du catabolisme protidique (régime riche en protéines, fièvre)
 - baisse de la perfusion rénale (hypovolémie par déshydratation ou par hémorragie)
- rénale : affections rénales
- post-rénale : obstruction des voies.

De même, la surveillance de l'urémie permet de contrôler l'évolution d'une affection rénale, et de la thérapeutique mise en place [13, 47, 53, 75].

II. MESURES DIRECTES

II-1 Notion de Clairances

II-1.1 Définition

La clairance (Cl) mesure la capacité de l'organisme (ou d'un organe) à éliminer une substance après qu'elle ait atteint la circulation générale [87]. L'interprétation mathématique correspond à une constante de proportionnalité entre la vitesse d'élimination ($\frac{dX}{dt}$) et la concentration (C) de la substance :

$$\text{Soit : } Cl = \frac{dX}{dt} / C(t)$$

$$Cl = (dX / dt) / C(t)$$

$$dX / dt = Cl \cdot C(t)$$

$$\int_0^{\infty} dX = Cl \cdot \int_0^{\infty} C(t) dt$$

Avec $\int_0^{\infty} C(t) dt = AUC_{(0 \rightarrow \infty)}$ (AUC = Area Under the Curve : aire sous la courbe)

et $\int_0^{\infty} dX =$ quantité éliminée lorsque l'on tend vers l'infini (elle est égale à la dose injectée).

L'équation devient :

$$\text{Dose} = Cl \cdot AUC_{(0 \rightarrow \infty)}$$

$$Cl = \text{Dose} / AUC_{(0 \rightarrow \infty)}$$

Ce calcul est valable dans le cadre de cinétiques linéaires [46, 69].

Une autre définition de la clairance est le volume de plasma totalement débarrassé de la substance par unité de temps. Elle a donc la dimension d'un débit, et s'exprimera en mL/min ou en L/h. Cette valeur est souvent rapportée au poids de l'animal.

La clairance totale d'une substance endogène ou exogène dépend le plus souvent des deux principaux organes épurateurs de l'organisme : le foie et le rein.

Du fait d'une connection en parallèle sur la circulation générale, ces deux organes vont recevoir la même quantité de substance. Ainsi l'utilisation de la propriété d'additivité des clairances dans le cadre où la substance est totalement éliminée, permet d'écrire :

$$Cl_{TOT} = Cl_{rénale} + Cl_{extrarénale}$$

II-1.2 Etude de la clairance rénale

Trois mécanismes interviennent dans la formation de l'urine :

- la filtration glomérulaire
- la sécrétion
- la réabsorption.

Ces trois mécanismes vont aussi intervenir dans la détermination de la clairance. Nous pouvons donc écrire :

$$Cl_{rénale} = Cl_{filtration} + Cl_{sécrétion} - Cl_{réabsorption}$$

II-1.2.1 Clairance de filtration

L'ultrafiltration est un phénomène passif, ne concernant que des molécules d'un poids inférieur à 68 kDa, et dont seule la fraction libre sera filtrée.

Par définition, la clairance de filtration ($Cl_{filtration}$) dépend de la vitesse de filtration ($v_{filtration}$) et de la concentration de la substance (C), nous pouvons donc écrire :

$$Cl_{filtration} = v_{filtration} / C$$

Or, la vitesse de filtration dépend du DFG et de la concentration libre de la substance (Cu) :

$$v_{\text{filtration}} = \text{DFG} \cdot C_u$$

Le rapport entre la concentration libre de la substance, et la concentration de la substance, correspond à la fraction libre de la substance (Fu) :

$$F_u = C_u / C$$

La vitesse de filtration peut alors s'écrire :

$$v_{\text{filtration}} = \text{DFG} \cdot F_u \cdot C$$

Ainsi, l'équation initiale devient :

$$Cl_{\text{filtration}} = \text{DFG} \cdot F_u$$

La clairance de filtration ($Cl_{\text{filtration}}$) dépend donc directement du DFG, et de la fraction libre de la substance (Fu).

II-1.2.2 Clairance de sécrétion

La sécrétion se réalise principalement dans le tube contourné proximal [18], et va concerner les acides faibles et les bases faibles. Cette sécrétion va se réaliser à l'aide de transporteurs actifs, qui peuvent être saturables, et pour lesquels, il existe des phénomènes de compétition (ex : Benzyl-Pénicilline, Probenécide).

Par conséquent cette sécrétion est impliquée dans la clairance totale, et s'ajoute à la clairance de filtration.

II-1.2.3 Clairance de réabsorption

Deux types de transports interviennent dans la réabsorption :

- transport actif,
- transport passif.

La réabsorption active concerne des composés endogènes, des molécules organiques (glucose, acides aminés), et des électrolytes (Na^+ , Ca^{2+} , K^+ ...).

La réabsorption passive concerne l'eau, et les xénobiotiques.

La clairance de réabsorption va se soustraire à la clairance de filtration, et à la clairance de sécrétion [18, 46, 104].

II-1.3 Calcul du DFG (Débit de Filtration Glomérulaire)

Les deux relations précédemment étudiées seront nécessaires :

- $\text{Cl}_{\text{TOT}} = \text{Dose} / \text{AUC}_{(0 \rightarrow \infty)}$
avec $\text{Cl}_{\text{TOT}} = \text{Cl}_{\text{rénale}} + \text{Cl}_{\text{extrarénale}}$
- $\text{Cl}_{\text{rénale}} = \text{Cl}_{\text{filtration}} + \text{Cl}_{\text{sécrétion}} - \text{Cl}_{\text{réabsorption}}$
avec $\text{Cl}_{\text{filtration}} = \text{DFG} \cdot \text{Fu}$

Des conditions particulières vont être nécessaires pour pouvoir déterminer le DFG.

En utilisant une molécule strictement et uniquement éliminée par le rein la clairance totale de cette molécule, est alors égale à la clairance rénale :

$$\text{Cl}_{\text{TOT}} = \text{Cl}_{\text{rénale}} = \text{Dose} / \text{AUC}_{(0 \rightarrow \infty)} = \text{Cl}_{\text{filtration}} + \text{Cl}_{\text{sécrétion}} - \text{Cl}_{\text{réabsorption}}$$

En outre, pour pouvoir déterminer le DFG, qui dépend de la filtration, il est nécessaire que cette molécule ne soit ni sécrétée ($\text{Cl}_{\text{sécrétion}} = 0$), ni réabsorbée ($\text{Cl}_{\text{réabsorption}} = 0$).

L'équation devient alors :

$$\text{Cl}_{\text{rénale}} = \text{Cl}_{\text{filtration}} = \text{Dose} / \text{AUC}_{(0 \rightarrow \infty)}$$

$$\text{Soit : DFG} \cdot \text{Fu} = \text{Dose} / \text{AUC}_{(0 \rightarrow \infty)}$$

Il reste ensuite à maîtriser encore deux paramètres qui sont la Fu, et la dose. Il est impératif d'avoir une Fu égale à un. Pour cela il est recommandé d'utiliser une molécule qui ne se fixe pas aux protéines plasmatiques. Le produit est injecté en utilisant la voie intraveineuse (IV). La biodisponibilité est donc égale à 100%.

Ainsi, la dose injectée correspond à la dose qui est réellement dans la circulation générale. Nous pouvons alors écrire :

$$\text{DFG} = \text{Dose}_{\text{IV}} / \text{AUC}_{(0 \rightarrow \infty)}$$

En outre, ces molécules doivent être inertes chimiquement (elles ne doivent pas modifier le débit de filtration glomérulaire), et leur pharmacocinétique doit être linéaire (quelque soit la dose administrée, la clairance reste inchangée).

II-2 Principes des mesures directes

II-2.1 Généralités

La détermination du DFG s'effectue grâce à l'étude des clairances de certaines molécules. Pour cela ces molécules doivent répondre aux critères de SMITH (1951) [18] qui sont les suivants :

- une molécule pharmacologiquement inerte. Elle ne doit pas modifier le débit de filtration glomérulaire.
- non liée aux protéines plasmatiques car elle doit être filtrée.
- ni réabsorbée, ni sécrétée. Car pour déterminer le DFG c'est la clairance glomérulaire (ou clairance de filtration) qui nous intéresse.
- la molécule ne doit pas être métabolisée par l'organisme.
- la pharmacocinétique de cette molécule doit être linéaire. C'est à dire quelque soit la dose injectée sa clairance doit rester constante.

II-2.2 Etude de la clairance urinaire

II-2.2.1 Principe

La détermination de la clairance urinaire d'un marqueur approprié se réalise grâce à une collecte d'urine et des prélèvements sanguins [42, 69]. La collecte d'urine permet de calculer la quantité totale de substance éliminée par le rein. En effet, le volume d'urine (V) émis (sur une période définie), associé à la concentration de la substance dans ce volume d'urine ($C_{urinaire}$), permet d'obtenir la quantité de substance éliminée [16, 31]. En utilisant une substance répondant aux critères de SMITH, la quantité éliminée ne dépend que de la capacité de filtration du rein ($Cl_{filtration}$) et de la concentration plasmatique de la substance présente dans le sang ($C_{plasmatique}$) [69]. La relation obtenue est :

$$Cl_{filtration}(\text{mL}/\text{min}) \cdot C_{plasmatique}(\mu\text{mol}/\text{L}) = V(\text{mL}/\text{min}) \cdot C_{urinaire}(\mu\text{mol}/\text{L})$$

Or, le DFG est égal à la $Cl_{filtration}$. Cela permet de déterminer le DFG :

$$Cl_{filtration} = \text{DFG} = \frac{V \cdot C_{urinaire}}{C_{plasmatique}}$$

La collecte d'urine est une étape importante dans la détermination de la clairance urinaire. Cette collecte peut se réaliser de deux façons :

- sur 24 heures en maintenant l'animal dans une cage à métabolisme [16],
- sur des périodes de 20 minutes en effectuant des vidanges de la vessie [52].

Le dernier facteur à déterminer est la concentration plasmatique du marqueur. Pour cette dernière deux méthodes ont été décrites :

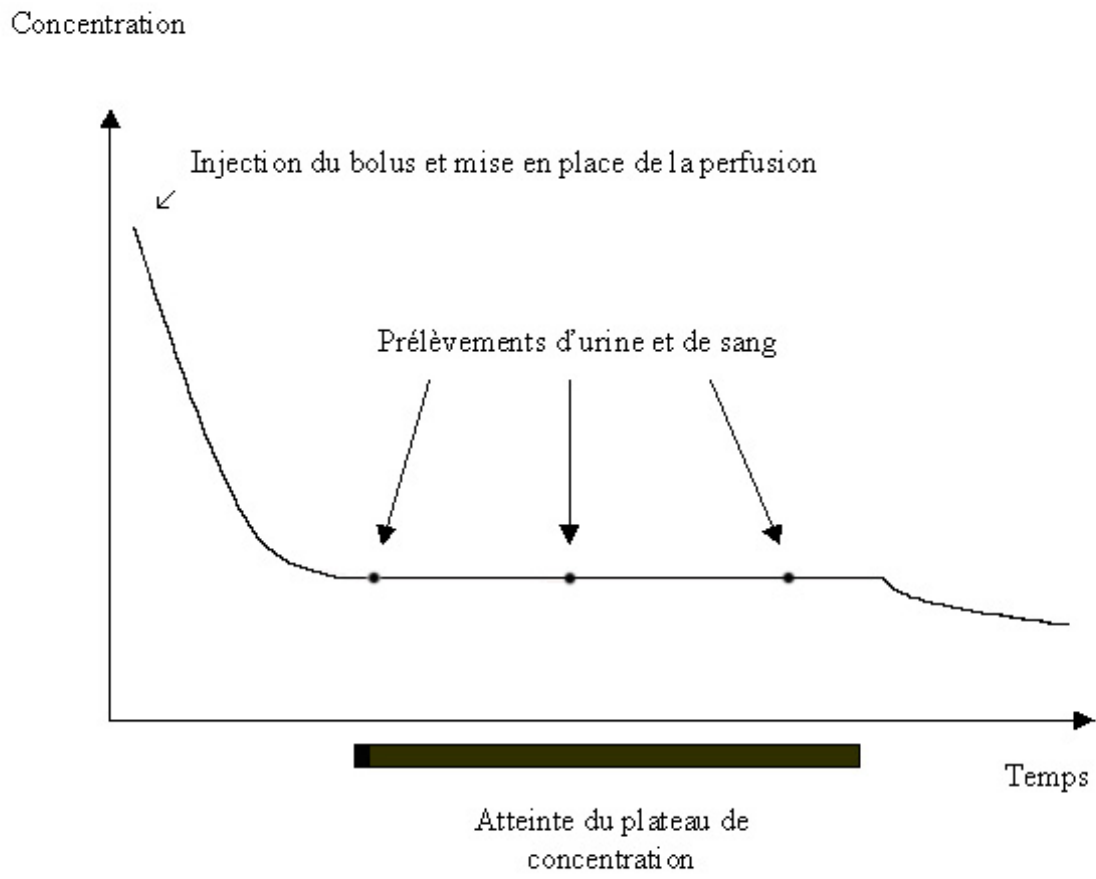


Figure 7 : Exemple de l'évolution de la croissance plasmatique lors d'une perfusion continue

- le maintien d'une concentration plasmatique constante du marqueur, peut être obtenu par la mise en place d'une perfusion à vitesse constante [16, 114], précédée par un bolus IV d'une dose de marqueur. La concentration plasmatique du marqueur va être maintenue constante par la perfusion durant toute l'expérience. Un temps d'attente est nécessaire afin d'obtenir l'équilibre des concentrations. Une fois celui-ci obtenu les prélèvements vont pouvoir s'effectuer (figure 7).

- l'administration par voie SC du marqueur [24]. L'objectif est d'obtenir une concentration plasmatique du marqueur à peu près constante lors de l'étude. L'utilisation de la voie SC permet d'atteindre un plateau de concentration plasmatique du marqueur. Ce plateau de concentration correspond à un équilibre entre l'absorption du marqueur et son élimination. Pour obtenir cet équilibre, Brown et coll. [24] réalise une injection d'un bolus de marqueur (50mg/Kg). Cette injection de marqueur est répétée 15 et 30 minutes plus tard à la dose de 25 mg/Kg. Ainsi ils entretiennent l'équilibre entre absorption et élimination. La concentration plasmatique est déterminée par des prélèvements sanguins réalisés au début et à la fin de la période de collecte des urines [24]. La moyenne de ces deux concentrations correspond à la concentration moyenne durant la collecte d'urine.

Une méthode utilise une molécule d'origine endogène comme marqueur (la créatinine) [16, 42]. Cette méthode ne nécessite pas de mise sous perfusion ou d'injection du marqueur [55]. Lorsque ce marqueur est utilisé, c'est obligatoirement une clairance urinaire qui est réalisée. La concentration plasmatique de ce marqueur est déterminée grâce aux prélèvements sanguins [16].

II-2.2.2 Réalisation pratique

Différents marqueurs sont utilisés pour réaliser des clairances urinaires : l'inuline, la ^{14}C -inuline (dérivés radiomarqués de l'inuline), la créatinine.

La détermination du DFG par la mesure de la clairance urinaire de l'inuline est la référence dans ce domaine. C'est le « gold standard » de la détermination du DFG. Elle fut mise en œuvre pour la première fois par Houck [69, 76, 87].

Une étude décrit la mesure simultanée des clairances urinaires de la ^{14}C -inuline et de la créatinine. Finco et coll. [52] effectuent sur 10 chiens (5 mâles et 5 femelles) une injection IV de $0,227 \mu\text{Ci/kg}$ de ^{14}C -inuline. 40 minutes après la mise en place d'une perfusion (à la dose de $2,3 \cdot 10^{-3} \mu\text{Ci/kg/min}$), ils effectuent trois collectes d'urine d'une période de 20 minutes chacune. La vessie est rincée avant le début de la première collecte. Par la suite, elle est rincée à la fin de chaque collecte. Des prélèvements de sang sont effectués à la jugulaire au début et à la fin de chaque collecte. Ces prélèvements d'urine et de sang sont utilisés pour déterminer la clairance de la créatinine endogène et de l'inuline.

A la fin de la première série de collecte, ils injectent en SC une solution de créatinine (50 mg/mL) à la dose de 100 mg/kg . Cela leur permet de réaliser une double clairance urinaire. En effet la perfusion étant toujours en place, 40 minutes après l'injection ils réalisent une nouvelle série de collecte d'urine et de prélèvements sanguins. Ils déterminent ainsi la clairance urinaire de l'inuline et celle de la créatinine d'origine exogène.

II-2.2.3 Valeurs obtenues

Les résultats obtenus (tableau 1 et tableau 2) comparent les différentes clairances en fonction des marqueurs utilisés.

Tableau 1 :
Valeurs de la clairance urinaire de l'inuline et de la créatinine endogène
chez le chien d'après Finco et coll. [52]

Unité : mL/min/kg	Période de collecte		
	1	2	3
Cl Inuline	4,21 ± 0,68	4,22 ± 0,64	4,26 ± 0,67
Cl Créatinine Endogène	2,96 ± 0,48	2,98 ± 0,41	2,97 ± 0,42

Chaque période de collecte correspond à une collecte d'urine de 20 min précédée et suivie par une vidange complète de la vessie

Tableau 2 :
Valeurs de la clairance urinaire de l'inuline et de la créatinine exogène
chez le chien d'après Finco et coll. [52]

Unité : mL/min/kg	Période de collecte		
	1	2	3
Cl Inuline	4,02 ± 0,55	3,96 ± 0,58	3,99 ± 0,56
Cl Créatinine Exogène	4,14 ± 0,53	4,08 ± 0,50	4,06 ± 0,52

Chaque période de collecte correspond à une collecte d'urine de 20 min précédée et suivie par une vidange complète de la vessie

II-2.3 Etude de la clairance plasmatique

II-2.3.1 Principe

Cette étude consiste à mesurer la décroissance de la concentration plasmatique d'un marqueur après une injection unique [22, 44, 66, 93]. Le marqueur doit répondre aux critères de Smith et être exclusivement éliminé par filtration glomérulaire. La clairance plasmatique permet ainsi de s'affranchir de la collecte d'urine. La clairance est déterminée à l'aide de l'analyse de la courbe de décroissance plasmatique du marqueur. Ces dosages sont réalisés après avoir effectué des prélèvements sanguins à intervalles réguliers (figure 8).

Il faut alors déterminer l'AUC de la courbe obtenue car :

$$\text{DFG} = \frac{\text{dose}}{\text{AUC}}$$

Pour obtenir l'AUC, deux approches mathématiques sont couramment utilisées :

- le modèle compartimental. Ce modèle mathématique correspond à un modèle pharmacocinétique précis (mono ou pluricompartimental). En effet, la distribution du marqueur peut (en fonction du marqueur utilisé) s'effectuer dans différents compartiments de l'organisme. Cette distribution a une influence sur la courbe de décroissance plasmatique du marqueur. Cette approche permet de décrire les variations de concentration, d'expliquer la pharmacocinétique du marqueur, et de prédire les concentrations.
- le modèle non-compartimental. Ce modèle mathématique utilise la méthode des trapèzes pour calculer l'AUC. Cette approche permet uniquement de calculer les paramètres d'intérêt (ici la clairance).

Concentration

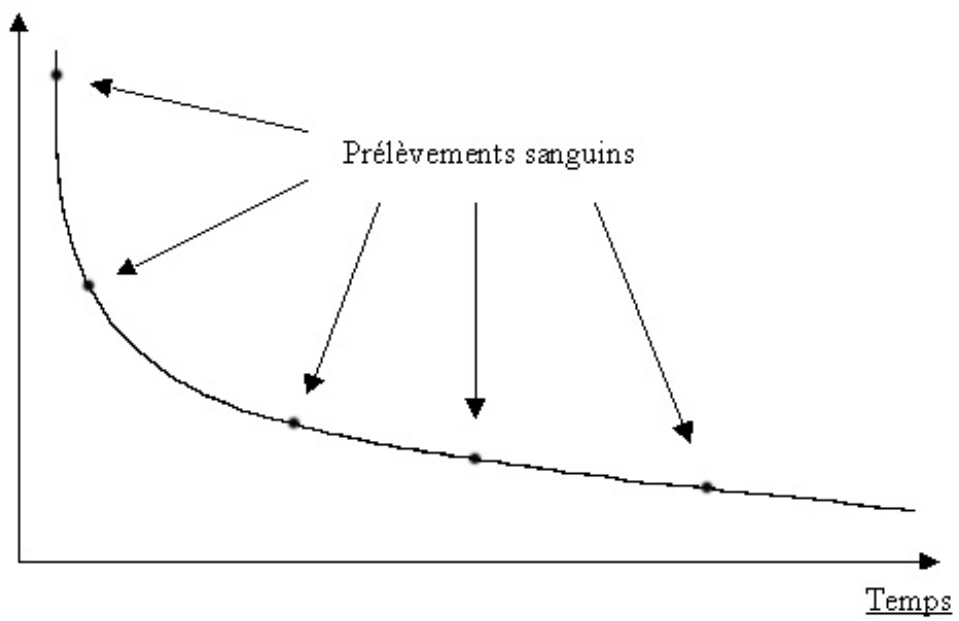


Figure 8 :
Exemple de l'évolution de la concentration plasmatique
lors d'une injection unique en IV

II-2.3.2 Modèles mathématiques

II-2.3.2.a Modèle monocompartmental

L'organisme est assimilé à un seul et unique compartiment. Après l'injection, la distribution est alors immédiate. Dans cette situation, la courbe de décroissance plasmatique est de type exponentielle [5, 69]. La fonction qui caractérise la courbe s'écrit :

$$C_t = C_0 \cdot e^{-kt}$$

dans ce cas $AUC = C_0 / k$

Le calcul de la clairance peut alors s'effectuer.

II-2.3.2.b Modèles compartimentaux

Certaines molécules possèdent des cinétiques comprenant 5 compartiments (ex : Insuline). Dans tous les cas, pour pouvoir modéliser la courbe de décroissance plasmatique obtenue, il faut apparenter cette courbe à plusieurs termes exponentiels.

Pour un modèle bicompartimental [5, 69], la courbe de décroissance plasmatique va être assimilée à deux exponentielles d'équation :

$$C_t = C_1 \cdot e^{-k_1t} + C_2 \cdot e^{-k_2t}$$

L'aire sous la courbe devient $AUC = C_1 / k_1 + C_2 / k_2$

Au delà d'un modèle bicompartimental, les calculs et les interprétations mathématiques deviennent de plus en plus difficiles. Mais, toujours dans le même principe, pour un modèle tricompartimental (figure 9), il faut assimiler la courbe de décroissance plasmatique à des exponentielles, dans le but de faciliter les calculs.

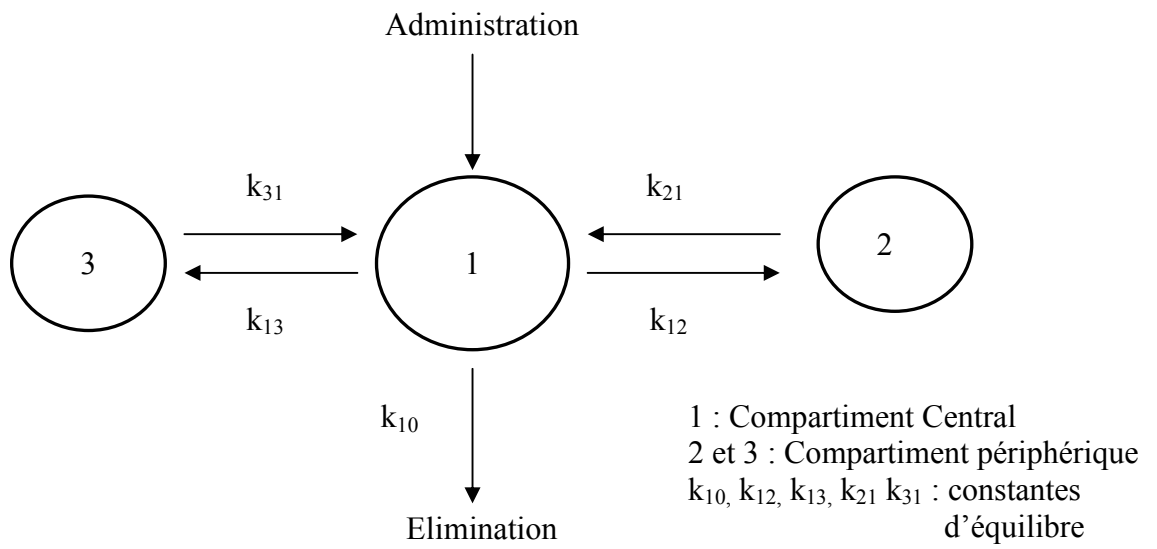


Figure 9 : Illustration du modèle tricompartimental

II-2.3.2.c Modèle non-compartmental

L'application des moments statistiques à la pharmacocinétique a permis de définir l'analyse non-compartmentale. Cette approche ne nécessite pas d'hypothèse particulière sur le nombre de compartiments utilisés, mais par contre nécessite que la cinétique soit linéaire. La méthode des trapèzes est utilisée pour calculer l'AUC [5, 69]. Les trapèzes sont définis par la courbe et la somme des trapèzes correspond à l'AUC (voir figure 10 page 47). Cette approche est intéressante lorsque le nombre de compartiment n'est a priori pas défini. Par contre elle exige des prélèvements sanguins assez fréquents et jusqu'à l'élimination totale du marqueur afin de limiter la partie d'AUC extrapolée qui doit représenter moins de 20% de l'AUC totale.

II-2.3.3 Réalisation pratique

Le principe repose sur l'administration IV du marqueur et la réalisation d'une série de prélèvements sanguins. La dose de marqueur et le temps de prélèvement peuvent varier en fonction de l'étude, pour un marqueur et une espèce donnés, comme par exemple avec l'inuline chez le chat et chez le chien.

Miyamoto [94] injecte en IV à 10 chats (8 mâles et 2 femelles), un gramme d'inuline puis réalise des prélèvements sanguins à $t = 0, 1, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 180$ et 240 minutes.

Brown et coll. [25] réalisent sur 5 chats anesthésiés une injection de 150 mg d'inuline. Les prélèvements sanguins sont effectués à $t = 1, 15, 35, 55, 75,$ et 95 minutes après l'injection.

Fettman et coll. [44] réalisent sur 25 chiens et 25 chats une étude pour déterminer la clairance plasmatique de l'inuline radiomarquée. Ils administrent à chaque animal $0,5\mu\text{Ci/kg}$

d'inuline. Les prélèvements sanguins sont réalisés à $t = 1, 5, 10, 20, 40, 60, 90, 120,$ et 150 minutes après l'injection d'inuline.

II-2.3.4 Valeurs obtenues

Miyamoto [94] utilise la règle des trapèzes et un modèle bicompartimental pour déterminer l'AUC. Il considère que son AUC est égale à la somme de deux aires (A1 et A2) (figure 10).

$$AUC = A1 + A2$$

L'aire A1 correspond à la somme des trapèzes de $t = 0$ à $t = T$. L'aire A2 correspond à l'AUC de la courbe de $t = T$ à $t = \infty$. Or dans cette expérience et pour le calcul du DFG, Miyamoto fait varier la valeur de T (tableau 3). Il note une différence significative entre la valeur du DFG à 120 minutes et celles obtenues à 180 et 240 minutes. Il en conclut que dans cette étude l'estimation du DFG correspondant à l'AUC avec $T = 120$ minutes n'est pas valable.

Brown et coll. [23] utilisent trois méthodes différentes pour obtenir l'AUC. La première méthode consiste à départager l'AUC en deux aires (A1 et A2). A1 est obtenu par la méthode des trapèzes de $t = 0$ min à $t = 95$ min. A2 correspond à l'AUC d'une courbe monoexponentielle de $t = 95$ min à $t = \infty$. Dans la deuxième méthode, ils n'utilisent que trois prélèvements pour réaliser la courbe de décroissance plasmatique du marqueur (prélèvements à 1, 35, 75 minutes). La troisième méthode est une adaptation de la méthode simplifiée pour déterminer l'AUC de Bröchner-Mortensen [21]. La clairance est calculée grâce à l'équation :

$$Cl = 0,990778 \cdot Cl_1 - 0,001218 \cdot Cl_1^2$$

Cl_1 est la clairance obtenue par une approche monocompartimentale de la courbe de décroissance plasmatique.

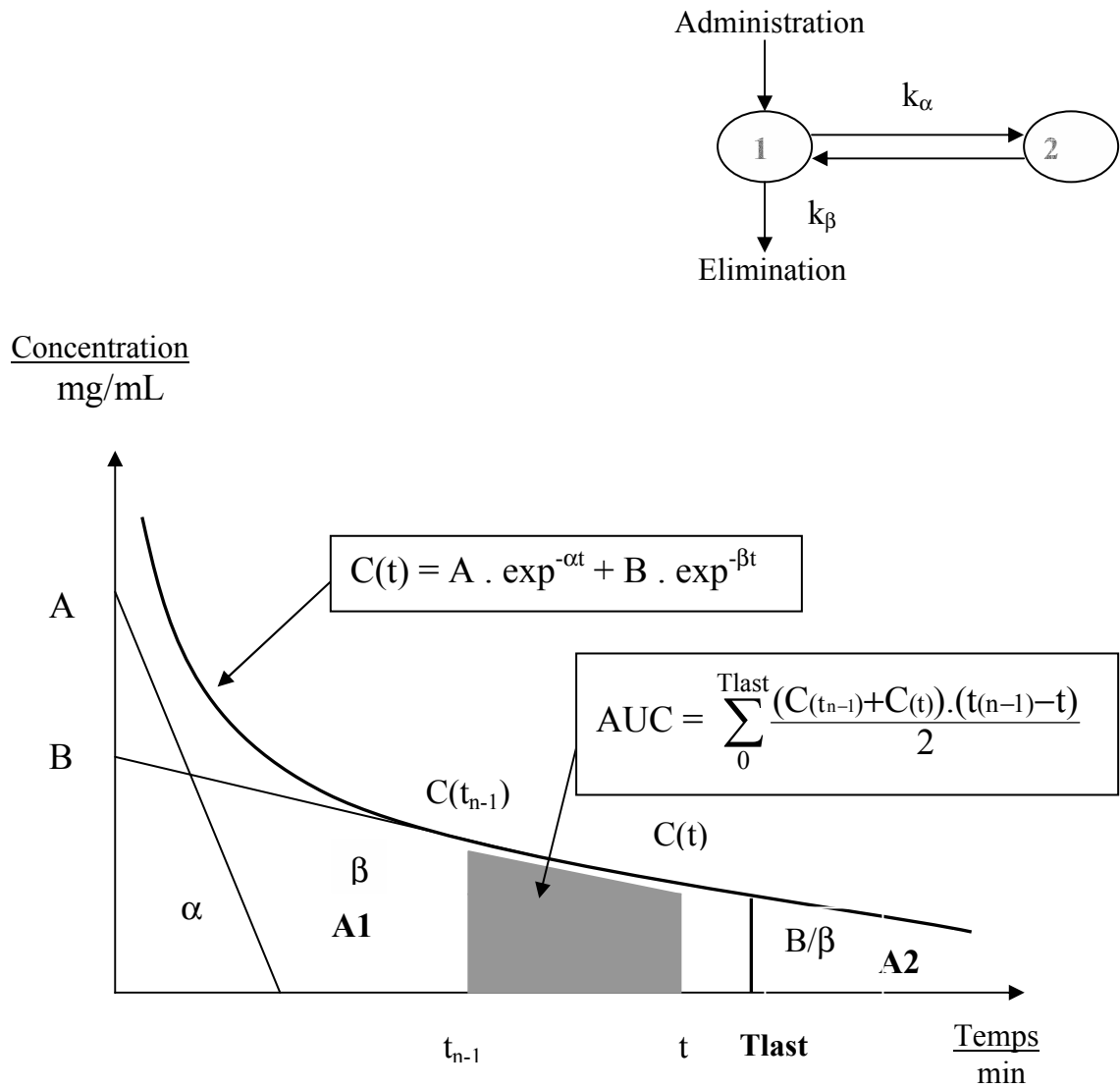


Figure 10 :
Représentation compartimentale et interprétation graphique
de la concentration plasmatique de l'inuline chez le chat
d'après Miyamoto [94]

Tableau 3 :
Valeurs de la clairance plasmatique de l'inuline chez le chat
d'après Miyamoto [94]

Unité : mL/min/kg	DFG		
	T = 120 min	T = 180 min	T = 240 min
Cl Inuline	3,80 ± 0,75	3,61 ± 0,63	3,63 ± 0,67

Les résultats obtenus en réalisant une clairance plasmatique ne présentent pas de différence significative avec ceux obtenus par une clairance urinaire. Or la clairance urinaire est délicate à mettre en place et peut être à l'origine d'infection du tractus urinaire. L'étude de la clairance plasmatique d'un marqueur est donc une bonne estimation du DFG.

Les trois méthodes utilisées pour déterminer l'AUC donnent des résultats convenables. Cependant les résultats obtenus par la troisième méthode sont les moins fiables. Cela pourrait être lié au faible effectif. La première méthode est la plus adaptée. La seconde est la plus pratique puisqu'elle ne nécessite que trois prélèvements sanguins.

Fettman et coll. [44] utilisent la méthode des trapèzes et une approche monocompartimentale pour obtenir l'AUC. Les valeurs (tableau 4), du DFG, obtenues sur les chiens sont comparable aux valeurs obtenues par Bovée et coll. (clairance urinaire de créatinine endogène sur 24 heures) [16] et par Finco et coll. (clairance urinaire de créatinine exogène et d'inuline en perfusion constante) [52] (tableau 4).

II-3 Marqueurs utilisés

Plusieurs marqueurs peuvent être utilisés pour déterminer le DFG. La clairance urinaire de l'inuline est le « gold standard » puisque c'est la première méthode qui fut mise en place (Houck en 1948) [70]. D'autres molécules sont aussi utilisées : créatinine, sulfanilate de sodium, EDTA, DTPA...

L'utilisation de radio-isotopes de ces molécules (^{14}C -Inuline, ^3H -Inuline, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA) facilite la réalisation du dosage [11, 82, 95].

Des produits de contraste permettent, de réaliser une détermination du DFG, mais également, du fait de leurs propriétés, de les suivre par imagerie, au sein de l'organisme. Ainsi, il peut être effectué, par la même occasion une angiographie rénale ou une urographie [14, 77, 78].

Tableau 4 :
Comparaison des valeurs obtenues chez le chien sain par
Fettman et coll. [44], Bovée et coll. [16] et Finco et coll. [52]

Auteurs	Marqueur utilisé	DFG Unité : mL/kg/min
Fettman et coll.	Inuline	3,55 ± 0,14
Bovée et coll.	Créatinine endogène sur 24 heures	3,7 ± 0,77
Finco et coll.	Inuline	4,10 ± 0,62
	Créatinine exogène	4,09 ± 0,50

II-3.1 L'inuline

II-3.1.1 Caractères généraux de l'inuline

L'inuline est un polymère naturel du glucose. C'est un polyfructosanne qui peut être extrait de différentes tubercules : *Dahlia rosea*, *Cichorium intibus*... [8, 80]. C'est une molécule qui répond aux critères de Smith [63]. Elle est inerte, non métabolisée par l'organisme et de faible poids moléculaire (5200 da) [18].

II-3.1.2 Les dérivés radiomarqués de l'inuline

Les radioisotopes de l'inuline sont utilisés car ils favorisent leur dosage du fait de leur marquage. Ces composés sont : ^{14}C -Inuline et ^3H -Inuline [44, 76]

La clairance plasmatique de ces marqueurs a été utilisée comme marqueur du DFG.

Ce marqueur répond aux critères de SMITH et est exclusivement éliminé par filtration glomérulaire. La clairance urinaire de l'inuline est la référence, le « gold standard » pour la détermination du DFG. Toutes les molécules qui sont, potentiellement, des marqueurs du DFG, sont comparées à la clairance urinaire de l'inuline [50, 95]. La clairance urinaire est obtenue après la mise en place d'une perfusion, et la réalisation de trois collectes d'urine d'une période de 20 minutes chacune. La vessie est rincée avant le début de la première collecte. Par la suite, elle est rincée à la fin de chaque collecte. Des prélèvements de sang sont effectués à la jugulaire au début et à la fin de chaque collecte. Ces prélèvements d'urine et de sang sont utilisés pour déterminer la clairance de l'inuline [52]

Cette comparaison permet alors de valider l'hypothèse qu'un autre marqueur puisse être utilisé pour déterminer le DFG. Ainsi, l'inuline est utilisée chez le chien sain [52] et le chien insuffisant rénal [50] par Finco et coll., chez le chat sain par Brown et coll. [25] afin de valider d'autres marqueurs.

II-3.2 La créatinine

II-3.2.1 Caractères généraux de la créatinine

La créatinine est une molécule polaire (hydrosoluble), de poids moléculaire égale à 113 Da, provenant du métabolisme musculaire. Cette molécule est éliminée par filtration glomérulaire. Chez certaines espèces (l'homme) il existe une sécrétion tubulaire [49, 54, 76]. En revanche, rien n'est clairement établi chez le chien. Certains auteurs estiment que les différences trouvées lors de la détermination de la clairance urinaire seraient liées à cette sécrétion [16] alors que d'autres estiment que ces différences sont liées aux méthodes de dosage [50]. Mais la concentration plasmatique de la créatinine est influencée par des facteurs extrarénaux (masse musculaire, poids, alimentation, et métabolisme intestinal).

Ce marqueur est facilement dosable. La méthode la plus couramment utilisée était celle de Jaffé. Cette réaction provoque la formation d'un picrate alcalin de créatinine, de couleur rouge, et, est dosé par colorimétrie. Mais il existe de nombreuses réactions croisées avec des chromogènes plasmatiques : glucose, acide pyruvique, urée [42, 53, 76, 80]. Une réaction enzymatique basée sur une réaction peroxydase-antiperoxydase a été mise au point. Cette réaction est actuellement utilisée pour doser la créatinine.

Elle donne de meilleurs résultats [50] sur le dosage de la créatinine que la méthode de Jaffé [49]. Finco et coll. [55] mettent en évidence une différence significative entre les résultats obtenus par la méthode de Jaffé et la réaction enzymatique. Dans cette étude, ils déterminent la clairance de la créatinine endogène en réalisant des collectes d'urine sur des périodes de 20 minutes et 24 heures. Les résultats obtenus avec la réaction enzymatique ne révèlent aucune différence significative entre les deux techniques de détermination du DFG. La méthode de dosage de la créatinine (réaction enzymatique) est donc adaptée à la détermination du DFG en pratiquant des collectes d'urines de 20 minutes. Cette méthode de dosage est probablement valable pour des périodes de collecte de 24 heures. Mais le faible

nombre d'essais, pour une collecte d'urine durant 24 heures, ne permet pas de confirmer cette hypothèse [55].

Deux méthodes utilisent la créatinine comme marqueur : la clairance de créatinine endogène [55], et la clairance de la créatinine exogène [50]. La clairance de la créatinine exogène se détermine suite à une administration de créatinine exogène. Pour la créatinine endogène sa concentration plasmatique est stable [53, 113, 131, 134]. Malgré la controverse, les clairances urinaires de la créatinine endogène et exogène donnent une très bonne estimation du DFG [69, 76].

II-3.2.2 La créatinine endogène

II-3.2.2.a Protocole

Bovée et coll. [16] réalise une clairance urinaire de la créatinine endogène pendant 24 heures sur 36 chiennes. Les chiennes de race Beagle sont âgées de 6 à 12 mois et pèsent entre 7 et 11 kg. Elles sont mises dans une cage à métabolisme pendant 24 heures. Avant de les mettre dans ces cages, la vessie est cathétérisée et vidée de son contenu. Les urines sont collectées et au bout de 24 heures la vessie est à nouveau vidée. Un prélèvement sanguin est effectué sur chaque chienne au milieu de l'expérimentation de manière à déterminer la concentration plasmatique de la créatinine.

Dans une seconde étude les 36 chiennes sont anesthésiées. L'anesthésie est induite avec du thiopental sodique à la dose de 11 mg/kg, et est maintenue avec de l'halothane et de l'oxygène. Un protocole similaire est mis en place sur une période de 18 heures. En outre une clairance urinaire de l'inuline sur une période de 18 heures est réalisée pour pouvoir comparer les résultats. 10 de ces 36 chiennes ont subi une réduction de la masse rénale de l'ordre de 75%. La concentration urinaire de créatinine est mesurée par la méthode de Jaffé.

II-3.2.2.b Valeurs obtenues

La clairance de la créatinine endogène, pendant 24 heures, chez le chien, est de $60,2 \pm 7,8$ mL/min/m², soit $3,7 \pm 0,77$ mL/min/kg [16] (tableau 5).

Les valeurs obtenues dans les deux études ne sont pas comparables (tableau 5). Le stade physiologique des animaux est différent (vigiles, anesthésiés), ce qui est un facteur de variation du DFG. Par contre les valeurs de la clairance de l'inuline et de la créatinine endogène sur la période de 18 heures sont similaires. Bovée et coll. [16] signalent qu'en général les valeurs de la clairance de la créatinine endogène sont légèrement supérieures à celle de l'inuline. Or dans cette étude ce n'est pas le cas. Il estime que cette situation est liée au fait qu'il n'utilise que des femelles. Il présume que cette différence est liée à la possible sécrétion tubulaire de créatinine chez le mâle.

Dans les deux études, la différence entre le DFG des animaux témoins et le DFG des animaux néphrectomisés est significative. Les valeurs de la concentration plasmatique de la créatinine ont augmenté, mais elles restent dans l'intervalle de référence. Ainsi, le DFG permet une détection plus rapide d'un dysfonctionnement rénal.

II-3.2.3 La créatinine exogène

II-3.2.3.a Protocole

De nombreux protocoles ont été proposés. Certaines étapes importantes sont systématiquement retrouvées.

Tableau 5 :
Clairances urinaires de la créatinine endogène
sur des chiens sains et nephrectomisés, vigiles et anesthésiés
d'après Bovée et coll. [16]

Unité : mL/min/m ²	DFG			Plasma Créatinine (mg/L)
	Vigiles	Anesthésiés		
	24 heures créatinine endogène	Clairance inuline (sur 18 h)	Clairance créatinine (sur 18 h)	
Témoins	60,2 ± 7,8	40,6 ± 12,8	41,0 ± 12,6	8,2 ± 1,5
Nephrectomisés (partielle)	28,8 ± 6,1	24,7 ± 5,0	24,5 ± 4,3	12 ± 1,4

Une diète hydrique des animaux est réalisée pendant une période de 8 à 12 heures. Par une sonde gastrique, il est administré 30 mL / kg d'eau et par animal. Par voie sous cutanée une dose de 100 mg/kg de créatinine sous forme de solution stérile à la concentration de 50 mg/mL est administrée. Cette étape correspond à t_0 de l'étude. Une heure plus tard la vessie est vidangée et rincée. Trois collectes d'urine sont réalisées pendant trois périodes de 20 min. Un prélèvement sanguin est effectué au début et à la fin de chaque période de collecte d'urine [18, 52].

La moyenne de la créatininémie pour les deux prélèvements sanguins, correspondant à une collecte d'urine est calculée, ainsi que la concentration urinaire de créatinine, et le volume d'urine émis. Le DFG en mL/min est obtenu par la formule suivante [18, 52]:

$$\text{DFG} = \frac{V \cdot C_{\text{urinaire}}}{C_{\text{plasmatique}}}$$

L'obtention du DFG en mL/min/kg, se réalise en divisant le résultat précédemment obtenu par le poids de l'animal.

II-3.2.3.b Valeurs obtenues

Finco et coll. [46] obtiennent un DFG de $4,09 \pm 0,50$ mL/min/kg. L'utilisation de la créatinine permet d'obtenir de bonnes estimations du DFG chez le chien [52, 81].

Les différentes estimations du DFG (créatinine endogène, créatinine exogène, inuline et ^{14}C -inuline) sont sensiblement similaires (tableau 6).

Il existe malgré tout des divergences dans les résultats [16, 131]. Certaines études sont difficilement comparables car elles utilisent des méthodes de détermination et des modèles pharmacocinétiques différents.

Tableau 6 :
Valeurs du débit de filtration glomérulaire
obtenues chez le chien sain
dans différentes études

<i>Marqueur</i>	<i>Chiens</i>	<i>Valeurs</i>	<i>Unités</i>	<i>Ref.</i>
<u>Inuline</u>	Anesthésiés	4,72 ± 1,82	mL/min/kg	109
	Vigiles	3,39 ± 0,73	mL/min/kg	81
<u>Créatinine</u> <u>Endogène</u>	Vigiles	3,7 ± 0,77	mL/min/kg	16
	Vigiles	2,97 ± 0,41	mL/min/kg	52
	Vigiles	3,49 ± 0,73	mL/min/kg	81
	Vigiles	2,61	mL/min/kg	131
	Vigiles	57,6 ± 9,3	mL/min/m ²	16
	Anesthésiés	42,2 ± 13,3	mL/min/m ²	16
<u>Créatinine</u> <u>Exogène</u>	Vigiles	4,09 ± 0,50	mL/min/kg	52
<u>¹⁴C-inuline</u>	Vigiles	4,10 ± 0,62	mL/min/kg	52
	Vigiles	3,55 ± 0,14	mL/min/kg	44

II-3.3 Autres marqueurs

Dans l'objectif de simplifier la technique de détermination du DFG, l'étude des clairances peut s'effectuer à l'aide d'autres marqueurs que l'inuline ou la créatinine.

II-3.3.1 Le sulfanilate de sodium

C'est une molécule qui est exclusivement filtrée par le glomérule [18].

La détermination de la clairance consiste à administrer par voie IV un bolus de sulfanilate de sodium (20 mg/kg), puis réaliser des prélèvements sanguins à 0, 30, 60, 90 minutes [18].

Le dosage du sulfanilate se réalise par un dosage des amines aromatiques. Or cette réaction n'est pas spécifique et peut fausser les résultats si les patients sont traités avec des sulfamides [18].

II-3.3.2 Les molécules chélatrices

Des molécules chélatrices [76] sont aussi utilisées pour déterminer le DFG. Ces molécules sont : l'EDTA (Ethylène diaminotétracétate) [18, 76, 131] et le DTPA (Diéthylènetriaminopentaacétate) [18, 76, 127].

Ce sont surtout leurs dérivés radiomarqués (^{51}Cr -EDTA, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA) qui sont utilisés. Ils permettent de réaliser des clairances plasmatiques [18, 21, 62, 63, 76, 89, 114]. Leur radioactivité facilite leur dosage.

Le radiomarqueur $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA est complètement filtré par le glomérule, il n'est pas sécrété ni réabsorbé. Ce marqueur n'est pas produit ou métabolisé par l'organisme et il est rapidement éliminé (son temps de demie vie est d'environ 6 heures). Rogers et coll. [114] réalisent une clairance urinaire de la créatinine exogène et une clairance plasmatique du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA sur 6 chats anesthésiés (4 mâles et 2 femelles). Ils mettent en place une

perfusion de créatinine à un débit de 0,5 mg/kg/min, après avoir injecté un bolus IV de 40 mg/kg de créatinine. Une injection de $0,91 \pm 0,11$ mCi de ^{99m}Tc -DTPA est réalisée 30 minutes après. Les prélèvements de sang et d'urine ont lieu après l'injection de ^{99m}Tc -DTPA ($t = 0$), à 60, 120 et 180 minutes [114]. Les valeurs obtenues ne présentent pas de différence significative.

Ce type de marqueur est aussi utilisé en imagerie. Krawiec et coll. [81] ont mis en place un protocole permettant de déterminer le DFG en suivant l'évolution du ^{99m}Tc -DTPA au sein de l'organisme [18]. Cependant la radioactivité limite l'utilisation du ^{99m}Tc -DTPA aux structures expérimentales.

II-3.3.3 Les produits de contrastes

II-3.3.3.a Généralités

Les produits de contrastes nous permettent de suivre leur évolution dans l'organisme par des systèmes radiographiques : myélographie [92], angiographie [14, 77], urographie [78, 89], rénogrammes [18].

Cette visualisation est possible grâce à l'absorption des rayons X par l'iode. De plus cette absorption est proportionnelle à la concentration en iode marqueur de la molécule [11, 14].

Les produits de contrastes utilisés sont : l'iocarmate, l'ioxaglate, l'iothalamate pour les produits ionisés et le métrizamide, l'iopamidol, l'iohexol, et l'iotralan pour les molécules non-ionisées [4].

II-3.3.3.b Réalisation pratique

Pour la détermination du DFG les deux molécules les plus utilisées sont l'iohexol [24, 57, 61, 88, 98, 123, 124, 125] et l'iothalamate.

L'iohexol était initialement utilisé pour les myélographies [125]. Mais sa grande solubilité a permis son utilisation intravasculaire et donc son utilisation pour la détermination du DFG [24, 57, 61, 88]. Moe et Heiene ont comparé les résultats obtenus de l'estimation du DFG par ^{99m}Tc -DTPA et par l'iohexol [95]. Cette étude a été réalisée sur 18 chiens : 9 chiens sont cliniquement sains, 4 chiens ont une pathologie rénale connue sans azotémie, et 5 chiens présentent une azotémie. Une injection IV de ^{99m}Tc -DTPA (10 à 25 mBq en fonction du poids de l'animal) et d'iohexol (600 mg Iode par kg) est réalisé. Les prélèvements sanguins sont réalisés juste après l'injection ($t = 0$) puis à 5, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 et 360 minutes. D'autres prélèvements ont lieu 12 et 24 heures après l'injection.

Le dosage des différents marqueurs se réalise par une analyse de la radioactivité pour le ^{99m}Tc -DTPA et par la concentration en iode pour l'iohexol.

La clairance est calculée en utilisant un modèle bicompartimental et monocompartimental. Les résultats obtenus pour le modèle bicompartimental sont de 32,7 mL/min/m² (pour le ^{99m}Tc -DTPA) et de 68,1 mL/min/m² (pour l'iohexol). Par contre les résultats avec la méthode de calcul utilisant un modèle monocompartimental sont supérieurs : 66,2 mL/min/m² (pour le ^{99m}Tc -DTPA) et de 77,4 mL/min/m² (pour l'iohexol) [95].

Sur les 9 chiens sains, les résultats obtenus se situent entre 1,9 et 3,5 mL/min/kg pour le ^{99m}Tc -DTPA et 1,6 et 3 mL/min/kg pour l'iohexol. La corrélation entre les deux méthodes est bonne. Ainsi cette étude permet de conclure que l'estimation du DFG par l'étude de la clairance plasmatique de l'iohexol fournit de bons résultats. Les résultats obtenus par Effersoe et coll. [38] sont similaires à ceux obtenus par Moe et Heine [95].

Heiene [68] essaye par la suite de simplifier cette méthode. Elle se base sur la méthode proposée par Bröchner-Mortensen [21]. Dans un modèle monocompartimental, la clairance est calculée à partir d'une équation mathématique caractérisant la courbe de décroissance plasmatique. Or, certains paramètres de cette équation peuvent être déterminés grâce à quelques points. Ainsi cela réduit considérablement le nombre de prélèvements sanguins à réaliser. Bröchner-Mortensen est parti du principe qu'il existait une relation entre la clairance obtenue par un modèle monocompartimental et la clairance réelle [21]. Une fois que cette relation mathématique entre les deux clairances a été mise en évidence, il a pu confirmer que les clairances calculées correspondaient aux clairances mesurées. Heiene utilise cette méthode pour estimer le DFG en utilisant l'iohexol et en ne réalisant que deux prélèvements sanguins (2 et 4 heures après l'injection IV) [68].

3^{ème} Partie

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

L'IOTHALAMATE

I. DESCRIPTION DE LA MOLECULE

I.1 Formule

L'iothalamate est un produit de contraste, classé dans les molécules ionisées. C'est un dérivé de l'acide triiodo-benzoïque [60]. Sa formule comprend une fonction acide en position 1 du cycle et des radicaux de taille importante en position 3 et 5 (figure 11) [74].

I-2. Caractéristiques physico-chimiques

Le poids moléculaire de l'iothalamate est de 643 Da [14, 60]. Il peut être marqué avec de l'iode 131 ou 125. C'est surtout l'iothalamate marqué à l'iode 125, qui est utilisé pour la détermination du DFG [14, 60].

Cinq paramètres physico-chimiques sont très importants pour le devenir de cette molécule : la stabilité, la solubilité, l'hydrophilie, la viscosité et l'osmolalité [14].

L'iothalamate est un monomère ionisé (COO^-). A une température de 20 °C et pour une solution de 300 mg d'iode par mL, sa densité est égale à 1,34 g/mL. En solution l'iothalamate se dissocie en un anion et un cation. L'anion possède les atomes d'iodes qui sont radio-opaques. Ce sont ces atomes qui permettront le suivi du marqueur [14, 110]. L'osmolalité de l'iothalamate est de 1500 mOsm / kg H_2O ; Il s'agit donc d'une solution hypertonique qui va augmenter [14, 110]. Le coefficient de partition de l'iothalamate est de 0,039. Ce coefficient compare la solubilité du produit dans le butanol par rapport à sa solubilité dans l'eau. Pour l'iothalamate, la solubilité dans l'eau est environ 25 fois supérieure à sa solubilité dans le butanol, ce qui traduit une hydrophilie importante. Cette solubilité est augmentée lors de son estérification avec la méglumine.

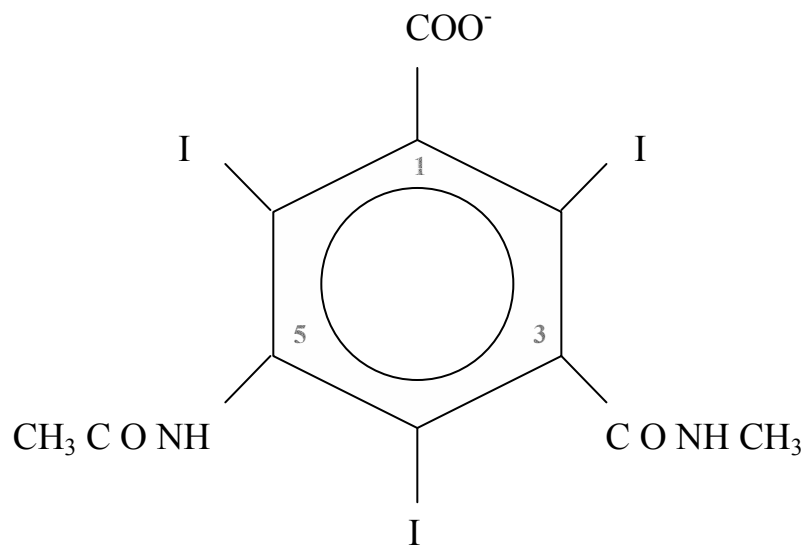


Figure 11 : Formule de l'iothalamate

La viscosité de l'iothalamate est, pour une solution à 37°C et à 300 mg d'iode par mL, de $5,2 \cdot 10^{-3}$ Pa/s à 37°C (celle de l'eau est égale à 1) [78]. La viscosité mesure la capacité du produit à s'écouler [14].

II. METHODE DE DOSAGE

Les concentrations plasmatiques de l'iothalamate sont déterminées grâce à une méthode HPLC modifiée par Jayewardene et coll. [74]. La séparation se réalise grâce à une colonne détectant les ultra-violets d'une longueur d'ondes de 254 nm. La phase mobile est composée de 22% de méthanol, 3% d'acétonitrile et 1,75 mM de tetrabutylammonium chloride dans 12mM de phosphate de potassium (pH = 7,5) [85].

50 µL de protéines plasmatiques sont mélangées à 5 µL d'une solution tampon et 20 µL d'acide chlorhydrique à 0,1 N. Par la suite un précipité est obtenu par l'ajout de 425 µL d'acétonitrile. 10 µL du surnageant obtenu, sont alors injectés dans la colonne de chromatographie. La limite inférieure de quantification est de 5 µg/mL.

Cette technique permet de séparer et de quantifier les différents composants présents dans le plasma (figure 12).

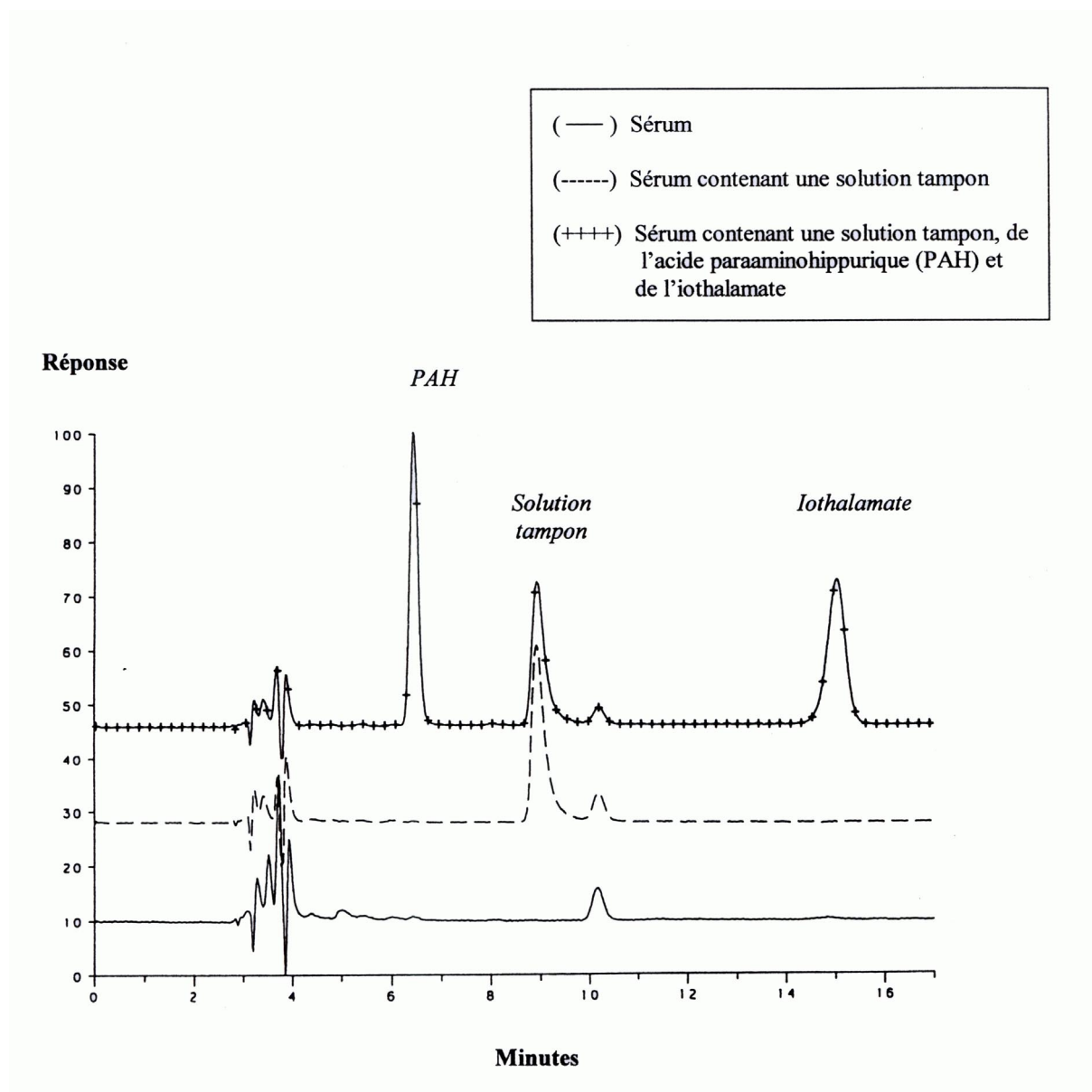


Figure 12 :
Exemples de chromatogrammes
d'après Rosonald et coll. [115]

III. PHARMACOCINETIQUE DE L'IOTHALAMATE

La modélisation de la pharmacocinétique des produits de contrastes fait appel le plus souvent à des modèles bi-compartimentaux. La première phase correspond à une distribution rapide, alors que la deuxième phase correspond à l'élimination.

III-1 Absorption

L'iothalamate peut être administré par voie IV. Dans cette étude il est injecté par voie IV.

III-2 Distribution

Le pic de concentration est immédiat (du fait de l'administration IV). La pharmacocinétique de l'iothalamate, est basée sur un modèle bi-compartimental, comprenant le compartiment plasmatique et le compartiment extracellulaire. Le volume de distribution de l'iothalamate est de $0,13 \pm 0,03$ L/kg [14]. Ce volume de distribution correspond au volume des liquides extracellulaires. Ainsi, du fait de sa faible liposolubilité, l'iothalamate diffuse rapidement dans l'espace interstitiel [14].

Suite aux résultats de différentes études mettant en évidence une différence de 17 % entre la clairance totale et la clairance rénale de l'iothalamate, Prueksaritanont [110] réalise, sur 5 chiens (mâles), une étude dont l'objectif est de déterminer l'origine de cette différence (erreur de calcul, existence d'une clairance extra-rénale). Il obtient une différence de 18 % entre la clairance totale et la clairance rénale [110]. Or chez le chien la présence d'une clairance extra-rénale n'est pas clairement définie. Une petite quantité a été mise en évidence dans la bile chez l'homme et le lapin [110]. L'existence d'une clairance extra-rénale est mineure chez des individus ayant une fonction rénale normale. Par contre elle augmente

quand la fonction rénale diminue. De plus cette différence n'a probablement pas pour origine une erreur dans la détermination de l'AUC.

Un autre facteur est donc à l'origine de cette différence. In vitro, et par une technique de dialyse, Prueksaritanont et coll. mettent en évidence une fixation aux protéines plasmatiques [14, 110]. Une fois que cette fixation, aux protéines plasmatiques, est prise en compte dans les résultats, la clairance rénale par l'inuline et la clairance rénale par l'iothalamate ne présente plus de différence significative.

III-3 Métabolisme

Cet agent n'est pas métabolisé [14].

III-4 Elimination

La principale voie d'élimination chez le chien est urinaire. Le temps de demi-vie, chez le chien, est estimé entre 0,7 et 1 h [110].

Lundquist et coll. [89] ont montrés que l'iothalamate et d'autres agents pouvaient avoir, chez l'homme, une élimination extra-rénale dans les cas de diminution importante des fonctions rénales. Cette voie extrarénale est la bile [110]. L'élimination biliaire chez le chien n'est pas clairement établi [110]. L'iothalamate a été retrouvé dans la bile, chez l'homme et le lapin, à la suite d'une injection IV du produit.

IV. TOXICITE

L'effet toxique le plus important des produits de contraste semble être leur néphrotoxicité. L'apparition d'insuffisance rénale peut résulter de l'utilisation de produit de contraste [58, 72, 78]. La néphrotoxicité des produits de contraste est la troisième cause d'apparition d'insuffisance rénale en milieu hospitalier chez l'homme [32, 78].

IV-1 Mécanismes d'action

L'osmolarité va jouer dans ce mécanisme un rôle important.

En effet, l'injection de produits de contrastes va provoquer une baisse importante de la résistance vasculaire rénale, et donc une chute du débit de filtration glomérulaire. Mais ces perturbations hémodynamiques sont associées à des facteurs de risques : l'insuffisance rénale, le diabète, les myélomes, la déshydratation, l'action d'autres agents néphrotoxiques, l'hypotension, l'ischémie rénale [32, 33, 71, 97].

Ces perturbations vont provoquer une activation du retro-contrôle tubuloglomérulaire (l'appareil juxtaglomérulaire). Ce rétrocontrôle déclenche une modulation de la production des médiateurs vasoactifs (prostaglandines, adénosine, angiotensine) qui provoquera une vasoconstriction des artérioles afférentes [3]. Cette activation va dépendre de l'osmolarité du produit de contraste. Cette réponse sera plus importante si l'osmolarité est élevée [96, 100].

La diminution du débit urinaire, la chute du DFG et de la réabsorption du sodium [96] vont avoir pour conséquences des effets sur le tubule, les fonctions rénales, les médiateurs systémiques, les cellules sanguines et les médiateurs vasoactifs intrarénaux (endothéline, adénosine) [32, 96].

Chez les animaux, l'effet vasoconstricteur est transitoire, et n'est pas suffisant pour provoquer des dysfonctionnements rénaux, mais il se cumule avec les effets toxiques de ces mêmes produits sur les cellules tubulaires [32].

De plus ces effets directs sur le rein peuvent être associés à des agrégations plaquettaires, pouvant favoriser la formation de thrombus pouvant entraîner une IRA pré-rénale [3].

IV-2 Prévention

De nombreuses études recommandent de prévenir les effets néfastes des produits de contrastes. Cette prévention passe par une hydratation à l'aide d'une solution de chlorure de sodium à 0,45% ou 0,9%, l'administration de diurétiques, de théophylline et de dopamine [96, 129]. Chez l'homme, il est conseillé de perfuser les patients avec une solution saline à 0,9%, à la dose de 100mL/h, 4 heures avant l'injection du produit de contraste [96].

De nombreuses études proposent d'instaurer un pré-traitement à base de corticostéroïdes (prednisone), d'antihistaminique (diphenhydramine) et d'adrénaline par voie orale entre 2 et 12 heures avant l'administration de l'iothalamate [129].

95% des réactions néfastes dues à l'iothalamate, ont lieu dans les 20 minutes qui suivent l'injection [129].

Chez l'homme, le traitement initial est basé sur un apport en oxygène, la mise en place d'une perfusion et l'utilisation d'adrénaline. Ce traitement a pour but d'éviter une hypotension et par conséquent une mauvaise perfusion rénale [129]. Ce traitement peut être complété par des antihistaminiques ou une dose importante de corticostéroïdes, de bronchodilatateurs et d'atropine [129].

Les réactions spécifiques sont traitées au cas par cas :

- vomissements : antiémétiques (prochlorperazine)
- réactions cutanées : antihistaminiques (diphenhydramine)
- œdème laryngé : oxygénation, adrénaline
- bronchospasme : oxygénation, β_2 agoniste, adrénaline [129].

V. UTILISATION POUR LA MESURE DU DFG

Les propriétés de l'iothalamate répondent dans l'ensemble aux critères de Smith. De plus cette molécule est uniquement filtrée par le glomérule. Il n'y a aucune sécrétion et aucune réabsorption tubulaire. En outre son temps de demi-vie court permet une élimination rapide puisque 75% de la dose injectée est éliminée en 24h. Son utilisation est donc intéressante pour la détermination du DFG. La clairance plasmatique et rénale est donc un marqueur précoce de la fonction rénale qui va nous permettre de détecter l'insuffisance rénale avant même que celle-ci ne devienne irréversible et mortelle pour l'animal. Son dosage peut se réaliser par HPLC [74] mais aussi par un dosage de radioactivité quand un radioisotope est utilisé.

Une étude a particulièrement bien mis en évidence l'intérêt de ce marqueur chez le chat. Ohashi et coll. [101] ont déterminé la clairance plasmatique de l'iothalamate sur des chats ayant une insuffisance rénale induite. Huit chats mâles âgés de 1 à 3 ans et pesant de 1,3 à 3,2 kg sont utilisés pour cette étude. Ils sont séparés en deux groupes de 4 chats : le premier groupe est un groupe comprenant les chats témoins, le second groupe comprend les chats qui vont subir l'induction d'une insuffisance rénale. L'étude de la clairance plasmatique de l'iothalamate se réalise plus d'un mois après l'intervention chirurgicale. En premier lieu, une dose de 113,8 mg/kg de iothalamate est injectée par voie IV par un cathéter. Par la suite, 3mL d'une solution de NaCl 0,9% sont injectés de manière à rincer le cathéter. Des prélèvements sanguins de 3mL sont réalisés à la jugulaire à différentes périodes (t = 0, 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150, 180 et 360 minutes après l'injection). Le plasma est alors séparé par centrifugation à 3000 tours par minutes pendant 20 minutes puis il est stocké à -20°C. Par la suite, 0,2 mL de plasma sont recueillis et traités de manière à pouvoir déterminer la concentration plasmatique en iothalamate [74].

La représentation semi-logarithmique (figure 13) de l'évolution des concentrations plasmatiques en fonction du temps permet de distinguer deux phases : une première phase pendant les 30 premières minutes, puis une phase linéaire de 30 à 360 minutes.

Les résultats sont calculés grâce à un modèle monocompartimental [101]. Le DFG est estimé entre $2,08 \pm 0,06$ et $2,43 \pm 0,25 \cdot 10^{-3}$ mg/L/min pour les chats ayant subi l'intervention chirurgicale. Pour le lot témoin les valeurs du DFG sont comprises entre $4,00 \pm 1,00$ et $5,04 \pm 1,58 \cdot 10^{-3}$ mg/L/min. Ohashi et coll. proposent, de manière à simplifier le protocole, d'assimiler la courbe de décroissance plasmatique à la phase linéaire. Le DFG peut alors être déterminé en réalisant trois prélèvements sanguins au delà de 30 minutes après l'injection (par exemple : $t = 60, 90$ et 120 minutes).

Concentration plasmatique
de l'iothalamate (mg/L)

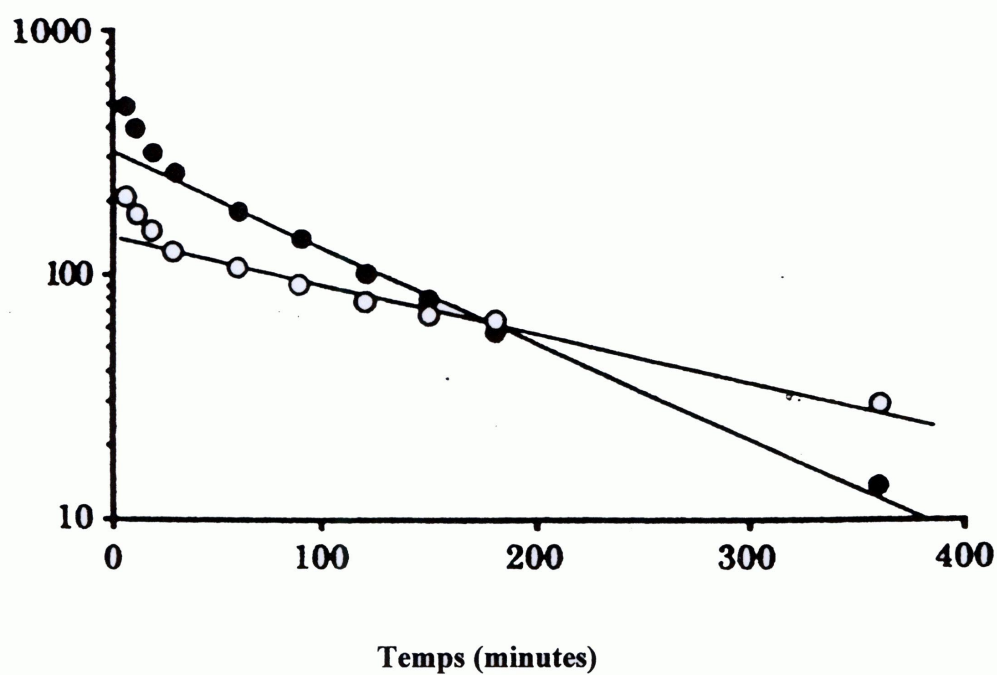


Figure 13 :
Représentation semi-logarithmique
de la concentration plasmatique de l'iothalamate
chez des chats avant (○) et après (●) chirurgie
d'après Ohashi et coll. [101].

4^{ème} Partie

ETUDE EXPERIMENTALE.

L'objectif de ce travail est de confirmer l'hypothèse que la clairance plasmatique de l'iothalamate peut être utilisée comme marqueur du débit de filtration glomérulaire chez le chien, en le comparant aux méthodes classiquement utilisées avec d'autres méthodes.

I. MATERIELS ET METHODES

I-1 Les chiens

Cette étude a été réalisée en accord avec les normes fixées par le ministère de l'agriculture français. Six chiens sains, adultes, mâles de race Beagle pesant entre 9,4 et 14 kg sont utilisés pour cette étude. Ils proviennent de l'élevage de Harlan (Gannat, France). Les animaux sont vaccinés contre la maladie de Carré, la parvovirose, la leptospirose et l'hépatite de Rubarth. Les chiens sont habitués aux conditions expérimentales (environnement, alimentation, investigation) pendant 2 semaines. Les chiens sont placés dans des cages individuelles 9 jours avant le début de l'expérience. Ils sont mis en liberté dehors tous les matins pendant 60 minutes, sauf pendant l'expérience. Ils sont nourris une fois par jour avec 240 g d'un aliment commercial (M25 maintenance, Royal Canin, Aimargues, France). Le jour de l'étude cinétique, les chiens sont nourris une fois que les prélèvements sanguins à $t = 10$ heures sont réalisés. Lors de l'expérience, de l'eau est proposée aux chiens toutes les 2 heures à partir de l'injection jusqu'à la fin des périodes de prélèvements sanguins. En temps normal l'eau est distribuée à volonté. Les chiens sont pesés au début de chaque étude.

I-2 Description de l'expérience

L'expérience, réalisée sur 6 chiens sains, consiste à déterminer et à comparer, la clairance plasmatique de l'iothalamate aux clairances obtenues à l'aide d'autres marqueurs. Cette expérience comporte 4 phases :

- détermination de la clairance urinaire de la créatinine endogène sur une période de 24 heures,
- détermination de la clairance plasmatique de la créatinine exogène
- détermination de la clairance plasmatique de l'iothalamate,
- détermination de la clairance urinaire et plasmatique d'un dérivé radiomarqué de l'inuline (^{14}C -inuline).

I-3 Substances utilisées et administrations

Les substances utilisées sont préparées avec de l'eau stérile distillée (Eau pour préparation injectables, Laboratoire Aguettant, Lyon, France). Une solution aqueuse de créatinine, à la concentration de 80mg/mL, est préparée avec de la créatinine anhydre (Sigma Chemical Co, St Louis, MO). La créatinine est administrée à la dose de 80 mg/kg. Le méglumine de iothalamate (Contrix 28 Perfusion, Laboratoire Guerbet, Roissy-Charles-de-Gaulle, France) est injecté à la dose de 60 mg/kg et de la ^{14}C -inuline (NEN, Boston, MA) à la concentration de 62,5 $\mu\text{Ci/mL}$ est administré à la dose de 2 $\mu\text{Ci/kg}$. Toutes les administrations sont réalisées entre 9h00 et 10h00 du matin par une injection IV grâce à un cathéter fixé à demeure à la veine céphalique droite.

L'hématocrite et la densité du plasma (estimé par un indice de réfraction) sont déterminés avant et après chaque étude cinétique de manière à déterminer le stade d'hydratation de l'animal.

Pour les méthodes de clairances urinaires une densité urinaire est réalisée après chaque test.

I-4 Collections d'urine et prélèvements de sang

Les prises de sang sont réalisées sur des tubes héparinés. Elles sont effectuées à la jugulaire (1 ml), les prélèvements sont ensuite centrifugés (1000 g, 10 min, 4°C). Deux aliquotes (0,2 mL) issus de la centrifugation sont stockés au froid à -20°C. Les échantillons sont obtenus à t = 0 minutes et 2, 5, 10, 20, 30, 60 et 90 minutes et 2, 3.5, 6, 10 et 24 heures après l'administration.

Pour les clairances urinaires, les urines sont recueillies dans des bouteilles en verres et sont conservées dans des boîtes en polystyrène à une température maintenue à 5°C grâce à de la glace. La vessie est vidée par cathéterisation au début de chaque étude (juste avant l'administration IV du marqueur) et 24 heures après l'administration (immédiatement après le dernier prélèvement de sang), comme le décrit Finco [47]. Un cathéter est mis en place et l'urine est aspirée avec une seringue de 20mL. Quand la vessie semble vide, de l'air est injecté de manière à le confirmer, puis la vessie est rincée trois fois par une injection et une aspiration d'une solution de NaCl à 0,09%, ce qui s'ajoutera à l'urine. Les murs et le plateau de la cage sont correctement rincés trois fois et l'eau de rinçage est collectée. 10 mL et 400mL sont utilisés pour chaque rinçage respectivement la vessie et la cage à métabolisme.

I-5 Dosages

Les concentrations de l'iothalamate sont déterminées par HPLC [83]. La limite inférieure de la quantification est de 5µg/mL.

Les concentrations de ¹⁴C-inuline dans le plasma et l'urine sont déterminées grâce à un spectromètre (Kontron Beta V, Montigny Le Bretonneux, France) de scintillation liquide : 150 µL de l'échantillon sont placés dans un flacon de 10 mL avec 4,5 mL d'un mélange (Ready Safe, Beckman Instruments, Gagny, France) de scintillation liquide, et le décompte le nombre de coups pendant 4 minutes. Les coups par minutes sont convertis en désintégrations

par minutes (dpm) en utilisant une technique de ratio standard. La limite inférieure de quantification est de 90 pCi.

La concentration plasmatique de la créatinine est déterminée grâce à un analyseur (Ektachem 700 XR, Kodak, Johnson and Johnson Clinical Diagnostic Europe, Illkirch Graffenstaden, France) utilisant une méthode enzymatique. La créatinine urinaire est déterminée par la méthode de Jaffé : 50 μL d'un échantillon d'urine ou d'urine diluée auquel est ajouté 50 μL d'une solution d'acide picrique à 8,8mM et 50 μL de soude à 0,4 M. Le dosage du précipité rouge obtenu, est réalisé par spectrophotométrie à l'aide de microplaque de lecture (μQuant , Bio-Tek Instruments, Winooski, VT) à une longueur d'onde de 492 nm après une heure d'incubation. La limite inférieure de dosage par cette méthode est de 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ [120].

I-6 Analyses pharmacocinétiques

Toutes les analyses sont réalisées en utilisant le logiciel WinNonlin (Version1.1, Scientific Consulting Inc., Apex, NC).

Les données sont réalisées par une approche non-compartmentale. L'AUC (aire sous la courbe de l'évolution de la concentration plasmatique en fonction du temps) est calculée en utilisant la règle des trapèzes avec une extrapolation pour l'infinie :

$$\text{AUC} = \sum_{t=0}^{t_{\text{last}}} \frac{C_{n+1} + C_n}{2} \times (t_{n+1} - t_n) + \frac{C_{\text{last}}}{\lambda_z}$$

Dans cette équation, C_n et C_{n+1} sont les concentrations observées à t_n et t_{n+1} ; C_{last} est la dernière concentration observée (à t_{last}) ; et λ_z est le coefficient de la phase d'élimination qui est déterminée par les quatre derniers points. La clairance plasmatique de l'iothalamate est déterminé par le rapport entre la dose administrée et l'AUC.

La quantité totale de marqueur excrétée pendant 24 heures est calculée grâce à la concentration du marqueur dans l'urine et l'eau de rinçage et grâce au volume total d'urine et d'eau de rinçage.

La clairance urinaire (Cl_u) est obtenue grâce à la formule suivante :

$$Cl_u = Q/AUC$$

Dans cette formule Q est la quantité totale de marqueur excrété dans les urines (elle est égale à la concentration du marqueur dans les urines et l'eau de rinçage multiplié par le volume total).

I-7 Analyses statistiques

Toutes les analyses sont réalisées en utilisant le logiciel Systat (Version 8.0, SPSS Inc., Chicago, IL). Les résultats sont exprimés sous la forme moyenne \pm écart-type. Les analyses statistiques des estimations du DFG et des autres variables sont réalisées en utilisant un modèle linéaire. Les effets des méthodes, des chiens et des stades pathologiques sont pris en compte dans les modèles. Une valeur de $p < 0,05$ est considérée comme significative.

II. RESULTATS

Aucun effet défavorable n'a été observé lors des injections IV des différents marqueurs. La concentration plasmatique basale de la créatinine est de $0,9 \pm 0,14$ mL/kg. Le poids des chiens n'a pas changé durant l'étude. L'état d'hydratation de chaque chien est bon et l'hématocrite est compris dans l'intervalle de référence à la fin des 24 heures de collecte. Le volume d'urine collecté est de $16 \pm 4,5$ mL/kg.

II-1 Clairance urinaire de la créatinine endogène

Durant l'évaluation de la clairance urinaire de la créatinine endogène, la concentration plasmatique de la créatinine est stable, sauf lors du dernier prélèvement à 24 heures ($1,1 \pm 0,08$ mL/kg) qui était légèrement supérieur ($P < 0,001$) aux autres valeurs (en moyenne les valeurs obtenues sont de 9,7 à 10,1 mg/L). Cette valeur à 24 heures reste, avec la technique utilisée, inférieure à la limite supérieure de l'intervalle de référence concernant la concentration plasmatique de la créatinine (12 mg/L). La quantité de créatinine excrétée dans l'urine en une journée est de $48 \pm 5,0$ mg/kg. La clairance urinaire de la créatinine endogène est de $3,3 \pm 0,23$ mL/kg/minute (tableau 7).

II-2 Clairance plasmatique de la créatinine exogène

Pour une administration de créatinine exogène, à la dose de 80 mg/kg, un pic de concentration plasmatique se situe à $392 \pm 69,7$ mg/L. La concentration plasmatique de la créatinine décline rapidement : 10 heures après l'administration IV, la concentration plasmatique est de $18 \pm 1,6$ mg/L, et elle retourne à son niveau normale 24 heures après l'administration. La clairance plasmatique de la créatinine exogène est de $2,9 \pm 0,31$ mL/kg/minute (tableau 7).

Tableau 7 :
Valeurs des clairances de l'inuline, de la créatinine et de l'iothalamate
sur six chiens Beagles sains

mL/kg/minute	CLAIRANCE				
Chien	Urinaire Inuline	Urinaire Créatinine Endogène	Plasmatique Créatinine Exogène	Plasmatique Iothalamate	Plasmatique Inuline
1	3,2	3,3	3,0	3,3	4,9
2	3,2	3,5	2,6	2,9	4,8
3	2,8	2,9	3,4	3,2	5,5
4	2,9	3,5	2,8	3,2	4,6
5	2,5	3,3	2,7	2,4	4,0
6	2,9	3,3	3,3	3,6	5,4
<i>Moyenne</i>	<i>2,9</i>	<i>3,3</i>	<i>2,9</i>	<i>3,1</i>	<i>4,9</i>
<i>Ecart-type</i>	<i>0,26</i>	<i>0,23</i>	<i>0,31</i>	<i>0,39</i>	<i>0,54</i>

II-3 Clairance de l'inuline

La dose exacte de l'inuline et de l'iothalamate administré est respectivement de $2,3 \pm 0,13 \mu\text{Ci/kg}$ et $59,1 \pm 0,88 \text{ mg/kg}$. La quantité totale d'inuline retrouvée dans les urines est de $60 \pm 6,4 \%$ de la dose administrée. La clairance urinaire de l'inuline est de $2,9 \pm 0,26 \text{ mL/kg/minute}$ (tableau 7). Au bout de 6 heures la radioactivité plasmatique de l'inuline est inférieure à la dose minimale quantifiable pour tous les chiens. La clairance plasmatique de l'inuline est de $4,9 \pm 0,54 \text{ mL/kg/minute}$ (tableau 7).

II-4 Clairance de l'iothalamate

La concentration en iothalamate est inférieure à la dose quantifiable à 6 heures pour 2 chiens et à 10 heures pour les 4 autres. La clairance plasmatique de l'iothalamate est de $3,1 \pm 0,39 \text{ mL/kg/minute}$ (tableau 7).

II-5 Comparaison entre les valeurs obtenues

La clairance plasmatique de l'inuline est supérieure aux autres valeurs de la clairance ($p < 0,001$). Par contre la clairance urinaire de l'inuline ne présente pas de différence significative avec les clairances urinaires et plasmatiques de la créatinine, et la clairance plasmatique de l'iothalamate. Les clairances de la créatinine ne sont pas statistiquement différentes de celle de l'iothalamate.

III DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats obtenus démontrent que la clairance plasmatique de l'iothalamate est un bon indicateur du DFG chez le chien sain. Les valeurs observées précédemment chez des chiens sains pour la clairance urinaire de la créatinine endogène ($3,7 \pm 0,77$ mL/kg/minute) [16], la clairance plasmatique de l'iothalamate ($2,9 \pm 0,26$ mL/kg/minute) [86], la clairance plasmatique de l'inuline ($4,4 \pm 1,15$ mL/kg/minute) [84], et la clairance urinaire de l'inuline ($2,8$ mL/kg/minute)[79] sont similaires aux valeurs observées dans cette étude.

La concentration plasmatique basale de la créatinine est stable jusqu'à 24 heures. La légère augmentation à $t = 24$ heures, est difficilement interprétable, mais elle n'est pas une cause d'erreur dans le calcul de la clairance plasmatique de la créatinine. Les valeurs obtenues sont similaires aux valeurs précédemment observées [65]. Le volume quotidien d'urine était légèrement inférieur aux valeurs normales (20 à 40 mL/kg), une déshydratation possible, due à la diète hydrique mise en place entre $t = 10$ heures et $t = 24$ heures, peut expliquer la légère augmentation de la concentration plasmatique de la créatinine à $t = 24$ heures. Bien que la déshydratation ne peut pas être totalement exclue, ce phénomène a du être léger puisque : les animaux n'étaient pas cliniquement déshydratés, de l'eau leur a été régulièrement présentée jusqu'à $t = 10$ heures, l'hématocrite et la densité étaient dans l'intervalle de référence en début et en fin de période de collecte et leurs poids est resté constant.

La détermination de la clairance urinaire de la créatinine endogène et de l'inuline sont valable en recherche mais non réalisable d'un point de vue pratique en clientèle. Ces deux techniques nécessitent un matériel de laboratoire conséquent, requiert une précision dans la collecte des échantillons d'urine, et risque de provoquer des infections urinaires suite aux cathétersisations urétrales répétées. Ces différents aspects limitent toutes les procédures de clairances urinaires, notamment la clairance urinaire de l'inuline qui est considérée comme la méthode de référence pour la détermination du DFG. Un autre point critique apparaît dans les

clairances urinaires réalisées sur une période de 24 heures. La nécessité de rincer la cage afin de récolter la totalité du marqueur, ce qui est nécessaire à l'étude du métabolisme des différents principes actifs, peut être une source d'erreur. Ainsi un défaut de rinçage de la cage peut être à l'origine d'une sous-estimation d'environ 45% de la clairance urinaire.

Une alternative aux méthodes de clairance urinaire est la clairance plasmatique de marqueur. La technique de perfusion constante dépend d'un équilibre entre le débit d'excrétion du marqueur et le débit de la perfusion. Cette méthode est difficilement applicable chez les animaux. Une approche simple correspond à déterminer la clairance plasmatique d'un marqueur après l'injection IV d'un bolus. La clairance plasmatique du marqueur est alors égale à la clairance rénale si la clairance extrarénale est négligeable. Des marqueurs diverse et variés ont été utilisé pour ce type d'étude : l'inuline, des produits de contrastes (iohexol, iothalamate), des dérivés radiomarqués et la créatinine. Mais de nombreux marqueurs ont des limites dans leur utilisation : des volumes de sang assez importants (de 3 à 4 mL de plasma sont nécessaire pour doser l'iohexol par fluorescence des radiations), des difficultés à réaliser les dosages, des radiations, des équipements coûteux.

Dans cette étude la clairance plasmatique de l'inuline est légèrement supérieure aux autres valeurs de la clairance. Mais toutes les autres clairances ne présentent pas de différence significative avec la clairance urinaire de l'inuline qui est la méthode de référence pour la détermination du DFG. La différence entre les valeurs des clairances obtenues par les différentes méthodes testées et par la méthode de référence sont de :

- 0,4 mL/kg/minute pour la clairance urinaire de la créatinine endogène,
- identique pour la clairance plasmatique de la créatinine exogène,
- 0,2 mL/kg/minute pour la clairance plasmatique de l'iothalamate.

La clairance plasmatique de l'iothalamate est obtenue grâce à la détermination de l'AUC par la méthode des trapèzes. Cette approche mathématique correspond au modèle non-compartmental. Cette méthode d'estimation de l'AUC peut être une source de d'erreur, si le

nombre de prélèvement est inapproprié ou si le dernier prélèvement est réalisé trop précocément. Ainsi, dans l'étude de Miyamoto [94] une différence significative apparaît entre les valeurs de la clairance plasmatique de la créatinine et la clairance urinaire de l'inuline chez le chat sain. Cette différence a peut être pour origine une sous-estimation de l'AUC, et par conséquent une sur-estimation de la clairance plasmatique de la créatinine. La sous-estimation de l'AUC est probablement liée à une collecte de sang inappropriée (5 prélèvements de sang entre 30 et 240 minutes). Le dernier prélèvement de sang, réalisé 4 heures après l'administration de la créatinine, impose d'extrapoler environ 40% de l'AUC. La collecte de sang doit être adapté de façon à minimiser la partie de l'AUC qui va être extrapolée. Le dernier prélèvement de sang est donc essentiel puisque il détermine la part d'AUC qui va être extrapolée. Cette extrapolation ne doit pas dépasser les 20%.

Dans cette étude, l'utilisation de la méthode des trapèzes pour déterminer la clairance plasmatique de l'iothalamate, a nécessité une extrapolation de l'AUC. Mais il n'apparaît aucune différence significative avec les autres clairances. Les temps de collecte de sang semblent être adaptés, et l'extrapolation de l'AUC semble être convenable. Pour confirmer l'hypothèse que cette méthode de calcul de l'AUC est correcte, il faut comparer les résultats obtenus grâce à un modèle non-compartmental avec le modèle compartimental adapté à l'iothalamate. Cette comparaison nous permettrait de fixer le dernier prélèvement à effectuer. Si les résultats obtenus sont similaires, l'extrapolation n'aura pas influencé le résultat, et le modèle utilisé se rapprochera de la réalité.

La méthode consistant à déterminer la clairance plasmatique du marqueur après une injection IV d'un bolus, facilite la mise en place de ce protocole à l'aide de l'iothalamate. La quantité de plasma nécessaire à la réalisation du dosage est faible. Ce protocole impose néanmoins, tel qu'il est présenté ici, de nombreux prélèvements sanguins ce qui rend la manipulation difficilement réalisable en clientèle. La stratégie d'un nombre limité de prélèvements, permettrait d'estimer, de façon assez fiable, le DFG en réalisant que trois ou

quatre prélèvements sanguins. Le choix de ces prélèvements doit être judicieux. Ces prélèvements doivent être le plus représentatif de la courbe d'élimination du marqueur. Des prélèvements réalisés au mauvais moment vont avoir pour conséquence une sous-estimation ou une sur-estimation de l'AUC (jusqu'à 40% d'erreur). La clairance et le DFG seront alors erronés.

L'iothalamate est donc un bon indicateur du DFG chez le chien sain et une stratégie à nombre limité de prélèvements sanguins est envisageable. L'utilisation de la clairance plasmatique de l'iothalamate, pour déterminer le DFG de chiens insuffisants rénaux pourrait peut être donner de bons résultats. Une comparaison entre la clairance plasmatique de l'iothalamate chez des chiens malades, et les autres marqueurs est alors nécessaire. Cette comparaison pouvant, par exemple, être réalisée sur des chiens avant et après induction d'une insuffisance rénale dans un cadre expérimental, avant de le proposer pour une étude clinique.

Le point critique de l'utilisation de l'iothalamate est le dosage. Cette molécule nécessite un matériel et un protocole particulier (HPLC). Or ce dosage ne peut pas être réalisé en clientèle. Il existe, pour cela, des laboratoires spécialisés qui possèdent le matériel nécessaire. Actuellement le coût est important. Une généralisation et une utilisation plus courante de l'iothalamate diminuerait ces coûts. Mais le protocole permettant le dosage de cette molécule reste assez lourd et difficilement envisageable en clientèle.

En conclusion, la clairance plasmatique de l'iothalamate est un bon indicateur du DFG. Néanmoins, d'autres études sont indispensables avant de pouvoir recommander une telle approche en pratique vétérinaire courante, afin de valider cette approche chez l'insuffisant rénal, de proposer une stratégie limitée de prélèvement et une méthode de dosage moins onéreuse.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 **ANDERSON R.F., EDNEY A.T.B.** Protein intake and blood urea in the dog. *Vet. Record.*, 1969, **84** : 348-349.

- 2 **ANDERSON W.P., ALCORN D., BILCHRIST A.I., WHITING J.M., RYAN G.B.** Glomerular actions of ANG II during reduction of renal artery pressure : a morphometric analysis. *Am. J. Physiol.*, 1989 ; **256** : F1021-F1026.

- 3 **ARAKAWA K., SUZUKI H., NAITOH M., MATSUMOTO A., HAYASHI K., MATSUDA H., ACHIHARA A., KUBOTA E., SARUTA T.** Role of adenosine in the renal responses to contrast medium. *Kidney Int.*, 1996 ; **49** : 1199-1206.

- 4 **BÄCK S.E., KRUTZEN E., NILSSON-EHLE P.** Contrast media as markers for glomerular filtration : a pharmacokinetic comparison of four agents. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1988 ; **48** : 247-253.

- 5 **BAGGOT J.D.** Pharmacokinetics : disposition and fate of drugs in the body. in : *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 7th edition, ed. Adams H.R., Ames : Iowa University Press, 1995 ; Chapter 3 : 18-52.

- 6 **BAGGOT J.D., POWERS T.E., POWERS J.D., KOWALSKI J.J., KERR K.M.** Pharmacokinetics and dosage of oxytetracycline in dogs. *Res. Vet. Sci.*, 1977 ; **24** : 77-81.

- 7 **BANKS W.J.** Urinary system. in : *Applied veterinary histology*, 3rd edition, London : Mosby, 1993 ; Chapter 23 : 374-389.

- 8 **BERGLUND F.** Renal clearance of Inulin, Polyfructosan S and PEG 1000 in the rat. *Acta Physiol. Scand.*, 1965 ; **64** : 238-244.
- 9 **BERNE R.M., LEVY M.N.** Components of renal function. in : *Physiology*, 2nd edition, International student edition, St Louis : Mosby, 1988 ; Chapter 45 : 745-756.
- 10 **BERTHOUX C.** Contribution à l'étude des biopsies rénales chez les carnivores domestiques. 140p. Thèse : Méd. Vét. : Lyon : 1989.
- 11 **BETTMANN M.A.** Intravascular contrast agents. *Acta Radiologica*, 1996 ; **37** (400) :3-7.
- 12 **BIEWENGA W.J., VAN DEN BROM W.E.** Assessment of glomerular filtration rate in dogs with renal insufficiency : analysis of the ⁵¹Cr-EDTA clearance and its relation to the plasma concentrations of urea and creatinine. *Res. Vet. Sci.*, 1981 ; **30** : 158-160.
- 13 **BONNET J.M.** Adaptation d'une technique d'hémodialyse à l'espèce canine. *Rec. Méd. Vet.*, 1994, **170** : 797-809.
- 14 **BOURIN M., JOLLIET P., BALLEREAU F.** An overview of the clinical pharmacokinetics of X-Ray contrast media. *Clin. Pharmacokinet.*, 1997 ; **32**(3) : 180-193.
- 15 **BOVEE K.C.** Influence of dietary protein on renal function in dogs. *J. Nutr.*, 1991 ; **121** : S128-S139.
- 16 **BOVEE K.C., JOYCE T.** Clinical evaluation of glomerular function : 24h creatinine clearance in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1979 ; **174**(5) : 488-491.

- 17 **BOVEE K.C., KRONFELD D.S., RAMBERG C.** Long term measurement of renal function in partially nephrectomized dogs fed 56, 27 or 19% protein. *Invest Urol.*, 1979 ; **16** : 378-384.
- 18 **BRAUN J.-P., COTARD J.-P., DELVERDIER M., GUELFY J.-F., LEFEBVRE H., MEDAILLE C., PAGES J.-P., PECHEREAU D.** Exploration biologique des affections rénales du chien, ed PMCAC, 3^{ème} trim. 1996 : 65p.
- 19 **BRENNER B.M., MEYER T.W., HOSTETTER T.H.** Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease : the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. *N. Engl. J. Med.*, 1982 ; **307** : 652-659.
- 20 **BRICKER N.S.** On the meaning of the intact nephron hypothesis. *Am. J. Med.*, 1969 ; **46**, 1-11.
- 21 **BRÖCHNER-MORTENSEN J.** A simple method for determination of glomerular filtration rate. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1972 ; **30** : 271-274.
- 22 **BROWN S.A.** Evaluation of a single-injection method for estimating glomerular filtration rate in dogs with reduced renal function. *Am. J. Vet. Res.*, 1994 ; **55** : 1470-1473.
- 23 **BROWN S.A.** Primary diseases of glomeruli. in : *Canine and Feline Nephrology and Urology*. Lea & Febiger Book, III, Baltimore : Williams & Wilkins, 1995 ; Chapter 17 : 368-385.
- 24 **BROWN S.A., FINCO D.R., BOUDINOT F.D., WRIGHT J., TARVER S.L., COOPER T.** Evaluation of a single injection method, using iohexol, for estimating glomerular filtration rate in cats and dogs. *Am J. Vet. Res.*, 1996 ; **57** : 105-110.

- 25 **BROWN S.A., HABERMAN C., FINCO D.R.** Use of plasma clearance of inulin for estimating glomerular filtration rate in cats. *Am. J. Vet. Res.*, 1996 ; **57** : 1702-1705.
- 26 **BRYAN R.N., CENTENO R.S., HERSHOWITZ N., POELSTRA R.J., OSATO M.S.** Neurotoxicity of iohexol : a new nonionic contrast medium. *Radiology*, 1982 ; **145** : 379-382.
- 27 **BURKITT H.G., YOUNG B., HEATH J.W.** L'appareil urinaire. in : Histologie fonctionnelle Weather, édition, Paris : ed. Arnette, 1993 ; Chapter 16 : 282-303.
- 28 **CANNAUD B.** Insuffisance rénale chronique. Etiologie, physiopathologie, clinique, diagnostic, principes thérapeutiques. *Rev. Prat.*, 1992 ; **42** : 748-756
- 29 **CHEW D.J., DIBARTOLA S.P.** Diagnosis and pathophysiology of renal disease. in : Textbook of veterinary internal medicine. Vol 2, 3^{ème} édition, ed S.J. Ettinger. Philadelphia, W.B. Saunders. 1893-1900.
- 30 **COTARD J.P.** Explorations fonctionnelles dynamiques du rein. *Rec. Med. Vet.*, 1979 ; **155** : 311-314.
- 31 **DEGUCHI E., AKUZAWA M.** Renal clearance of endogenous creatinine, urea, sodium, and potassium in normal cats and cats with chronic renal failure. *J. Vet. Med. Sci.*, 1997 ; **59** : 509-512.
- 32 **DERAY G., JACOBS C.** Radiocontrast nephrotoxicity. *Invest. Radiol.*, 1995 ; **30** : 221-225.
- 33 **DERAY G., JACOBS C.** Renal tolerance of nonionic dimers. *Invest. Radiol.*, 1996 ; **31** : 372-377.

- 34 **DOMINGUEZ R., GOLDBLATT H., POMERENE E.** Kinetics of the elimination of substances injected intravenously (experiments with creatinine). *Am. J. of Physiol.*, 1935 ; **114** : 240-254.
- 35 **DONADIO C., LUCCHESI A., TRAMONTI G., BIANCHI C.** Creatine clearance predicted from body cell mass is a good indicator of renal function. *Kidney Int.*, 1997 ; **52** : S166-S168.
- 36 **DRU FRRESTER S., FAILLIN E.A., SAUNDERS G.K.** Prevention of cisplatin-induced nephrotoxicosis in dogs, using hypertonic saline solution as the vehicle of administration. *Am. J. Vet. Res.*, 1993, **54** : 2175-2178.
- 37 **DUFFEE N.E., BEVILL R.F., KORITZ G.D., SCHAEFFER D.J.** An experimental model for pharmacokinetic analysis in renal failure. *J. Pharmacokinet. Biopharma.*, 1990 ; **18** : 71-86.
- 38 **EFFERSOE H., ROSENKILDE P., GROTH S., JENSEN L.I., GOLMAN K.** Measurement of renal function with iohexol. A comparison of iohexol, ^{99m}Tc-DTPA, and ⁵¹Cr-EDTA clearance. *Invest. Radiol.*, 1990, **25** : 778-782.
- 39 **EVANS G.O.** Postprndial changes in canine plasma creatinine. *J. Small Anim. Pract.*, 1987, **28** : 311-315.
- 40 **EWALD B.H.** Renal function tests in normal beagle dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 1967 ; **28** : 741-749
- 41 **FALLON A., BOOTH R.F.G., BELL L.D.** The theory of HPLC. in : Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology : applications of HPLC in biochemistry. Chapter 2. 1987. Ed. R.H. BURDON, VAN KNIPPENBERG P.H. Amsterdam, New York, Oxford.

- 42 **FARNINGHAM D.A.** Comparison between the renal clearance of endogenous creatinine and inuline in the sheep. *Res. Vet. Sci.*, 1986 ; **41** : 410-411.
- 43 **FEENEY D.A., OSBORNE C.A., JESSEN C.R.** Effect of multiple excretory urograms on glomerular filtration rate of normal dogs : a preliminary report. *Am. J. Vet. Res.*, 1980 ; **41** : 960-963.
- 44 **FETTMAN M.J. ALLEN T.A. WILKE W.L. RADIN M.J. EUBANK M.C.** Single-injection method for evaluation of renal function with ¹⁴C-inulin and ³H-tetraethylammonium bromide in dogs and cats. *Am. J. Vet. Res.*, 1985 ; **46** : 482-485.
- 45 **FILIPPICH L.J., ENGLISH P.B., AINSCOW J.** Assessment of compensatory renal function and [¹²⁵I] iothalamate clearance in sheep. *Am. J. Vet. Res.*, 1985 ; **46** : 2311-2316.
- 46 **FINCO D.R.** Applied physiology of the kidney. in : *Canine and Feline Nephrology and Urology*. Lea & Febiger Book, III, Baltimore : Williams & Wilkins, 1995 ; Chapter 2 : 29-47.
- 47 **FINCO D.R.** Evaluation of renal functions. in : *Canine and Feline Nephrology and Urology*. Lea & Febiger Book, III, Baltimore : Williams & Wilkins, 1995 ; Chapter 10 : 216-229.
- 48 **FINCO D.R.** Simultaneous determination of phenolsulfonphtalein excretion and endogenous creatinine clearance in the normal dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1971 ; **159** : 336-340.
- 49 **FINCO D.R., BARSANTI J.A.** Mechanism of urinary excretion of creatinine by the cat. *Am. J. Vet. Res.*, 1982 ; **43** : 2207-2209.

- 50 **FINCO D.R., BROWN S.A., CROWELL W.A., BARSANTI J.A.** Exogenous creatinine clearance as a measure of glomerular filtration rate in dogs with reduced renal mass. *Am. J. Vet. Res.*, 1991 ; **52** : 1029-1032.
- 51 **FINCO D.R., BROWN S.A., VADEN S.L., FERGUSON D.C.** Relationship between plasma creatinine concentration and glomerular filtration rate in dogs. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 1995 ; **18**, 418-421.
- 52 **FINCO D.R., COULTER D.B., BARSANTI J.A.** Simple, accurate method for clinical estimation of GFR in the dog. *Am. J. Vet. Res.*, 1981 ; **42** : 1874-1877.
- 53 **FINCO D.R., DUNCAN J.R.** Evaluation of blood urea nitrogen and serum creatinine concentration as indicators of renal dysfunction : a study of 111 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1976 ; **168** : 593-601.
- 54 **FINCO D.R., GROVES C.** Mechanism of renal excretion of creatinine by the pony. *Am. J. Vet. Res.*, 1985 ; **46** : 1625-1628.
- 55 **FINCO D.R., TABARU H., BROWN S.A., BARSANTI J.A.** Endogenous creatinine clearance measurement of glomerular filtration rates in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 1993 ; **54** : 1575-1578.
- 56 **FRANCOIS B., ASSENAT H., CAHEN R., BIZOLLON Ch.** Le taux sérique de la β_2 -microglobuline est-il un meilleur marqueur de la filtration glomérulaire que la créatinine ? *Néphrologie*, 1982 ; **3** : 116-118.
- 57 **FRENNBY B., STERNER G., ALMEN T., HAGSTAM K.-E., HULTBERG B., JACOBSSON L.** The use of iohexol clearance to determine GFR in patients with severe chronic renal failure – a comparison between different clearance techniques. *Clinical Nephrology*, 1995 ; **43** : 35-46.

- 58 GALE M.E., ROBBINS A.H., HAMBURGER R.J., WIDRICH W.C.** Renal toxicity of contrast agents : iopamidol, iothalamate and diatrizoate. *A. J. R.*, 1984 ; **142** : 333-335.
- 59 GASPARI F., PERICO N., REMUZI G.** Measurement of glomerular filtration rate. *Kidney Int.*, 1997 ; **52**, Suppl 63 : S151-S154.
- 60 GHOUILA T.** La filtration glomérulaire et sa mesure. *Revue française des laboratoires*, octobre 1994 ; **268** : 24-28.
- 61 GLEADHILL A., MICHELL A.R.** Evaluation of iohexol as a marker for the clinical measurement of glomerular filtration rate in dogs. *Research in Veterinary Science*, 1996 ; **60** : 117-121.
- 62 GLEADHILL A., MICHELL A.R.** Diagnostic techniques in nephrology and urology. in : *Manual of canine and feline nephrology and urology*, ed Bainbridge & Elliot, 1996 ; Chapter 9 : 107-116.
- 63 GLEADHILL A., PETERS A.M., MICHELL A.R.** A simple method for measuring glomerular filtration rate in dogs. *Res. Vet. Sci.*, 1995 ; **59** : 118-123.
- 64 GRAUER G.F., LANE I.F.** Acute renal failure : ischemic and chemical nephrosis. in : *Canine and Feline Nephrology and Urology*. Lea & Febiger Book, III, Baltimore : Williams & Wilkins, 1995 ; Chapter 22 : 441-459.
- 65 GREENBERG J., SCHWARTZ I.L., SPINNER M.** Apparent volume of distribution of p-aminohippurate and creatinine in the dog. *Am. J. Physiol.*, 1952 ; **168**, 86-92
- 66 HALLER M., MÜLLER W., ESTELBERGER W., ARNOLD P.** Single-injection inulin clearance – a simple method for measuring glomerular filtration rate in dogs. *Res. Vet. Sci.*, 1998 ; **64**, 151-156.

- 67 **HELLER J., HORACEK V., HOLLYOVA J.** Comparison of inulin and creatinine clearance in dogs after unilateral nephrectomy. *Nephron*, 1980 ; **25** : 299-301.
- 68 **HEIENE R.** The use of iohexol to measure glomerular filtration rate in the dog. *The Veterinary Quarterly*, 1995 ; **17**, Supplement 1 : S36.
- 69 **HEINE R., MOE L.** Pharmacokinetic aspects of measurement of glomerular filtration rate in the dog : a review. *J. Vet. Intern. Med.*, 1998 ; **12** : 401-414.
- 70 **HOUCK C.R.** Statistical analysis of filtration rate and ERPF related to weight and surface area. *Am. J. Physiol.*, 1948 ; **153** : 169-175.
- 71 **IDEE J.-M., BONNEMAIN B.** Reliability of experimental models of iodinated contrast media-induced acute renal failure. *Invest. Radiol.*, 1996 ; **31** : 230-241.
- 72 **IHLE S.L., KOSTOLICH M.** Acute renal failure associated with contrast medium administration in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1991 ; **199** : 899-901.
- 73 **IXKES M.C.J., KOOPMAN M.G., VAN ACKER B.A.C., WEBER J.A., ARISZ L.** Cimetidine improves GFR-estimation by the Cockcroft and Gault formula. *Clin. Nephrology*, 1997 ; **47** : 229-236.
- 74 **JAYEWARDENE A.L., SENEVIRATNE A.K., GAMBERTOGLIO J.G.** Paired ion reversed-phase HPLC assay for the simultaneous determination of iothalamate acid and para aminohippuric acid in plasma. *J. Liquid Chromatography*, 1994 ; **17** : 2395-2412.
- 75 **JEAN G.** Illustrations cliniques de l'utilisation des épreuves fonctionnelles rénales. *Revue française des laboratoires*, 1994 ; **268** : 94-96.
- 76 **JOULIN D.** Les paramètres d'évaluation de la fonction rénale. Etude comparée. 126p. Thèse : Méd Vét : Créteil : 1989.

- 77 **KARLSEN S.J., SMEVIK B., BERG K.J.** Does the administration of systemic radiographic contrast media influence the acute changes in renal physiology following exposure to extracorporeal shock waves in dogs ? *J. Urol.*, 1993 ; **150** : 219-222.
- 78 **KATZBERG R.W.** Urography into the 21st century : new contrast media, renal handling, imaging characteristics, and nephrotoxicity. *Radiology*, 1997 ; **204** : 297-312.
- 79 **KLOPPER J.F., HAUSER W., ATKINS H.L.** Evaluation of ^{99m}Tc-DTPA for the measurement of glomerular filtration rate. *J. Nucl. Med.*, 1972 ; **13** : 107-110.
- 80 **KOLB E.** La physiologie des reins. in : *Physiologie des animaux domestiques.*, Vigot, Paris, 1965 : 503-538.
- 81 **KRAWIEC D.R., BADERSCHER R.R., TWARDOCK A.R., RABIN S.I.** Evaluation of ⁹⁹Tc DTPA nuclear imaging for quantitative determination of GFR of dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 1986 ; **47** : 2175-2179.
- 82 **LEE J.K.T., WARSHAUER D.M., BUSH W.H., Mc CLENNAN B.L., CHOYKE P.L.** Determination of serum creatinine level before intravenous administration of iodinated contrast medium : A survey. *Invest. Radiol.*, 1995 ; **30** : 700-705.
- 83 **LEFEBVRE H.-P., DOSSIN O., BRAUN J.-P., TOUTAIN P.-L.** Utilisation du médicament chez l'insuffisant rénal. *Point Vét.*, Paris, 1995 ; **26** : 1125-1132.
- 84 **LEFEBVRE H.-P., LAROUTE V., ALVINERIE M.** The effect of experimental renal failure on tolfenamic acid disposition in the dog. *Biopharm. Drug. Dispos.*, 1997 ; **18** : 79-81.

- 85 LEFEBVRE H.-P., LAROUTE V., CONCORDET D., TOUTAIN P.-L.** Effects of renal impairment on the disposition of orally administered enalapril, benazepril, and their active metabolites. *J. Vet. Intern. Med.*, 1999, **13** : 21-27.
- 86 LEFEBVRE H.-P., SCHNEIDER M., DUPOUY V.** Effect of experimental renal impairment on disposition of marbofloxacin and its metabolites in dogs. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 1998 ; **21** : 453-461.
- 87 LEVINSKY N.G., LEVY M.** Clearance techniques. in : Orloff J., Berliner B.W. (ed), Handbook of physiology Section 8 : Renal physiology, American Physiological Society, Washington, 1973 : 103-113.
- 88 LUNDQUVIST S., HIETALA S.-O., KARP K.** Experimental studies comparing iohexol and ⁵¹Cr-EDTA for glomerular filtration rate measurements. *Acta Radiol.*, 1995 ; **36** : 58-63.
- 89 LUNDQUVIST S., HIETALA S.-O., GROTH S., SJÖDIN J.-G.** Evaluation of single sample clearance calculations in 902 patients : a comparison of multiple and single sample techniques. *Acta Radiol.* 1997 ; **38** : 68-72.
- 90 MAKDASSI R., FOURNIER A.** Physiopathologie de l'insuffisance rénale aiguë. *Rev. Prat.*, 1987 ; **37** : 1819-1825.
- 91 MARTINEZ-MALDONADO M., BENABE J.E., CORDOVA H.R.** Chronic clinical intrinsic renal failure : physiology and pathophysiology. 2nd ed., *New York : Raven Press*, 1992 : 3227-3288.
- 92 MENHUSEN M.J., PARKER A.J.** Clinical observations of cardiovascular and respiratory changes during contrast myelography with water soluble media. 1975 ; **11** : 401-403.

- 93 **MERCER H.D., TESKE R.H., HELFERICH W.G., SHOWALTER D.H.** Use of the double-isotope single-injection method for estimating renal function in normal cross-bred swine. *Am. J. Vet. Res.*, 1979 ; **40** : 567-570.
- 94 **MIYAMOTO K.** Evaluation of single-injection method of inulin and creatinine as a renal function. Test in normal cats. *J. Vet. Med. Sci.*, 1998 ; **60**(3) : 327-332.
- 95 **MOE L., HEIENE R.** Estimation of glomerular filtration rate in dogs with ^{99m}Tc-DTPA and iohexol. *Res. Vet. Sci.*, 1995 ; **58** :138-143.
- 96 **MORCOS S.K.** Contrast media-induced nephrotoxicity : questions and answers. *The British J. of Radiol.*, 1998 ; **71** :357-365.
- 97 **MORCOS S.K., EL NAHAS A.M.** Advances in the understanding of the nephrotoxicity of radiocontrast media. *Nephron*, 1998 ; **78** : 249-252.
- 98 **MORIN J.P., BOUTELET I., TOUTAIN H., FILLASTRE J.P.** Pharmacocinétique et accumulation rénale comparatives de trois produits de contrastes iodés : l'acide ioxitalamique, l'acide ioxaglique et l'iohexol chez le lapin. *Path. Biol.*, 1987 ; **35**, 1215-1220.
- 99 **NAVAR L.G., BELL P.D., WHITE R.W.** Evaluation of the single nephron glomerular filtration in the dog. *Kidney Int.*, 1977 ; **12** : 137-149.
- 100 **NYGREN A., ULFENDAHL H.R.** Effects of high and low osmolar contrast media on renal flow and glomerular filtration rate in euvoalaemic and dehydrated rats. *Acta Radiol.*, 1989 ; **30** : 383-389.
- 101 **OHASHI F., KURODA K., SHIMADA T., SHIMADA Y., OTA M.** The iothalamate clearance in cats with experimentally induced renal failure. *J. Vet. Med. Sci.*, 1996 ; **58** : 803-804.

- 102 OLSEN N.V., LADEFOGED S.D., FELDT-RASMUSSEN B., FOGH-ANDERSEN N., JORDENING H., MUNCK O.** The effects of cimetidine on creatinine excretion, glomerular filtration rate and tubular function in renal transplant recipients. *Scan. J. Clin. Lab. Invest.*, 1989 ; **49** : 155-159.
- 103 OSBORNE C.A.** Glomerulo-nephropathy and the nephrotic syndrome. in : Kirk RW ed. Current veterinary therapy. VI. *Small animal practice Philadelphia : W.B. Saunders Company*, 1997 : 1117-1129
- 104 OSBORNE C.A., FLETCHER T.F.,** Applied anatomy of the urinary system with clinicopathologic correlation. in : Canine and Feline Nephrology and Urology. Lea & Febiger Book, III, Baltimore : Williams & Wilkins, 1995 ; Chapter 1 : 3-28.
- 105 PAVAUX CI.** Splanchnologie des animaux domestiques. Fascicule II. Appareil urogénital. Document pédagogique. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 1997.
- 106 POLZIN D.J., LEININGER J.L., OSBORNE C.A.** Chronic, progressive renal failure : can progression be modified ? in : Michell AR ed. Renal disease in dogs and cats. Comparative and clinical aspects. *Oxford : Blackwell Scientific Publications*, 1988 : 129-144.
- 107 POLZIN D.J., OSBORNE C.A.** Pathophysiology of renal failure and uremia. in : Canine and Feline Nephrology and Urology. Lea & Febiger Book, III, Baltimore : Williams & Wilkins, 1995 ; Chapter 16 : 335-365.
- 108 POLZIN D.J., OSBORNE C.A., JACOB F., ROSS S.** Chronic renal failure. in : Textbook of veterinary internal medicine, Chapter 169, Vol 2, 5^{ème} edition. Ed S.J. Ettinger. Philadelphia, W.B. Saunders.

- 109 POWERS T.E., POWERS J.D., GARG R.C.** Study of the double isotope single-injection method for estimating renal function in purebred beagle dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 1977 ; **38** : 1933-1936.
- 110 PRUEKSARITANONT T., LUI C.Y., LEE M.G., CHIOU W.L.** Renal and non-renal clearances of iothalamate. *Biopharmaceutics & drug disposition*, 1986 ; **7** : 347-355.
- 111 REECE W.O.** The kidneys in : Duke's physiology of domestic animals, 11th edition. Swenson M.J.–Reece W.O. editors, Chapter 31 :573-603.
- 112 REECE W.O.** The kidneys in : Physiology of domestic animals, 2nd edition, Ed. Williams et Wilkins. Chapter 9 :232-261.
- 113 ROBINSON T., HARBISON M., BOVEE K.C.** Influence of reduced renal mass on tubular secretion of creatinine in the dog. *Am. J. Vet. Res.*, 1974 ; **35** : 487-491.
- 114 ROGERS K.S., KOMKOV A., BROWN S.A., LEES G.E., HIGHTOWER D., RUSSO E.A.** Comparison of four methods of estimating glomerular filtration rate in cats. *Am. J. Vet. Res.*, 1991 ; **52** : 961-964.
- 115 ROSONALD R.B., BOMBARDT P.A., DUCHARME D.W., KOLAJA G.J., PACKWOOD W.H., BOTHWELL B.E. SATOH P.S.** A non-radioactive iothalamate and p-aminohippuric acid high-performance liquid chromatographic method for simultaneously measuring glomerular filtration rate and renal blood flow in the rat. *Biomed. Chromatogr.*, 1994, **8** : 224-229.
- 116 ROISOVSKY M.A., RUSINEK H., BERENSTEIN A., BASAK S., SETTON A., NELSON P.K.** High-dose administration of nonionic contrast media : a retrospective review. *Radiology*, 1996 ; **200** : 119-122.

- 117 **ROSS M.H., ROMRELL L.J., KAYEG.I.** Urinary system in : Histologie 3rd edition A text and atlas, ed International edition, Chapter 19 : 558-583.
- 118 **RUBERTE J., SAUTET J.** Atlas d'anatomie du Chien et du Chat. Volume 3. Abdomen, Bassin et Membre pelvien. ed. Multimédica, Barcelone, Espagne ; 1998.
- 119 **RUCKEBUSH Y., PHANEUF L.-P., DUNLOP R.** The urinary system in : Physiology of small and large animals, ed. Decker. Chapter 15 : 145-151.
- 120 **SHAH V.P., MIDHA K.K., DIGHE S.** Analytical methods validation : bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetics studies. *Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokin*, 1991 ; **16** : 249-255.
- 121 **SPRING D.B., BETTMANN M.A., BARKAN H.E.** Nonfatal adverse reactions to iodinated contrast media : spontaneous reporting to the U.S. food and drug administration, 1978-1994. *Radiology*, 1997 ; **204** : 325-332.
- 122 **SPRING D.B., BETTMANN M.A., BARKAN H.E.** Deaths related to iodinated contrast media reported spontaneously to the U.S. food and drug administration, 1978-1994 : effect of the availability of low-osmolality contrast media. *Radiology*, 1997 ; **204** :333-337.
- 123 **STAKE G., MONCLAIR T.** A single plasma sample method for estimation of the glomerular filtration rate in infants and children using iohexol, I : establishment of body weight-related formula for the distribution volume of iohexol. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1991 ; **51** : 335-342.
- 124 **STAKE G., MONN E., ROOTWELT K., MONCLAIR T.** A single plasma sample method for estimation of the glomerular filtration rate in infants and children using iohexol, II : establishment of the optimal plasma sampling time and a comparison with the ⁹⁹Tc^m-DTPA method. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1991 ; **51** : 343-348.

- 125 STAKE G., MONN E., ROOTWELT K., MONCLAIR T.** The clearance of iohexol as a measure of the glomerular filtration rate in children with chronic renal failure. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1991 ; **51** : 729-734.
- 126 STEVENS A., LOWE J.** L'appareil urinaire in : Histologie. Ed Pradet, Chapitre 16 : 271-299
- 127 SUMMERVILLE D.A., TREVES S.T.** Single plasma technique of glomerular filtration rate measurement. *J. Nucl. Med. Allied Sci.*, 1986 ; **30** : 177-184.
- 128 SVARSTAD E., IVERSEN B.M., OFSTAD J.** Extended measurement of glomerular filtration rate and effective renal plasma flow in ambulatory patients. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 1995 ; **29** : 375-382.
- 129 THOMSEN H.S., BUSH JR W.H.** Treatment of the adverse effects of contrast media. *Acta Radiol.*, 1998 ; **39** : 212-128.
- 130 VADSTRUP S., BOJSEN J.** The glomerular filtration rate in unrestrained rabbits determined by means of an implanted telemetrical device. *Acta Physiol. Scand.*, 1983 ; **117** : 177-182.
- 131 VAN DEN BROM W.E., BIEWENGA W.J.** Assessment of glomerular filtration rate in normal dogs analysis of the ⁵¹Cr-EDTA clearance and its relation to several endogenous parameters of glomerular filtration. *Res. Vet. Sci.*, 1981 ; **30** : 152-157.
- 132 VOGIN E.E., SKEGGS H.R., BOKELMAN D.L.** Liver function : postprandial urea nitrogen elevation and indocyanine green clearance in the dog. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1967, **10** : 577-585.
- 133 WATSON A.D., CHURCH D.B.** Postprandial increase in plasma creatinine concentration in dog fed cooked meat. *Austr. Vet. J.*, 1980, **56** : 463.

- 134 WATSON A.D., CHURCH D.B., FAIBURN A.J.** Postprandial changes in plasma urea and creatinine concentration. *Am. J. Vet. Res.*, 1981 ; **42** : 1878-1881.
- 135 WATSON A.D., LEFEBVRE H.-P., CONCORDET D., LAROUTE V., FERRE J.-P., BRAUN J.-P., CONCHOU F., TOUTAIN P.-L.** Plasma exogenous creatinine clearance test in dogs : comparison with other methods and proposed limited sampling strategy. 16th annual ACVIM Forum in San Diego, CA, May 22-25, 1998.
- 136 WIDMER W.R., BLEVINS W.E.** Veterinary myelography : a review of contrast media, adverse effects, and technique. *J. Am. Animal Hos. Assoc.*, 1991 ; **27** : 163-177.
- 137 ZIETSE R., BLANKESTIJN P.J., POS B., BALK A.H.M.M., DERKX F.H.M., WEIMAR W., SCHALEKAMP M.A.D.H.** Optimising glomerular filtration rate and effective renal plasma flow measurements using a simple pharmacokinetic model. *Clinical nephrology*, 1995 ; **43** : 29-34.

SOMMAIRE

LISTE DES ILLUSTRATIONS	1
LISTE DES TABLEAUX	2
LISTE DES ABBREVIATIONS	3
PLAN	5
INTRODUCTION	9
<u>1^{ère} PARTIE : La filtration glomérulaire.</u>	11
<u>I. ANATOMIE</u>	12
<u>I-1 Caractères macroscopiques et morphologiques</u>	12
<u>I-2 Unité fonctionnelle : le néphron</u>	15
<u>I-2.1 Le corpuscule rénal</u>	15
<u>I-2.2 Les tubes corticaux et médullaires</u>	15
I-2.2.1 Le tube contourné proximal	15
I-2.2.2 L'anse de Henlé	15
I-2.2.3 Le tube contourné distal	17
<u>I-2.3 L'appareil juxtaglomérulaire</u>	17
<u>I-3 La vascularisation rénale</u>	17
<u>II. HISTOLOGIE DU GLOMERULE</u>	18
<u>II-1 Vascularisation glomérulaire</u>	18
<u>II-2 Le filtre glomérulaire</u>	18
<u>II-3 Les cellules mésangiales</u>	21
<u>III. PHYSIOLOGIE DE LA FILTRATION</u>	22
<u>III-1 Filtration glomérulaire</u>	22

<u>III-2 Réabsorption et sécrétion tubulaire</u>	25
<u>IV. VARIATIONS DE LA FILTRATION</u>	26
<u>IV-1 Facteurs de variations physiologiques</u>	26
<u>IV-1.1 Généralités</u>	26
<u>IV-1.2 Mécanismes d'auto-régulation</u>	27
<u>IV-1.2.1 Mécanismes myogéniques</u>	27
<u>IV-1.2.2 L'appareil juxtaglomérulaire</u>	27
<u>IV-2 Facteurs de variations pathologiques</u>	28
<u>IV-2.1 Variations du débit sanguin rénal</u>	28
<u>IV-2.2 Variations fonctionnelles</u>	29
<u>IV-2.3 Variations liées à l'écoulement de l'urine</u>	29
<u>IV-3 Facteurs de variations pharmacologiques</u>	29
<u>IV-3.1 Les agents néphrotoxiques</u>	29
<u>IV-3.2 Les diurétiques</u>	30
<u>IV-4 L'hypothèse du néphron intact</u>	30
<u>2^{ème} PARTIE: Mesures du débit de filtration glomérulaire.</u>	31
<u>I. MESURES INDIRECTES</u>	32
<u>I-1 La créatinine</u>	33
<u>I-2 L'urée</u>	33
<u>II. MEURES DIRECTES</u>	35
<u>II-1 Notion de clairance</u>	35
<u>II-1.1 Définition</u>	35
<u>II-1.2 Etude de la clairance rénale</u>	36
<u>II-1.2.1 Clairance de filtration</u>	36
<u>II-1.2.2 Clairance de sécrétion</u>	37
<u>II-1.2.3 Clairance de réabsorption</u>	37
<u>II-1.3 Calcul du DFG</u>	38

<u>II-2 Principes des mesures directes</u>	39
<u>II-2.1 Généralités</u>	39
<u>II-2.2 Etude de la clairance urinaire</u>	40
<u>II-2.2.1 Principe</u>	40
<u>II-2.2.2 Réalisation pratique</u>	43
<u>II-2.2.3 Valeurs obtenues</u>	43
<u>II-2.3 Etude de la clairance plasmatique</u>	45
<u>II-2.3.1 Principe</u>	45
<u>II-2.3.2 Modèles mathématiques</u>	47
<u><i>II-2.3.2.a Modèle monocompartmental</i></u>	47
<u><i>II-2.3.2.b Modèles compartimentaux</i></u>	47
<u><i>II-2.3.2.c Modèle non-compartmental</i></u>	49
<u>II-2.3.3 Réalisation pratique</u>	49
<u>II-2.3.4 Valeurs obtenues</u>	50
<u>II-3 Marqueurs utilisés</u>	53
<u>II-3.1 L'inuline</u>	55
<u>II-3.1.1 Caractères généraux de l'inuline</u>	55
<u>II-3.1.2 Les dérivés radiomarqués de l'inuline</u>	55
<u>II-3.2 La créatinine</u>	56
<u>II-3.2.1 Caractères généraux de la créatinine</u>	56
<u>II-3.2.2 La créatinine endogène</u>	57
<u><i>II-3.2.2.a Protocole</i></u>	57
<u><i>II-3.2.2.b Valeurs obtenues</i></u>	58
<u>II-3.2.3 La créatinine exogène</u>	58
<u><i>II-3.2.3.a Protocole</i></u>	58
<u><i>II-3.2.3.b Valeurs obtenues</i></u>	60
<u>II-3.3 Autres marqueurs</u>	62
<u>II-3.3.1 Le sulfanilate de sodium</u>	62
<u>II-3.3.2 Les molécules chélatrices</u>	62
<u>II-3.3.3 Les produits de contrastes</u>	63
<u><i>II-3.3.3.a Généralités</i></u>	63
<u><i>II-3.3.3.b Réalisation pratique</i></u>	64

<u>3^{ème} PARTIE : Etude bibliographique : l'iothalamate.</u>	67
<u>I. DESCRIPTION DE LA MOLECULE</u>	68
<u>I-1 Formule</u>	68
<u>I-2 Caractéristiques physico-chimiques</u>	68
<u>II. METHODE DE DOSAGE</u>	71
<u>III. PHARMACOCINETIQUE DE L'IOTHALAMATE</u>	73
<u>III-1 Absorption</u>	73
<u>III-2 Distribution</u>	73
<u>III-3 Métabolisme</u>	74
<u>III-4 Elimination</u>	74
<u>IV. TOXICITE</u>	75
<u>IV-1 Mécanismes d'action</u>	75
<u>IV-2 Prévention</u>	76
<u>V. UTILISATION POUR LA MESURE DU DFG</u>	77
<u>4^{ème} PARTIE : Etude expérimentale.</u>	81
<u>I. MATERIELS ET METHODES</u>	82
<u>I-1 Les chiens</u>	82
<u>I-2 Description de l'expérience</u>	82
<u>I-3 Substances utilisées et administrations</u>	83
<u>I-4 Collections d'urine et prélèvements de sang</u>	84
<u>I-5 Dosages</u>	84

<u>I-6 Analyses pharmacocinétiques</u>	85
<u>I-7 Analyses statistiques</u>	86
<u>II. RESULTATS</u>	87
<u>II-1 Clairance urinaire de la créatinine endogène</u>	87
<u>II-2 Clairance plasmatique de la créatinine exogène</u>	87
<u>II-3 Clairance de l'inuline</u>	89
<u>II-4 Clairance de l'iothalamate</u>	89
<u>II-3 Comparaison entre les valeurs obtenues</u>	89
<u>III. DISCUSSION ET CONCLUSION</u>	90
BIBLIOGRAPHIE	95
SOMMAIRE	112

Toulouse, 2002

NOM : MOUROU

PRENOM : Matthieu

TITRE : **Utilisation de la clairance plasmatique de l'iothalamate pour la détermination du débit de filtration glomérulaire chez le chien : comparaison avec les autres méthodes.**

RESUME :

Le diagnostic de l'insuffisance rénale chronique (IRC) est souvent tardif et de pronostic mauvais. Les manifestations cliniques apparaissent lorsque 75% des reins sont lésés. Une exploration fonctionnelle rénale précoce est donc primordiale. Le débit de filtration glomérulaire (DFG) est la variable physiologique d'intérêt pour évaluer la fonction rénale.

Après une étude des principales caractéristiques histologiques et physiologiques de la fonction rénale (et plus précisément de la filtration glomérulaire), l'auteur développe les différentes méthodes de mesures du DFG. Le principe de clairance étant le plus adapté à la détermination du DFG, les techniques de réalisation de clairances plasmatiques et urinaires sont abordées dans le détail.

Dans ce travail, l'iothalamate, un produit de contraste, est proposé afin de déterminer le DFG chez le chien. Après un récapitulatif des différentes propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques de cette molécule, la clairance plasmatique de l'iothalamate est comparée aux clairances urinaires et plasmatiques des marqueurs plus conventionnels (inuline, créatinine).

Les différents résultats obtenus confirment que la clairance plasmatique de l'iothalamate est un bon indicateur du DFG chez le chien sain.

MOTS-CLES : **DFG –CLAIRANCE PLASMATIQUE – IOTHALAMATE - CHIEN**

ENGLISH TITLE : **Use of plasma clearance of iothalamate for assessment of glomerular filtration rate in the dog : comparison with other methods.**

ABSTRACT :

Diagnostic of chronic renal failure (CRF) is often late and with bad prognosis. Clinical signs appear when 75% of kidneys are injured. For this reason, assessment of renal function is required. Glomerular filtration rate (GFR) is a relevant physiological variable to estimate renal function.

Renal histology and physiology are reviewed in a first part. Different technics for GFR measurement are then presented. Methods of determination of plasma and urine clearances are discussed in details.

Iothalamate, a contrast media, is proposed here to determine GFR in the healthy dog. The main physicochemical and pharmacokinetic properties of this molecule are first given, the plasma clearance of iothalamate is then experimentally compared to urinary and plasma clearances of usual markers (inulin, creatinine).

The results confirm that plasma clearance of iothalamate is a good indicator of GFR in the healthy dog.

KEY WORDS : **GFR – PLASMA CLEARANCE – IOTHALAMATE - DOG**