



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Fordypningsoppgave 2024

NMBU Veterinærhøgskolen

Institutt for sports- og familiedyrmedisin

Seksjon for smådyrsykdommer

Proteinuri hos hunder med epileptiforme anfall

Proteinuria in dogs with epileptic seizures

Louisa Jane Berntsen og Aurora Hopen

Innholdsfortegnelse

Forord.....	3
Sammendrag.....	3
Definisjoner og forkortelser	4
Innledning	6
Formål	18
Materiale og metode.....	19
Studiedesign	19
Materiale	19
Metode.....	21
Resultater.....	23
Diskusjon.....	36
Feilkilder	42
Konklusjon	46
Takk til bidragsytere.....	46
Summary	46
Referanser	48

Forord

Epilepsi er en av de vanligste kroniske lidelsene i nervesystemet hos hund. Det anslås at 0,6-0,75% av den generelle hundepopulasjonen har eller kommer til å få diagnosen i løpet av livet (Volk, 2015). Selv er vi begge pårørende til både hunder og mennesker som lever med epilepsi. Epilepsi kan være en krevende og vanskelig sykdom å håndtere både for eier og for hunden selv. Gjennom denne oppgaven ønsker vi å øke kunnskapen rundt epilepsi i håp om at dette i fremtiden gir bedre grunnlag for behandling og håndtering av sykdommen. Det er interessant å se på hva som skjer i kroppen under og i etterkant av et epileptiformt krampeanfall. Ytterligere informasjon om dette temaet kan gi et bedre grunnlag til klinikere som behandler pasienter med epilepsi i praksis.

Sammendrag

Tittel: Proteinuri hos hunder med epileptiforme anfall

Forfattere: Louisa Jane Berntsen og Aurora Hopen

Veileder: Heidi Sjetne Lund og Josefin Hultman, Institutt for sports- og familiedyrmedisin

Epilepsi er en av de vanligste nevrologiske sykdommene hos hund. Det er i dag flere klinikere som observerer en proteinuri hos pasienter med epilepsi i etterkant av et krampeanfall, men det finnes lite forskning på dette området som kan underbygge årsakssammenhengen. Målet med dette forskningsprosjektet var å undersøke en potensiell sammenheng mellom epileptiske krampeanfall og etterfølgende økning av proteiner i urinen, og i hvor stor grad dette forekommer.

I denne tverrsnittstudien ble det samlet inn spontankastet urinprøver fra hunder med historikk med epileptiske krampeanfall som kom inn på Norges Miljø- og Biovitenskapelige Universitet Dyresykehuset smådyr. I løpet av året 2023 ble det samlet inn 39 urinprøver. Av disse møtte 23 urinprøver fra totalt 19 hunder inklusjonskriteriene. Det ble innledningsvis utført urinalyser som makroskopisk/fysisk vurdering, kjemisk analyse og automatisk sedimentanalyse, etterfulgt av innsendelse til Sentrallaboratoriet for beregning av urin protein kreatinin ratio.

Majoriteten av urinprøvene fra studien var non-proteinuriske, 9 urinprøver var borderline proteinuriske og 3 urinprøver var proteinuriske. Alle de proteinuriske prøvene var samlet inn 1-5 dager etter epileptiformt krampeanfall. Informasjonen denne studien gir om proteinuri etter epileptiforme krampeanfall må vurderes kritisk grunnet et lavt prøveantall (23) samt kun enkeltprøver fra de fleste individene inkludert i studien.

Definisjoner og forkortelser

UPC ratio (UPC)	Urin protein kreatinin ratio. Et kvantitativt mål på grad av proteinuri. Forteller hvor mye protein som skilles ut i urin for hver mmol kreatinin (Grauer, 2022b).
Epilepsi	Nevrologisk sykdom i hjernen som er karakterisert av en varig predisposisjon for å generere epileptiske anfall (Berendt et al., 2015).
Idiopatisk epilepsi	Epilepsi hvor det ikke er mistanke om strukturelle patologiske forandringer i cerebrum. Genetisk nedarving kan være en faktor (Berendt et al., 2015).

Strukturell epilepsi	Epileptiske anfall som er fremprovosert av intracranial/cerebral patologi (Berendt et al., 2015).
Reaktiv epilepsi	Epileptiske anfall som følge av en naturlig respons (fra normal hjerne) til en forbigående funksjonell forstyrrelse (metabolsk eller toksisk), og er reversibel når årsaken detekteres og rettes opp (Berendt et al., 2015).
Klusteranfall	To eller flere epilepsianfall innen en 24-timers periode (Berendt et al., 2015)
Status epilepticus	Kontinuerlig epilepsianfall med en varighet på over 5 minutter, eller to eller flere epileptiske anfall hvor dyret ikke rekker å nå bevisstheten mellom dem (Berendt et al., 2015).
Krampeterskel	Mengden stimuli som må til for å utløse et epileptisk anfall (Veliskova, 2006).
Proteinuri	Tilstedeværelse av protein i urin utover det som forventes hos friske individer (Lees et al., 2005).
Hematuri	Medisinsk betegnelse på blod i urinen (<i>Blod i urinen</i> , 2023) <i>Makroskopisk hematuri:</i> blod i urinen der det er mulig å se med det blotte øye (<i>Blod i urinen</i> , 2023). <i>Mikroskopisk hematuri:</i> blod i urinen som ikke kan ses med det blotte øye (<i>Blod i urinen</i> , 2023).
Glomerulus	Kapillærnøste i nyrebarken hvor blod filtreres. Væskeandelen og små molekyler i blod filtreres over til nyretubuli, mens celler og de fleste proteiner holdes tilbake i blodkaret (Sjaastad, Sand & Hove, 2016a).

Glomerulær filtrasjonsrate (GFR)	Et mål på nyrenes filtrasjonsevne. Angir volum av blodplasma som filtreres over glomeruli per minutt (Sjaastad, Sand & Hove, 2016b).
Spontanurin	Pasienten har selv urinert i bekken eller skål.
Cystocentese	Urinprøve som tas med kanyle og sprøyte direkte fra blæren.
Sedimentanalyse (maskinell)	Urin sediment analysator. Gir informasjon om celler (RBC, WBC, plateepitelceller, ikke-plateepitel celler), bakterier (staver og kokker) og krystaller.
Kjemisk urinanalyse	Benyttes engangs strips for måling av flere ulike parametre i urin: leukocytter, proteiner, glukose, ketoner, urobilinogen, bilirubin, blod/hemoglobin og pH.
MR	Magnetisk resonans. Radiologisk bildediagnostikk metode som fremstiller detaljerte bilder av kroppens organer ved hjelp av kraftige magnetiske krefter og lav energi radiobølger (Arne Borthne).

Innledning

Epilepsi er en av de vanligste kroniske lidelsene i sentralnervesystemet hos hund (Volk, 2015). Det må gjennomføres multiple tester på pasienter med krampeanfall før diagnosen idiopatisk epilepsi kan settes. Som del av en minimumdatabase i utredningen av disse pasientene gjennomføres som regel en standard urinanalyse. Det observeres i endel tilfeller proteinuri hos denne pasientgruppen, uten at man vet om dette oppstår på grunn av anfallene, om det kun er et tilfeldig funn, eller kommer av en annen sykdom.

Epilepsi er en nevrologisk sykdom som karakteriseres av uprovoserte episodiske krampeanfall, som arter seg på ulikt vis og kan ha ulik årsakssammenheng (De Risio et al., 2015). Dette er en av de vanligste nevrologiske sykdommene som forekommer hos kjæledyr (De Risio et al., 2015). Internal Veterinary Epilepsy Task Force har utarbeidet en konsensus som presenterer en prevalens av epilepsi på 0,6-0,75% i den generelle hundepopulasjonen (Berendt et al., 2015; Heske et al., 2014; Kearsley-Fleet et al., 2013). Dette indikerer at hver 130 hund som presenterer hos en smådyrklinikk, har eller vil utvikle epilepsi (Berendt et al., 2015). Epileptiske krampeanfall oppstår som følge av en unormal overdreven og synkron aktivitet i nervecellene i storhjernen (Fisher et al., 2005). Denne aktiviteten er som regel selvbegrensende (Fisher et al., 2005). Utløsningen av epileptiske anfall kommer av senket krampeterskel i hjernen, eller en lesjon i storhjernen med hyperaktive nerveceller (Irmen, Wehner & Lemieux, 2015). Diagnosen epilepsi kan settes dersom et individ har gjennomgått to eller flere slike anfall med mer enn 24 timers mellomrom (Fisher et al., 2014).

Epileptiske anfall inndeles etter årsak; idiopatisk, strukturell og reaktiv (De Risio et al., 2015). Ved idiopatisk epilepsi er årsakssammenhengen ukjent, og dette er en utelukkelsesdiagnose (De Risio et al., 2015). Individene har nedsatt krampeterskel, og er derfor mer sannsynlig til å generere epileptiske anfall (Irmen, Wehner & Lemieux, 2015). Pasientene med denne typen epilepsi har som regel ingen signifikante avvik som forklarer anfallene på hverken nevrologisk undersøkelse, blodprøve eller urinprøve (De Risio et al., 2015). Diagnosen settes derfor basert på alder for sykdomsdebut (6mnd-6år), sykdomshistorikk og etter å ha utelukket andre årsaker til epileptiske anfall. Idiopatisk epilepsi er den vanligste typen epilepsi, og rammer omtrent 53,8% av hunder med gjentatte epileptiske anfall (Hall et al., 2020).

Sykdommen kan klassifiseres videre i 3 undergrupper basert på mulig arvelig faktor; bevist genetisk bakgrunn, mistenkt genetisk bakgrunn og ukjent bakgrunn (Berendt et al., 2015).

Dersom man identifiserer eller kjenner til at dyret har en genetisk defekt som er koblet til

utviklingen av idiopatisk epilepsi klassifiseres det som genetisk idiopatisk epilepsi (Berendt et al., 2015). Idiopatisk epilepsi med mistanke om genetisk bakgrunn gjelder for eksempel enkelte raser der man observerer en høy prevalens (>2%) av sykdommen, eller ved familiær akkumulering av kasus (Berendt et al., 2015). Når årsakssammenhengen er uklar, og det ikke er indikasjon for strukturell epilepsi benyttes begrepet idiopatisk epilepsi av ukjent årsak (Berendt et al., 2015).

Ved strukturell epilepsi er det patologi i storhjernen som er årsak til epileptiske anfall. Slike patologiske forandringer kan komme av neoplasi, encefalitt, anomalier eller traume for å nevne noen (Berendt et al., 2015). Ofte er det mulig å finne avvik på blant annet nevrologisk undersøkelse, MR eller ved analyse av cerebrospinal væske hos slike pasienter (De Risio et al., 2015). I noen tilfeller vil man identifisere unilaterale avvik ved undersøkelse hos hunder med lateralisert patologi i storhjernen (De Risio et al., 2015).

Ved reaktiv epilepsi er det i hovedsak ikke en primærlesjon i storhjernen som gir anfall, men andre tilstander i kroppen som fører til epileptisk anfall (De Risio et al., 2015). Metabolsk og toksisk sykdom som hypoglykemi, elektrolyttforstyrrelser, hepatoencefalopati og etylenglykolforgiftning kan gi senket krampeterskel, og dermed reaktive epileptiske anfall (De Risio et al., 2015). En blodprøve i tillegg til sykdomshistorikken kan gi en indikasjon på om krampeanfallet er reaktivt (De Risio et al., 2015). Toksiske sykdommer kjennetegnes typisk ved en akutt presentasjon (<24 t) av nevrologiske symptomer, og skiller seg på denne måten fra andre årsaker til epileptiske anfall (De Risio et al., 2015). Metabolske forstyrrelser varierer i måten de presenterer på, og sykdomsbilde kan arte seg som alt fra akutt til kronisk (De Risio et al., 2015). Ifølge en studie som undersøkte årsakene til reaktivt epilepsianfall hos 96 hunder ble det konkludert med at intoksikasjoner var den vanligste årsaken (39%), og hypoglykemi nevnes deretter (32%) (Brauer, Jambroszyk & Tipold, 2011). Blant elektrolyttforstyrrelsene var hypokalsemi mest forekommen (5%), der samtlige hadde en

konsentrasjon av ionisert kalsium ≤ 0.69 mmol/L (referanseverdi hund: 1.18-1.37 mmol/L (Brauer, Jambroszyk & Tipold, 2011). Reaktive anfall kan oppstå som en enkelthendelse eller vedvare over tid dersom årsaken til anfallene ikke fjernes (Berendt et al., 2015).

Epileptiske anfall kan ha ulik karakter, og hyppigheten på anfallene varierer mellom individene. Klusteranfall er et begrep som benyttes dersom dyret har 2 eller flere epileptiske anfall i løpet av ett døgn (Berendt et al., 2015). Klusteranfall er relativt vanlig hos hunder, og har en prevalens på 38-77% hos hunder med idiopatisk epilepsi (Tastensen et al., 2024).

Status epileptikus defineres som epileptiske anfall med en varighet på over 5 minutter (Berendt et al., 2015). Krampeanfall som varer i mer enn 30 minutter gir risiko for vedvarende skader på hjernevev, og det er viktig at slike krampeanfall avbrytes (Charalambous et al., 2024). Både klusteranfall og status epileptikus gir en større påkjenning på kroppen, og er mer krevende å behandle. I begge overnevnte tilfeller er det en risiko for hjerneskade og videre komplikasjoner som følge av hyppige og/eller langvarige epileptiske anfall (Charalambous et al., 2024).

Epilepsi kan videre deles inn i generaliserte anfall hvor hele storhjernen affiseres, eller fokale anfall der kun deler av storhjernen har hyperaktivitet. Anfallets karakter avhenger av hvor mye og hvilke deler av storhjernen som er med inndratt. Ved generaliserte anfall får som oftest hunden tonisk kloniske kramper, og hele kroppen affiseres symmetrisk. Det er også vanlig at hunden fråder, tygger, urinerer og defekerer under anfallet. Hunden vil også være bevisstløs. Selve anfallet kalles for iktus, og varer oftest i noen få minutter. I etterkant av anfallet kan hundene blant annet bli slitne, forvirrede eller aggressive. Dette omtales som den postiktale fasen, og kan vare fra noen minutter til flere timer. Et fokalt anfall kan arte seg med unilaterale bevegelser, eventuelt små bevegelser som fluesnapping eller lokale muskelrykninger med eller uten bevissthet. I noen tilfeller kan fokale anfall utvikle seg til å bli generaliserte (Berendt et al., 2015).

En anfallsutredning er kompleks, og det utføres en rekke tester før man kan sette de ulike etiologiske diagnosene. Innledningsvis må man bekrefte at anfallene dyret presenterer med faktisk er av epileptisk karakter, og ikke er kompatibelt med for eksempel synkope eller paroxymal dyskinesi (De Risio et al., 2015). Deretter må underliggende årsaker til det epileptiske anfallet avdekkes. Videre diagnostikk som utføres er blant annet serum biokjemi, hematologi, urinanalyser og bildediagnostikk (De Risio et al., 2015). Urinanalysene som tas i første omgang i en utredning av krampeanfall inkluderer som regel fysisk/makroskopisk vurdering (spesifikk vekt, farge, turbiditet, lukt), kjemisk analyse i form av urinstix og mikroskopisk undersøkelse i form av sedimentundersøkelse. I slike tilfeller vil blod- og urinprøver komplementere hverandre, og gi informasjon om underliggende sykdom som kan trigge anfall (De Risio et al., 2015).

Nyrene er lokalisert retroperinealt i bukhulen, og er omgitt av en bindevevskapsel. Nyret består av bark og marg, der margen er inndelt i pyramideformede strukturer. Medialt på nyrene er nyrebekkenet, og ut fra dette går urinlederen fra hvert nyre som fører urin til urinblæren. Nefronet er den funksjonelle enheten i nyrene, og det er estimert at ett nyre fra hund bygges opp av opptil 400 000 nefroner (Eisenbrandt & Phemister, 1979; König & Liebich, 2014). Nefronet er inndelt i ulike segmenter med ulike funksjoner for filtrering av blod og dannelse av urinfiltrat. Nefronenes oppbygging bidrar til dannelse av en gradvis økende osmolaritet i interstitiell væske fra bark til marg, som gir nyrene evne til å konsentrere urin (Sjaastad, Sand & Hove, 2016c). Glomeruli er en kapillærslynge i nyrebarken som har i oppgave å filtrere blod (Holck, 2021). Normalt sett vil blodceller og serumproteiner ikke trenge gjennom glomerulimembranen grunnet størrelsen og ladningen på molekylet (Harley & Langston, 2012; Holck, 2023). Små mengder protein vil likevel kunne trenge gjennom, men

vil normalt bli reabsorbert i renale tubuli (Harley & Langston, 2012). Blodfiltratet føres videre inn i nyretubuli, som ytterligere inndeles i proksimale tubuli, henles sløyfe, distale tubuli og samlerørene (König & Liebich, 2014). I tubulisystemet reduseres det store volumet av glomerulært blodfiltrat til et mindre volum av urinfiltrat via passiv (osmose) og aktiv reabsorpsjon og sekresjon (Sjaastad, Sand & Hove, 2016d). Reabsorpsjon av spesifikke stoffer som blant annet glukose og aminosyrer skjer hovedsakelig i proksimale tubuli, mens reabsorpsjon av ioner og vann skjer i distale tubuli og samlerør (Sjaastad, Sand & Hove, 2016f). Vedlikehold av væskebalanse styres av den osmotiske gradienten i tillegg til hormoner som blant annet antidiuretisk hormon (ADH) (Sjaastad, Sand & Hove, 2016e). Fra hypofysen skilles det ut ADH som stimulerer til økt vannresorpsjon via akvaporiner i distale tubuli og samlerørene i nyrene (Sjaastad, Sand & Hove, 2016e). Ved mangel på ADH reduseres denne typen stimuli, noe som fører til redusert urinkonsentrasjon (Watson, Lefebvre & Elliott, 2022). Samlerørene fører urinen videre til nyrebekken som deretter når urinleder og dermed urinblære (König & Liebich, 2014).

Spesifikk vekt (urine specific gravity, USG) er en viktig del av enhver urinanalyse, og måles med et refraktometer. Refraktometeret måler hvor mye stoff som er oppløst i urin, og gjenspeiler urinkonsentrasjonen (Cridge & Lathan, 2018). Slike målinger gir informasjon om evnen nyrene har til å konsentrere urin, og dermed nyrefunksjonen (Rudinsky et al., 2019). Spesifikk vekt påvirkes av en rekke faktorer i tillegg til at verdiene vil variere gjennom døgnet, og dette må tas høyde for ved vurdering av resultatet (Rudinsky et al., 2019; Watson, Lefebvre & Elliott, 2022). Alt fra normalt vann- og matinntak, til væskebehandling i klinikk og polydipsi, er faktorer som vil føre til redusert urinkonsentrasjon (Finch & Heiene, 2017; Watson, Lefebvre & Elliott, 2022). Følgelig kan USG reduseres, uten at årsaken trenger å være assosiert med patologi i urinveiene. Morgenurin vil derfor være foretrukket/gullstandard

ved måling av USG ettersom dyret mest sannsynlig er minst påvirket av andre faktorer på dette tidspunktet (Rudinsky et al., 2019). Ved avvikende USG-verdier på urinprøver som ikke er morgenurin er det vanskeligere å si om dette skyldes redusert nyrefunksjon eller ikke. Grunnet et bredt spekter av faktorer som påvirker USG, er det viktig å vurdere urinens spesifikke vekt i lys av pasientens hydreringsstatus, sykdomshistorikk og kliniske funn (Finch & Heiene, 2017).

International Renal Interest Society (IRIS) deler USG-verdier hos hund inn i følgende grupper: konsentrert (>1.030), moderat konsentrert (1.013-1.029), isostenuri (1.008-1.012) og fortynnet (<1.008) (Watson, Lefebvre & Elliott, 2022). Godt konsentrert morgenurin (USG >1.030) indikerer normal nyrefunksjon, der nyretubuli og samlerør har evne til å opprettholde væskebalansen samt respondere på ADH (Watson, Lefebvre & Elliott, 2022). Dersom morgenurin er >1.030 og nyreparametere som urea og kreatinin er forøket skyldes dette trolig prerenale årsaker (Maddison, 2008). En pasient som konsentrerer morgenurinen moderat har klart å konsentrere urinen til en viss grad, men ikke nødvendigvis tilstrekkelig (Maddison, 2008). Slike individer kan ha en partiell dysfunksjon av nyrene eller mangel på hormoner som bidrar til å vedlikeholde væskebalansen (Watson, Lefebvre & Elliott, 2022). Isostenuri tilsier at nyrene hverken har fortynnet eller konsentrert urinen, og kan være et tegn på nyresykdom (Alleman & Wamsley, 2017). Fortynnet urin (<1.008), også kalt hypostenuri oppstår når nyrene aktivt fortynner urinen, og tyder på i alle fall delvis intakt nyrefunksjon, men kan skyldes andre sykdomstilstander som for eksempel sentral diabetes insipidus (Jepson, R., 2017; Watson, Lefebvre & Elliott, 2022). Væskeoverskudd vil dermed skilles ut og elektrolytter vil reabsorberes i distale tubuli (Watson, Lefebvre & Elliott, 2022).

Den kjemiske analysen av urinen vil påvise en eventuell forekomst av protein i urinen. En unormal mengde protein i urinen omtales som proteinuri, og inndeles etter årsakssammenheng; prerenal, renal og postrenal proteinuri (Figur 1) (Lees et al., 2005).

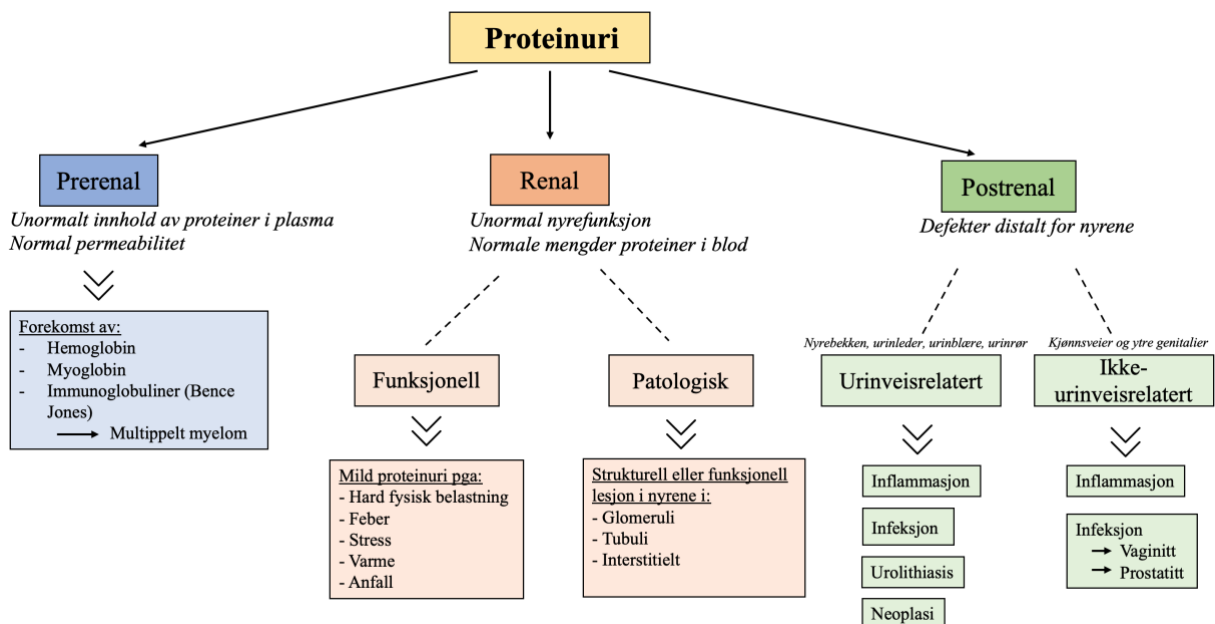
Prerenal proteinuri kommer av unormalt høyt innhold av proteiner i plasma som blir filtrert over kapillærene i glomeruli, men permeabiliteten er normal (Lees et al., 2005). Proteiner som normalt ikke forekommer fritt i plasma er feks hemoglobin eller myoglobin (Harley & Langston, 2012). Hos pasienter med multippelt myelom vil en økning av immunoglobuliner (Bence Jones proteiner) fra neoplastiske celler i plasma gi en prerenal proteinuri, som også går under begrepet Bence Jones proteinuri (Grauer, 2022a; Jepson, R. E., 2017). Det kreves en spesiell Bence Jones varme-test for å påvise slike proteiner (Fine & Salehmoghaddam, 1990). Foruten dette, kan evaluering av plasma protein konsentrasjonen være verdifull for å undersøke om en proteinuri har en prerenal årsakssammenheng (Lees et al., 2005).

Renal proteinuri defineres som unormal funksjon i nyrene, enten grunnet økt permeabilitet og/eller redusert reabsorpsjon, og som resulterer i økt tap av protein til urin til tross for normale mengder protein i blod (Grauer, 2022a). I en konsensus fra American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) deles renal proteinuri ytterligere inn i funksjonell/fysiologisk og patologisk (Lees et al., 2005). Funksjonell renal proteinuri forekommer når renal fysiologi endres som respons på ulike fysiologiske prosesser i kroppen, blant annet hard fysisk belastning, feber, stress, varme og krampeanfallet (Harley & Langston, 2012). Slike tilfeller av renal proteinuri er oftest milde og forbigående (Harley & Langston, 2012). Det er få studier som har undersøkt årsakssammenhengen for funksjonell proteinuri, men det er et kjent fenomen på humansiden. Det finnes enkelte studier som undersøker dette hos hunder, blant annet en studie som har sett på hvordan svømming fører til en økning av protein i urin, trolig som følge av den fysiske belastningen (Joles et al., 1984). For å skille mellom fysiologiske og patologiske årsaker til renal proteinuri er anamnese viktig. Man ser på

omfanget av proteinurien, og ved usikkerhet rundt hvorvidt dette er fysiologisk eller patologisk må man følge opp pasienten med kontrollprøver over tid for å bedømme om dette er forbigående eller ikke (Lees et al., 2005). Patologisk renal proteinuri oppstår som følge av en strukturell eller funksjonell lesjon i nyrene, og indikerer derfor problemer knyttet til glomeruli, tubuli eller interstitielt i nyrene (Harley & Langston, 2012). En patologisk defekt i glomeruli vil føre til endringer i den glomerulære filtrasjonsbarrieren, som innebærer endringer i både vaskulær permeabilitet av glomerulære kapillærvegger og de selektive egenskapene disse har (Harley & Langston, 2012; Klosterman & Pressler, 2011). Skade på renale tubuli vil påvirke evnen til å reabsorbere plasma proteiner som normalt krysser den glomerulære kapillærveggen grunnet lav molekylvekt (Jepson, R. E., 2017). Ved patologisk skade på interstitiet i nyrene, for eksempel ved inflammatoriske lesjoner vil dette føre til lekkasje av proteiner fra peritubulære kapillærer til urinen (Lees et al., 2005). En slik type skade kan for eksempel ses ved akutt interstitiell nefritt eller renal neoplasi (Harley & Langston, 2012). Som et ledd i utredelsen av renal proteinuri hos hund er det ønskelig å avdekke hvilke segmenter av nefronet som er affisert. I slike tilfeller kan UPC ratio benyttes, da omfanget av skader i ulike segmenter av nyrene varierer. Patologi som fører til endret funksjon av glomeruli gir som regel en mer alvorlig proteinuri sammenlignet med tubulære og interstitielle skader (Littman et al., 2013). Mistanken om glomerulær skade øker derfor betraktelig dersom det identifiseres en $UPC > 2.0$ (Lees et al., 2005).

Postrenal proteinuri er et resultat av proteiner som lekker inn i urinen fra nedre urinveier (Harley & Langston, 2012; Roura, Elliott & Grauer, 2017b). Konsensus fra ACVIM deler denne kategorien inn i to ytterligere undergrupper; urinveisrelatert og ikke-urinveisrelatert postrenal proteinuri (Lees et al., 2005). Blant de urinveisrelaterte nevnes årsaker som inflammasjon, infeksjon, urolithiasis og neoplasi (Lees et al., 2005; Roura, Elliott & Grauer, 2017b). Dette omhandler nyrebekken, urinlederen, urinblæren og urinrøret (Lees et al., 2005).

Med ikke-urinveisrelatert er blødning og andre eksudative prosesser som angår kjønnsveier eller ytre genitale årsaker til proteinurien (Lees et al., 2005). Dette inkluderer blant annet infeksjon eller inflammasjon i genitaliene, eksempelvis vaginitt og prostatitt (Harley & Langston, 2012). For å utelukke en slik årsak til proteinuri tas ofte en cystocentese, da en unngår kontaminasjon fra kjønnsorganene (Lees et al., 2005). Dersom de underliggende årsakene til en postrenal proteinuri forbedres, vil en slik proteinuri være forbigående (Harley & Langston, 2012).



Figur 1: Klassifisering av proteinuri i undergrupper basert på opphav og årsakssammenheng. Inndeling basert på konsensus utarbeidet av ACVIM.

For å måle mengden protein i urinen finnes flere analysemetoder. Urinstix er en kjemisk analyse av urinen, der en benytter reaksjoner mellom bestemte stoffer for å gi fargeutslag for ulike parametre (Smyroglou et al., 2023). Analysen er enkel å utføre, men er lite spesifikk og tar ikke hensyn til urinens konsentrasjon (Lees et al., 2005). Urinstix fanger primært opp

albumin, men er mindre sensitiv for globulin og fanger ikke opp Bence-Jones proteiner (Ramakrishnan & Jialal, 2023). Urin-protein-kreatinin (UPC) ratio er en mer spesifikk analyse da den vil fange opp et større spekter av proteiner, og gir et kvantitativt mål på proteininnholdet i urinen. IRIS har klassifisert proteinuri i 3 grupper; non-proteinurisk ($<0,2$), borderline proteinurisk ($0,2-0,5$) og proteinurisk ($>0,5$) (Grauer, 2019).

For å kunne kategorisere de ulike årsakssammenhengene for proteinuri må UPC ratio ses på over tid (Lees et al., 2005). Man kan ikke si noe om hvorvidt proteinuri er vedvarende eller karakterisere den i underkategorier på en enkelt prøve, men man får likevel et øyeblikksbilde om hvorvidt det foreligger proteinuri på akkurat det tidspunktet (Grauer, 2022b). Eksempelvis vil en funksjonell proteinuri være mild og forbigående, og det kreves derfor flere målinger for å se på utviklingen (Roura, Elliott & Grauer, 2017b). Konsensus fra ACVIM konstaterer at en UPC-verdi >0.5 hos hund indikerer en vedvarende proteinuri dersom slike funn er detektert i minst 3 prøver som er tatt med 2 eller flere ukers mellomrom (Lees et al., 2005).

Den glomerulære filtrasjonsevnen (GFR) defineres som mengden plasma som filtreres fra glomeruli over til Bowmans kapsel per minutt (Sjaastad, Sand & Hove, 2016b). GFR er per i dag den mest sensitive og informative testen som finnes for nyrefunksjon (Byron, 2017).

Nedsatt GFR er en sterk indikator på nedsatt nyrefunksjon (Heiene & Lefebvre, 2013).

Måling av GFR er utfordrende og tidkrevende i praksis, og man benytter heller markører for GFR som kreatinin og symmetrisk dimetyl arginin (SDMA). Det er flere ting som påvirker GFR, og enhver endring behøver ikke være indikasjon på nedsatt nyrefunksjon. Både alder, størrelse og diett kan påvirke GFR (Bexfield et al., 2008; Heiene & Lefebvre, 2013; Hoskins et al., 1991; Lane et al., 2000). Dette må tas hensyn til når nyrefunksjon til en pasient skal vurderes.

Kreatinin er et biprodukt av muskelmetabolisme, og stammer fra nedbrytning av kreatin og kreatinfosfat som hovedsakelig finnes i muskler og mat (Braun, J., Lefebvre, H. & Watson, A., 2003). Kreatinin skilles kontinuerlig ut over nyrene i en relativt konstant mengde, noe som gjør det til en av de mest stabile sammenligningskomponentene vi har i urinen (Braun, J. P., Lefebvre, H. P. & Watson, A. D., 2003). Kreatinin er den hittil mest studerte markøren for estimering av GFR, og kan derfor også si noe om nyrefunksjon (Braun, J., Lefebvre, H. & Watson, A., 2003). Likevel er det flere faktorer som påvirker utskillelsen av kreatinin, blant annet alder, muskelmasse og rase (Heiene, 2022). Derfor vil den beste måten å vurdere GFR være å se på en trend av kreatinin over tid. Mengden kreatinin som metaboliseres øker i takt med dyrets muskelmasse (Heiene, 2022). Magrere dyr vil derfor metabolisere kreatinin i mindre grad og ha en lavere konsentrasjon av kreatinin i blod. Det kan være utfordrerne å oppdage en økning i serumkreatinin hos enkeltindivider grunnet et bredt referanseområde, og pasientene kan ha normale enkeltmålinger av kreatinin til tross for en reell økning over tid. Hos raser med lavere kroppsvekt/lav muskelmasse kan estimering av aminosyren Symmetrisk Dimetyl Arginin (SDMA) være aktuelt. Denne aminosyren elimineres i likhet med kreatinin ved glomerulær filtrasjon (Grauer, 2019). Symmetrisk Dimetyl Arginin påvirkes ikke av pasientens muskelmasse og kan være en mer egnet markør for GFR enn kreatinin hos disse pasientene. Kreatinin vil heller ikke øke over referanseverdiene i de fleste hundene før ca 75% av nefronene er ineffektive (Segev, 2022). Videre har godt muskelsatte hunder normalt sett høyere konsentrasjon av kreatinin i urinen, for eksempel Greyhound og Bokser (Heiene, 2022; Liffman et al., 2020). Ved vurdering av både blodprøver og UPC ratio må det derfor vurderes i forhold til hver enkelt pasient da det finnes store normalvariasjoner i kreatinin nivå.

Både innenfor humanmedisin og veterinærmedisin er det rapportert økning i mengde proteiner i urinen hos pasienter etter krampeanfallet, men det er fortsatt usikkert om disse økningene

skyldes underliggende sykdommer, eller om de kommer som følge av selve krampeanfallet. Studier fra humanmedisin viser en sammenheng mellom anfall og forøket utskillelse av proteiner og tubulære enzymer i urin i tiden etter anfall (Korinthenberg et al., 2000). Årsaken til økningen er fremdeles ukjent, men det er diskutert sammenheng med toniske kramper og serotoninmetabolisme (Korinthenberg, et al., 2000). Proteinuri som følge av epileptiske krampeanfall hos hund omtales i en konsensus utarbeidet av ACVIM som en funksjonell renal proteinuri, og kjennetegnes av en mild og forbigående proteinuri (Lees et al., 2005). En potensiell forklaring kan være at en pasient under et epileptisk krampeanfall med kraftige muskelsammentreknings får et forøket blodtrykk grunnet aktivering av sympatiske nervebaner, og dermed en økning av plasmaproteiner som filtreres i nyrene (Devinsky, 2004). Teoretisk vil dette kunne gi en kombinasjon av prerenal og fysiologisk renal proteinuri av varierende omfang (Harley & Langston, 2012). Innenfor veterinærmedisin er det likevel mangel på forskning som underbygger teorien og som påviser proteinuri i etterkant av et epileptisk krampeanfall hos hunder. Det er et kjent fenomen blant flere klinikere at en ser en proteinuri etter et krampeanfall hos pasienter med epilepsi, uten at påstanden underbygges med forskning på forekomst eller utvikling av en slik proteinuri.

Formål

Formålet med forskningsprosjektet er å undersøke forekomsten og alvorsgraden av proteinuri hos hunder i etterkant av et epileptiformt krampeanfall.

Materiale og metode

Studiedesign

For denne oppgaven er det foretatt en deskriptiv tverrsnittstudie av forekomsten av proteinuri hos hunder med epileptiske krampeanfall. Den kvantitative kontinuerlig variabelen ble målt som en enkeltprøve for hvert individ etter gjennomgått epileptisk krampeanfall.

Materiale

Studiepopulasjonen er norske hunder som har gjennomgått epileptisk krampeanfall, og som kom inn til NMBU Dyresykehuset smådyr i perioden januar-desember 2023.

Inklusjons- og eksklusjonskriterier

Inklusjonskriterier:

- Har hatt epileptisk krampeanfall i løpet av de siste 30 dagene
- Alder: 6 mnd-8 år

Eksklusjonskriterier:

- Kjent eller mistenkt sykdom i nyre eller urinveier
- Makroskopisk hematuri
- Urin spesifikk vekt < 1.013

Det finnes flere årsaker til anfall, blant annet epilepsi, synkope, narkolepsi, hode-tremor og paroxymal dyskinesi (De Risio et al., 2015). Det er en variasjon i hvordan de ulike årsakene til anfall påvirker organsystemene i kroppen. For å optimalisere studien er det valgt å kun

fokusere på epileptiske krampeanfall, og det ble selektert bort individer som utelukkende viste andre former for anfall.

Det er valgt å samle inn urinprøver fra ulike tidspunkt etter anfall, og det er satt en grense på 30 dager. Bakgrunnen for dette er at en eventuell økning i proteiner i urin vil brytes ned med tid, og bli vanskeligere å detektere (Guillaumin, 2021). Grunnet begrenset økonomi ble det prioritert å teste urinprøver tatt kortere tid etter anfall for å øke sjansen for å fange opp proteinuri.

Inklusjons- og eksklusjonskriterier er satt for å minimere sjansen for at hunder med nyresykdom og dermed en renal proteinuri deltar. Risiko for nyresykdom øker med økende alder på hunden (O'Neill et al., 2013). I denne studien er det derfor besluttet å sette aldersgrense på 8 år for å delta. Med dette er det ønskelig å minimere antall eldre hunder som deltar, samtidig som den ikke ekskluderer såpass mange individer at studien ikke kan gjennomføres.

Lav spesifikt vekt kan være en indikator på at nyrene ikke klarer å konsentrere urin (Watson, Lefebvre & Elliott, 2022). Det er flere årsaker til dette, blant annet renal sykdom. For å minimere risikoen for å få en falsk forhøyet UPC-ratio grunnet renal problematikk, er urinprøver med en spesifikt vekt under 1.013 ekskludert. IRIS vurderer at urinprøver fra individer med spesifikk vekt over 1.030 indikerer at urin har blitt konsentrert i såpass stor grad at større funksjonstap av nefroner er lite sannsynlig (Watson, Lefebvre & Elliott, 2022). For å få et tilstrekkelig prøveantall i studien ble urinprøver med spesifikk vekt over 1.013 inkludert. Bakgrunnen for dette er at de innsamlede urinprøvene ikke utelukkende var morgenurin, og en kunne dermed forvente en mindre konsentrert urin uten at det nødvendigvis indikerte renal dysfunksjon.

Det eksisterer studier som viser at makroskopisk hematuri vil kunne interferere med UPC-ratio, og gi økte verdier i den grad at hunden klassifiseres som proteinurisk (UPC > 0.5) (Jillings et al., 2019). Det er argumentert for at mikroskopisk hematuri ikke vil ha stor påvirkning på UPC ratio, og dette er årsaken for at kun urinprøver med makroskopisk hematuri ble ekskludert (Jillings et al., 2019).

Metode

Spontanurin ble samlet fra hunder som hadde gjennomgått epileptiske krampeanfoll, og sendt inn for måling av UPC. Før prøvetakning ble det gjennomført forhudsvask/vaginalvask av pasienten for å minimere kontaminering av urinprøven. Ved urinanalyse ble det gjennomført makroskopisk vurdering inkludert måling av spesifikk vekt med refraktometer (Atago URC-Ne), kjemisk analyse (automatisk urinstix avleser – IDEXX VetLab UA Analyser), og automatisk sedimentanalyse (IDEXX IDEXX SediVue Dx* Analyser SN) innen 60 min etter prøvetakning. Resultatet av disse undersøkelsene ble automatisk overført til klinikkens journalsystem for lagring. Det var ingen begrensing på hvor mange ganger samme hund kunne levere urinprøve. Hver urinprøve ble merket med pasient-ID og dato for prøvetakning for å enkelt finne pasienter og urinprøveresultater i journalsystemet. Deretter ble alle urinprøvene oppbevart i fryser ved enten -80 grader celsius eller -20 grader celsius før innsendelse til laboratorium. Alle urinprøvene ble sendt i frosset tilstand på is til Sentrallaboratoriet (SL) for måling av UPC-ratio. På SL ble prøvene analysert på Siemens Atellica CH930 DL.

Urin-protein-kreatinin verdiene ble kategorisert som henholdsvis: non-proteinurisk, borderline proteinurisk og proteinurisk (Tabell 1). Denne inndelingen er basert på klassifisering av renal proteinuri utarbeidet av IRIS (Grauer, 2019).

Urin Protein/Kreatinin Ratio (UPC)	Klassifisering
< 0.2	Non-proteinurisk
0.2-0.5	Borderline proteinurisk
>0.5	Proteinurisk

Tabell 1: *Illustrasjon over hvordan proteinuri hos hunder klassifiseres etter IRIS sine retningslinjer.*

Urin-protein-kreatinin ratio ble også presentert i tabellform som kontinuerlig variabel, inklusivt individ nummer, dager fra sist anfall, alder, rase, kjønn og informasjon vedrørende epilepsianfallets karakter.

Data

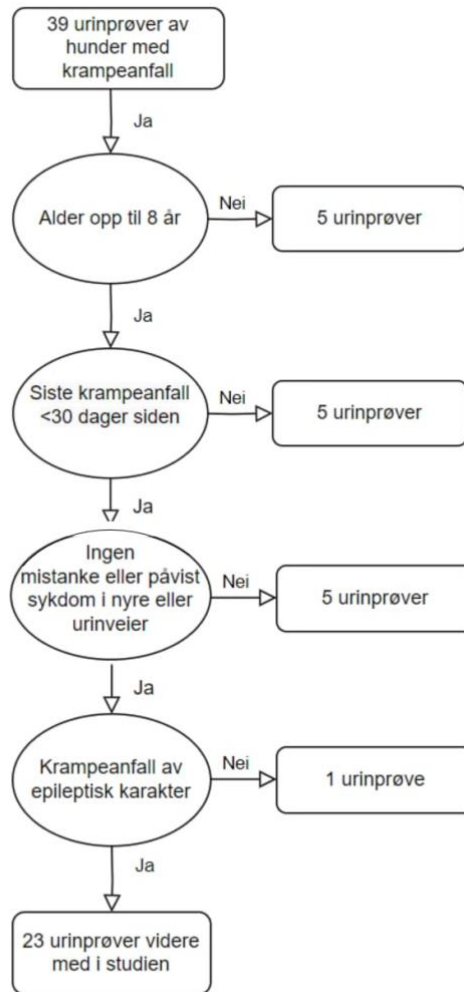
For innhenting av ytterligere informasjon om dyrets helse benyttet vi klinikkens journalsystem. Data som omhandlet signalement, generelle helseopplysninger, detaljer rundt anfall og anfallshistorikk samt resultater fra urin- og blodprøver ble innhentet fra journalsystemet.

Statistiske analyser

Data ble lagret og bearbeidet i Microsoft Office Excel versjon 16.66.1. Kategoriske variabler presenteres som antall og prosentandeler, mens kontinuerlige variabler presenteres med gjennomsnitt og/eller median. Tabeller og figurer er inkludert der dette ble funnet hensiktsmessig.

Resultater

Gjennom året 2023 ble det samlet inn 39 urinprøver fra 35 hunder. Det ble sendt inn 23 urinprøver til Sentrallaboratoriet for undersøkelse av mengde protein og kreatinin, samt utregning av UPC-ratio. Resterende urinprøver (16 stk) passet ikke inklusjonskriteriene, og ble derfor ekskludert fra studien (Figur 2). Totalt ble 5 urinprøver ekskludert grunnet for høy alder, 5 av urinprøvene var tatt etter 30 dager siden forrige krampeanfallet, 5 av urinprøvene kom fra hunder med påvist eller mistenkt nyre eller urinveissykdom, og 1 urinprøve ble ekskludert grunnet mangel på kramper av epileptisk karakter.



Figur 2: Flytdiagram over utvelgelsesprosessen av urinprøver.

Det var stor variasjon i signalementet til hundene, både generelt og innenfor samme kategori. Det var 14 renraset hunder og 5 blandingshunder med i studien. Av de 14 renrasede hundene var det ingen av samme rase som leverte urinprøver foruten 2 individer som begge var av rasen Amerikansk cocker spaniel. Av de totalt 23 urinprøvene var 9 fra tisper og 14 urinprøver kom fra hannhunder. Alle tispene var intakte. Blant hannhundene var 2 kjemisk kastret og resterende var intakte. Aldersfordelingen var 1-7 år, hvor det var 2 ettåringer, 3 toåringer, 4 treåringer, 3 fireåringer, 2 femåringer, 3 seksåringer og 2 sjuåringer. En av hundene som var 3 år (hund nr 15 i tabell 2) leverte 2 urinprøver, og en av hundene som var 5 år (hund nr 8 i

tabell 2) leverte 4 urinprøver. Gjennomsnittsalderen på hundene var 3,9 år. Aldersmedian var 4 år.

Tabell 2 viser resultatene av UPC-ratio, antall dager det har gått mellom sist krampeanfallet og innsamling av urin, hundenes signalement og varighet på det siste krampeanfallet. UPC-ratioen er arrangert i stigende rekkefølge. Tabellen er fargekodet for å tydeliggjøre hvilke hunder som er non-proteinuriske, borderline proteinuriske og proteinuriske. Individuer med en UPC <0,2 er markert i grønn, individer med UPC 0,2-0,5 er markert i gul, og individer med UPC>0,5 er markert i rød.

Hund nr	UPC-ratio	Dager fra anfall	Alder	Rase	Kjønn	Krampeanfallets karakter
1	0,08	30	2	Barbet	Tispe, intakt	2 min
2	0,09	21	1	Whippet	Hann, intakt	3 min
3	0,12	<24 timer	3	Flat coated retriever	Hann, intakt	Ukjent, normalt 3 min
4	0,12	2	5	Nova scotia duck tolling retriever	Hann, kjemisk kastret	1 min
5	0,14	21	3	Berner Sennen	Tispe, intakt	1,5-2min
6	0,15	<24 timer	1	Blandingshund (keeshound/mittle spitz)	Hann, kjemisk kastret	Myoklonisk anfall, ukjent varighet
7	0,15	30	2	Blandingshund (Alaskan husky)	Tispe, intakt	15-20 min
8	0,16	6	5	Cavalier king Charles spaniel	Tispe, intakt	3-4 min
8	0,16	5	5	Cavalier king Charles spaniel	Tispe, intakt	4-5 min

8	0,17	7	5	Cavalier king Charles spaniel	Tispe, intakt	Ukjent
9	0,18	2	4	Amerikansk cocker spaniel	Tispe, intakt	2-4min
10	0,20	4	6	Blandingshund (chihuahua + pomeranian)	Hann, intakt	4 min
11	0,20	30	3	Pomeranian	Hann, kastret	<2 min
8	0,22	7	5	Cavalier king Charles spaniel	Tispe, intakt	Ukjent varighet, normalt 4min
12	0,24	14	6	Blandingshund	Hann, intakt	2-4 min
13	0,25	<24 timer	4	Rottweiler	Tispe, intakt	1 min
14	0,26	24	2	Beagle	Hann, intakt	1-2 min
15	0,28	21	3	Engelsk springer spaniel	Hann, intakt	Klusteranfall, ukjent lengde
16	0,36	<24 timer	6	Bichon havanais	Hann, intakt	Klusteranfall. Kraftige anfall etterfulgt av noen små. Ukjent lengde
17	0,49	7	4	Amerikansk cocker spaniel	Hann, intakt	Kluster, 2 anfall med noen timers mellomrom. 3min hver.
18	0,50	5	7	Kleinspitz	Hann, intakt	2-3 min
15	0,53	5	3	Engelsk springer spaniel	Hann, intakt	1min
19	0,88	5	7	Blandingshund	Hann, intakt	1 min

Tabell 2: Oversikt over resultat av UPC-ratio, antall dager fra krampeanfall, signalement og krampeanfallets karakter. Fargekode: Grønn=non-proteinuri, gul=borderline proteinuri, rød=proteinuri.

Prøvesvarene fra Sentrallaboratoriet viste at 48% av urinprøvene er non-proteinuriske, 39% av prøvene var borderline proteinuriske, og 13% urinprøver var proteinuriske. I gruppen med hunder som var non-proteinuriske var gjennomsnittsalderen på 3,3 år, og hadde en anfallslengde på 1-5min, med unntak av hund nr 7 som hadde et anfall på 15-20 min. Det var en spredning på antall dager fra krampeanfall til urinprøvetaking i denne gruppen (<24 timer-30 dager). I gruppen med borderline proteinuri var gjennomsnittsalderen 4,3 år. Blant disse hadde 3 av hundene en historikk med klusteranfall, mens resterende hadde enkle krampeanfall med en varighet på 1-4 min. Det observeres også i denne gruppen en stor spredning i tidsintervallet fra krampeanfall til prøvetakning (<24 timer-30 dager). Hundene med prøveresultater som indikerte en proteinuri hadde en gjennomsnittsalder på 5,7 år. Anfallene hos disse individene hadde en varighet på 1-3 min. Samtlige urinprøver fra denne gruppen ble tatt 5 dager etter krampeanfallet fant sted. I tabell 3 er en oversikt over antall dager fra epileptisk krampeanfall til urinprøvetaking, med UPC ratio for individene i de ulike tidsintervallene.

UPC <24 t	UPC 1-5 dg	UPC 6-11 dg	UPC 12-30 dg
0,12	0,12	0,16	0,08
0,15	0,16	0,17	0,09
0,25	0,18	0,22	0,14
0,36	0,20	0,49	0,15
	0,5		0,20
	0,53		0,24
	0,88		0,26
			0,28

Tabell 3: UPC ratio i stigende rekkefølge arrangert etter tid fra epileptisk krampeanfall til urinprøven ble tatt. Grønn = non-proteinurisk, gul = borderline proteinurisk, rød = proteinurisk. T: timer, Dg: dager.

Som en del av inklusjons- og eksklusjonskriteriene ble 5 urinprøver ekskludert grunnet mistanke om urinveisrelatert problematikk. Urinanalyser inklusivt fysisk/makroskopisk undersøkelse, kjemisk analyse og sediment analyse ble utført i forkant av innsendelse til SL, og resultatene fra hver enkelt prøve med i denne studien ble notert ned og lagret i universitetets journalsystem (tabell 4).

Hund nr	UPC	Makroskopisk vurdering	SV	Kjemisk urinanalyse	Sediment analyse
1	0,08	Blek gul, uklar	1.038	<p>pH 6,0</p> <p>LEU: neg</p> <p>PRO: neg</p> <p>GLU: neg</p> <p>KET: neg</p> <p>UBG: norm</p> <p>BIL: neg</p> <p>BLD: 25 Ery/uL</p>	<p>RBC: 11/HPF</p> <p>WBC: neg</p> <p>BACr: neg</p> <p>BACc: neg</p> <p>sqEPI: neg</p> <p>nsEPI: <1 /HPF</p> <p>CRY: neg</p>
2	0,09	Mørk gul, uklar	1.049	<p>pH 6,0</p> <p>LEU: neg</p> <p>PRO; TR g/L</p> <p>GLU: neg</p>	<p>RBC: 2/HPF</p> <p>WBC: 1/HPF</p> <p>BACr: suspect presence</p> <p>BACc: suspect presence</p>

				KET: neg UBG: 70 umol/L BIL: 17 umol/L BLD: 10 Ery/uL	sqEPI: neg nsEPI: <1 /HPF CRY: neg
3	0,12	Svakt gul, klar	1.025	pH 7,0 LEU: neg PRO: neg GLU: neg KET: neg UBG: norm BIL: neg BLD: neg	RBC: 1/HPF WBC: 2/HPF BACr: suspect presence BACc: neg sqEPI: neg nsEPI: <1/HPF CRY: neg
4	0,12	Mørk gul, grumsete	1.048	pH 9,0 LEU: neg PRO: 0,3 g/L GLU: neg KET: neg UBG: 17 umol/L BIL: neg BLD: neg	RBC: 1/HPF WBC: <1 /HPF BACr: neg BACc: neg sqEPI: <1 /HPF nsEPI: < /HPF CRY: <1 /HPF
5	0,14	Blek gul, klar	1.038	pH 6,0 LEU: neg PRO: neg GLU: neg KET: neg	RBC: 3 /HPF WBC: 3/HPF BACr: neg BACc: neg sqEPI: <1 /HPF

				UBG: norm BIL: neg BLD: 10 Ery/ul	nsEPI: 1-2/HPF CRY: neg
6	0,15	Blek gul, uklar	>1.050	pH 7,0 LEU: neg PRO: TR g/L GLU: neg KET: neg UBG: 70 umol/L BIL: 18 umol/L BLD: neg	RBC: <1/HPF WBC: <1/HPF BACr: neg BACc: neg sqEPI: neg nsEPI <1/HPF CRY: neg
7	0,15	Strågul, klar	1.015	pH 8,0 LEU: neg PRO: neg GLU: neg KET: neg UBG: norm BIL: neg BLD: neg	RBC: <1 /HPF WBC: <1/HPF BACr: neg BACc: neg sqEPI: neg nsEPI: <1/HPF CRY: neg
8	0,16	Mørk gul, uklar	>1.050	pH 6,0 LEU: neg PRO: 0,3 g/L GLU: neg KET: neg UBG: 70 umol/L	RBC: 2 /HPF WBC: 1 /HPF BACr: neg BACc: neg sqEPI: 1-2/HPF nsEPI: 3-5/HPF

				BIL: neg BLD: 10 Ery/uL	CRY: <1/HPF
8	0,16	Blek gul, uklar og grumsete	1.046	pH 7,0 LEU: neg PRO: neg GLU: neg KET: neg UBG: norm BIL: neg BLD: neg	Ikke kjørt
8	0,17	Blek gul, grumsete og veldig uklar	1.040	pH 6,5 LEU: neg PRO: neg GLU: neg KET: neg UBG: norm BIL: neg BLD: 10 Ery/uL	RBC: 5/HPF WBC: <1 /HPF BACr: neg BACc: neg sqEPI: <1 /HPF nsEPI: <1/HPF CRY: <1/HPF
9	0,18	Blek gul, uklar	1.037	pH 7,0 LEU: neg PRO: neg GLU: neg KET: neg UBG: norm BIL: neg	RBC: 2/HPF WBC: 1/HPF BACr: neg BACc: neg sqEPI: <1/HPF nsEPI: <1/HPF CRY: neg

				BLD: neg	
10	0,2	Blek gul, noe uklar	1.043	<p>pH 6,0</p> <p>LEU: neg</p> <p>PRO: neg</p> <p>GLU: neg</p> <p>KET: neg</p> <p>UBG: 70 umol/L</p> <p>BIL: neg</p> <p>BLD: 10 Ery/uL</p>	<p>RBC: <1/HPF</p> <p>WBC: 1/HPF</p> <p>BACr: neg</p> <p>BACc: suspect presence</p> <p>sqEPI: neg</p> <p>nsEPI: <1/HPF</p> <p>CRY: neg</p>
11	0,2	Blek gul, gumsete og uklar	1.047	<p>pH 9,0</p> <p>LEU: neg</p> <p>PRO: neg</p> <p>GLU: neg</p> <p>KET: neg</p> <p>UBG: norm</p> <p>BIL: neg</p> <p>BLD: neg</p>	<p>RBC: 7/HPF</p> <p>WBC: <1/HPF</p> <p>BACr: neg</p> <p>BACc: suspect presence</p> <p>sqEPI: <1/HPF</p> <p>nsEPI: <1/HPF</p> <p>CRY: neg</p>
8	0,22	Blek gul, grumsete og uklar	1.042	<p>pH 8,0</p> <p>LEU: neg</p> <p>PRO: neg</p> <p>GLU: neg</p> <p>KET: neg</p> <p>UBG: norm</p> <p>BIL: neg</p> <p>BLD: neg</p>	<p>RBC: 1/HPF</p> <p>WBC: <1/HPF</p> <p>BACr: neg</p> <p>BACc: neg</p> <p>sqEPI: <1/HPF</p> <p>nsEPI: <1/HPF</p> <p>CRY: neg</p>

12	0,24	Blek gul, noe uklar	1.040	pH 8,0 LEU: neg PRO: neg GLU: neg KET: neg UBG: norm BIL: neg BLD: neg	RBC: <1/HPF WBC: 1/HPF BACr: neg BACc: neg sqEPI: neg nsEPI: <1/HPF CRY: neg
13	0,25	Blek gul, uklar	1.023	pH 8,0 LEU: neg PRO: neg GLU: neg KET: neg UBG: norm BIL: neg BLD: 50 Ery/uL	RBC: >50/HPF WBC: 4/HPF BACr: neg BACc: neg sqEPI: <1/HPF nsEPI: 1-2/HPF CRY: neg
14	0,26	Blek gul, noe uklar	1.033	pH 8,0 LEU: 100 Leu/uL PRO: neg GLU: neg KET: neg UBG: norm BIL: neg BLD: neg	RBC: 1/HPF WBC: 25/HPF BACr: neg BACc: neg sqEPI: neg nsEPI: 1-2/HPF CRY: neg
15	0,28	Blek gul, klar	1.024	pH 6,0	RBC: 3/HPF

				LEU: 25 Leu/uL PRO: neg GLU: neg KET: neg UBG: norm BIL: neg BLD: neg	WBC: 3/HPF BACr: neg BACc: neg sqEPI: <1/HPF nsEPI: <1/HPF CRY: neg
16	0,36	Blek gul, klar	>1.050	pH 5,0 LEU: neg PRO: neg GLU: neg KET: neg UBG: 17 umol/L BIL: neg BLD: 10 Ery/uL	RBC: 2/HPF WBC: 4/HPF BACr: suspect presence BACc: neg sqEPI: <1/HPF nsEPI: 1-2/HPF CRY: <1/HPF
17	0,49	Blek gul, noe uklar	1.022	pH 8,0 LEU: neg PRO: neg GLU: neg KET: neg UBG: norm BIL: neg BLD: neg	RBC: <1/HPF WBC: 11/HPF BACr: neg BACc: neg sqEPI: <1/HPF nsEPI: 1-2/HPF CRY: neg
18	0,5	Blek gul, uklar	1.037	pH 8,0 LEU: neg	RBC: 1/HPF WBC: 2/HPF

				PRO: neg GLU: neg KET: neg UBG: norm BIL: neg BLD: neg	BACr: suspect presence BACc: neg sqEPI: <1/HPF nsEPI: <1/HPF CRY: neg
15	0,53	Blek gul, klar	1.023	pH 7,0 LEU: 25 Leu/uL PRO: neg GLU: neg KET: neg UBG: norm BIL: neg BLD: neg	RBC: 3/HPF WBC: 3/HPF BACr: neg BACc: suspect presence sqEPI: neg nsEPI: 1-2/HPF CRY: neg
19	0,88	Blek gul, klar	1.025	pH 6,0 LEU: neg PRO: 0,3 g/L GLU: neg KET: neg UBG: norm BIL: neg BLD: 10 Ery/uL	RBC: 3/HPF WBC: 1/HPF BACr: suspect presence BACc: neg sqEPI: neg nsEPI: <1/HPF CRY: neg

Tabell 4: Resultat fra urinanalyser (makroskopisk, SV, kjemisk analyse og sedimentanalyse) samt UPC. Fargekodet etter UPC ratio; Grønn=non-proteinuri, gul=borderline proteinuri, rød=proteinuri. Fra kjemisk analyse - LEU: leukocytter (referanseområde: 0-1 Leu/ul), PRO: proteiner (referanseområde: 0-29 g/L), GLU: glukose (referanseområde: 0-3 mmol/L), KET: ketoner (referanseområde: 0-1,4 mmol/L), UBG: urobilinogen (referanseområde: 0-16

umol/L), BIL: bilirubin (referanseområde: 0-16 umol/L), BLD: blod (referanseområde: 0-5 Ery/uL). Fra sedimentanalyse - RBC: røde blodceller, WBC: hvite blodceller, BACr: stavbakterier, BACc: kokkoide bakterier, sqEPI: plateepitelceller, nsEPI: ikke-plateepitelceller, CRY: uspesifiserte krystaller. Type krystaller er ikke med i denne tabellen grunnet ingen av urinprøvene hadde utslag på disse parameterne.

Diskusjon

Majoriteten av urinprøvene fra studien var non-proteinuriske, men det var likevel noen som var borderline proteinuriske eller proteinuriske. Årsaken til økningen av UPC ratio er usikker, og kan ikke sikkert knyttes opp til krampeanfallet.

Gjennomsnittsalderen økte fra 3,3 år i den non-proteinuriske gruppen, til 4,3 år i gruppen med borderline proteinuri, og opp til 5,7 år i gruppen med proteinuri. Gruppen med proteinuri var dog liten (3 prøver), og med såpass lavt prøveantall kan det ikke konstateres med sikkerhet at forskjellene vedrørende alder er statistisk signifikant. Renal sykdom er vanligere hos eldre individer, og det kan ikke utelukkes at dette er årsaken til proteinurien (O'Neill et al., 2013). Kronisk nyresykdom utvikles ofte sakte, og kliniske symptomer kan enten oversees eller ikke være til stede på et tidlig stadium (Syme, 2019). Dette gjør at hundene som fremstod som friske foruten epilepsi i utvelgelsesprosessen likevel kan ha en renal proteinuri. Ettersom det ble tatt blodprøve av de fleste hundene samme dag som urinprøven, ga dette oss informasjon om enkelte nyreparametere som for eksempel urea og kreatinin. Kreatinin skilles normalt ut over nyrene, og en økning i denne verdien på blodprøver kan indikere nedsatt GFR (Heiene, 2022). Hunder med høyere kreatinin enn referanseintervallet ble ekskludert fra studien for å minimere sjansen for at proteinurien skyldes nyreproblematikk. Likevel er dette kun en enkeltmåling, og kreatinin gir mest informasjon når den følges over tid. Bakgrunnen for dette

er at et individ kan ha en økning i kreatinin, men fortsatt ligge innenfor referanseverdiene grunnet et bredt referanseområde (Heiene, 2022). Kreatinin øker først over referanseintervallet når nyrene har omtrent 75% funksjonstap (Segev, 2022). Hunder i denne studien som har normal kreatinin og forøket UPC kan derfor likevel ha en renal proteinuri.

En annen renal biomarkør som kan undersøkes er Symmetrisk Dimetyl Arginin (SDMA). Dette er en aminosyre som normalt skilles ut i urin, og hopet opp i blodet ved nedsatt GFR (Grauer, 2019). Hos enkelte hunder kan SDMA øke ved et tidligere stadium enn kreatinin, og fungerer som en indikator på nyresykdom (Grauer, 2019). Det er særlig hunder som er dårlig muskelsatt som kan få en tidligere økning av SDMA versus kreatinin (Grauer, 2019). I denne studien ble ikke tatt målinger av SDMA. Dersom undersøkelse av SDMA ble inkludert i laboratoriearbeidet er det mulig at enkelte hunder med tidlige nyreforandringer kunne ha blitt fanget opp. På samme måte som med kreatinin gir målinger av SDMA mest informasjon når det ses på over tid (Grauer, 2019). Denne studien inneholder kun enkeltmålinger av kreatinin, og mistanke om nedsatt GFR baseres på en verdi målt over referanseområdet. Det finnes per nå ikke nok longitudinelle studier om SDMA for å fastsette sensitivitet og spesifisitet for biomarkøren, og SDMA resultat må alltid vurderes opp mot kreatinin, spesifikk vekt og klinisk presentasjon (Grauer, 2019).

Urinprøvenes spesifikke vekt ble vurdert før innsendelse til SL. Ved å måle spesifikk vekt i urinen vurderes evnen nyrene har til å konsentrere urin. Lav spesifikk vekt kan indikere dårlig evne til konsentrering av urinen, og dermed nedsatt renal funksjon (Watson, Lefebvre & Elliott, 2022). Andre årsaker til nedsatt spesifikk vekt inkluderer polydipsi eller væskebehandling på klinikk (Watson, Lefebvre & Elliott, 2022). Urinprøver tatt utover dagen

vil ha lavere spesifikk vekt enn morgenurin, grunnet blant annet vanninntak (Watson, Lefebvre & Elliott, 2022). Spesifikk vekt må derfor vurderes i forhold til det klinisk bilde. Ingen av urinprøvene inkludert i denne studien hadde en spesifikk vekt under 1.013. Spesifikk vekt mellom 1.013-1.029 klassifiseres av IRIS til moderat konsentrert urin (Watson, Lefebvre & Elliott, 2022). Hunder med normal nyrefunksjon bør ha en spesifikk vekt på 1.030 eller mer på morgenurin (Watson, Lefebvre & Elliott, 2022). Morgenurin var ikke tilgjengelig for majoriteten av hundene i denne studien. For å sikre et stort nok antall urinprøver i studien ble det etablert en nedre grense for spesifikk vekt på 1.013. Ettersom den nedre grensen (1.013) er såpass lav, kan ikke et partielt funksjonstap av nyrene utelukkes og resultatene må tolkes opp mot dette.

For å verifisere at økt UPC-ratio er knyttet til et epileptisk krampeanfall ville det vært ideelt å ha flere urinprøver fra hvert individ. I denne studien er det kun sett på UPC-ratio som en enkeltprøve. Dersom det ble tatt en null-prøve av hundene et bestemt antall dager etter et anfall, kunne dette vært brukt som sammenligningsgrunnlag for fremtidige prøver. Deretter kunne man tatt urinprøve samme dag som et anfall, etterfulgt av prøver med noen dagers mellomrom etter anfallet slik at en eventuell utvikling av proteinuri vurderes i større grad. Urin-protein-kreatin ratio gir mest informasjon når det finnes flere prøver fra samme individ (Grauer, 2019). Resultatene fra de ulike prøvene fra samme individ kan brukes til å lage en kurve over hvordan en eventuell proteinuri utvikler seg over tid. Slike kurver vil være svært informative for blant annet å vurdere hvor stor økning i UPC-ratio et individ kan få i etterkant av et epileptisk anfall, samt vurdere hvor lenge man forventer å se en slik økning før det normaliseres. Videre vil man kunne undersøke om det er en trend i tidspunkt etter anfall der UPC-ratioen er høyest. Kurvene for de ulike hundene kan deretter sammenlignes for å se om

det er forskjell i utvikling knyttet til anfallets karakter, hundens signalement eller andre forhold.

Resultatene fra denne studien viste at hundene som havnet innenfor kategoriene borderline proteinuri og proteinuri hovedsakelig hadde urinprøver tatt innen de første 10 dagene etter krampeanfallet. Til sammenligning var 2 av 4 urinprøver som ble tatt under 24 timer etter anfallet borderline proteinuriske, mens de resterende urinprøvene i samme kategori var non-proteinuriske. Disse resultatene gir inntrykk av noe forsinkelse i økning av proteiner i urinen. Halvparten av urinprøvene som ble tatt 20-30 dager etter krampeanfallet var non-proteinuriske. Dersom det stemmer at proteinurien stammer fra krampeanfallet kan disse tallene indikere en forsinket økning av mengde protein i urinen, med normalisering av verdiene innenfor 30 dager. Likevel må det merkes at urinprøvene kommer fra forskjellige hunder, og dette setter grenser for i hvilken grad de ulike urinprøvene kan sammenlignes. Informasjonen denne studien gir vedrørende tidsintervallet på proteinuri må derfor vurderes kritisk.

I denne studien har 2 av hundene levert flere urinprøver; hund nr 15 og hund nr 8. Hund nr 15 (H15) var en 3 år gammel intakt hannhund av rasen Engelsk springer spaniel. H15 leverte inn 2 urinprøver til studien. En av urinprøvene ble tatt 21 dager etter siste krampeanfallet, og det ble beregnet en UPC-ratio på 0,28. Det gjeldene krampeanfallet ble beskrevet som klusteranfallet med ukjent lengde. Den andre urinprøven ble tatt 5 dager etter et annet krampeanfallet, og hadde en UPC-verdi på 0,53. Denne gangen varte krampeanfallet i 1 min, uten kluster aktivitet. I begge urinprøvene var UPC-ratio over det som regnes som normalt. Prøven tatt 5 dager etter et anfall hadde høyest verdi. Dette kan tyde på at proteinurien stammer fra krampeanfallet og normaliseres over tid. Likevel må det vurderes om

proteinurien kan være et resultat av andre årsaker. Det var tatt nylige oppdaterte blodprøver og urinprøver som var oppført i journalsystemet. Urinprøven viste kun små avvik; 3 rbc/hpf og 3 wbc/hpf (Tabell 4). Nyreparametere på blodprøvene var innenfor referanseverdier. Videre var hunden kun 3 år gammel, og en proteinuri som følge av renal patologi er mindre sannsynlig. Kontaminering som årsak til økt UPC-ratio er mulig, men dette må da gjelde begge urinprøvene da disse ble tatt etter samme retningslinjer. Journalen som tilhørte H15 har beskrevet krampeanfallene som hyppig forekommende, og ofte i klusteranfall. I etterkant av forsøket har H15 blitt avlivet som følge av dyrevelferdsmessige plager i forhold til krampeanfallene. H15 sine urinprøver sett i lys av anfallsfrekvens kan tyde på at krampeanfallene kom såpass hyppig at H15 fikk en mer omfattende fysiologisk proteinuri.

Hund nr 8 (H8) var en 5 år gammel intakt tisper av rasen Cavalier king Charles spaniel. H8 har levert 4 urinprøver til studien. Av disse prøvene er 3 non-proteinuriske med en UPC-ratio på 0,16,-0,17, og en prøve var borderline proteinurisk med en UPC-ratio på 0,22. Samtlige urinprøver var tatt 5-7 dager etter krampeanfall. Anfallene ble beskrevet som kramper med en varighet på 3-5 minutter. Graden av proteinuri varierte etter de ulike epileptiske anfallene. En mulig forklaring kan være at proteinuri kan oppstå i etterkant av enkelte epileptiske anfall, men ikke alle. H8 leverte urinprøver i februar, mars, april og mai 2023. Blant disse 4 prøvene skilte urinprøven i april seg ut, da denne var borderline proteinurisk. Urinprøven tatt i mai indikerer at den forøkte UPC-verdien da var normalisert. Prøveresultatene fra H8 viser at krampeanfall kan ha ulik påvirkning på UPC.

I denne studien er det presentert hyppigheten av proteinuri hos hunder med epileptiske krampeanfall, men avslører ingen årsaker bak dette. Det er kjent både fra humanmedisin og

veterinærmedisin at det oppstår en forbigående proteinuri etter hard fysisk aktivitet (Bellinghieri, Savica & Santoro, 2008) (Spinella et al., 2023). I en artikkel fra humanmedisin kommer det frem at det er intensiteten og ikke lengden på treningsøkten som påvirker grad av proteinuri (Bellinghieri, Savica & Santoro, 2008). Det estimeres at 18-100% av mennesker får varierende grad av proteinuri etter trening, avhengig av treningsøktens karakter (Bellinghieri, Savica & Santoro, 2008). Proteinurien er benign, og opphører innen 24-72 timer etter endt fysisk aktivitet (D L Oosterom, 2006) (Bellinghieri, Savica & Santoro, 2008). Det er forsket på hvorvidt hunder også får proteinuri under trening. En studie målte mengde proteiner i urin hos hunder før, under og etter en 30 minutters intens løpe økt på tredemølle (J B Epstein, 1979). Hundene fikk en markant økning i proteinuri under og etter løpeøkten (J B Epstein, 1979). En annen studie undersøke forekomsten av proteinuri før og etter treningsøkt av 24 militærhunder med lignende resultat (Spinella et al., 2023). Hundene hadde en signifikant økning i UPC etter fysisk aktivitet (Spinella et al., 2023). I denne studien var hundene delt opp i to forskjellige grupper. Den ene gruppen gjennomførte en 20 minutters standard søkøvelse, mens den andre gjennomførte samme 20 minutters søkøvelse i tillegg til 10 minutter på tredemølle. Det var kun små marginer som skilte resultatet fra de forskjellige gruppene, og variasjonen regnes som ikke signifikant (Spinella et al., 2023). Dette tyder på at lengden på treningsøkten har lite å si for graden av proteinuri. I vårt forskningsprosjekt gir de epileptiske krampeanfallene kortvarig men intens muskelaktivitet. Dette kan være årsaken til forøket UPC som sees hos enkelte hunder i denne studien. Knyttet opp mot tidligere nevnte artikler er det trolig intensiteten og ikke lengden på fysisk aktivitet som er den avgjørende faktoren. På grunn av manglende informasjon om, og utfordringer med å vurdere intensiteten til hundenes epileptiske krampeanfall, er det ikke mulig å se denne sammenhengen i vårt forskningsprosjekt. Videre ble urinprøvene i vårt prosjekt tatt på ulike tidspunkt etter siste krampeanfall. Tidligere forskningsartikler har konstatert at proteinuri kan oppstå like etter

trening, men sier lite om hvor lenge denne vedvarer. Dersom alle urinprøvene ble tatt like etter krampeanfall hadde resultatet vært mer sammenlignbart med tidligere studier.

Feilkilder

Ifølge opprinnelig plan skulle alle urinprøver oppbevares i fryser ved enten -80 eller -20 grader celsius. Et uhell førte til strømbrudd for -20°C fryseren, og urinprøvene ble opptint i en periode på 16 timer. På dette tidspunktet var urinanalyse inklusivt kjemisk analyse, maskinell sediment-analyse og estimering av spesifikk vekt allerede utført, og det var kun måling av UPC-ratio som gjensto. Det er gjennomført en studie som undersøker forholdene for oppbevaring av urinprøver for kvantitative og kvalitative vurderinger av proteiner i urinen hos hunder (Theron et al., 2017). Ifølge denne artikkelen kan opptining av frosne urinprøver påvirke resultatet dersom urinprøvene blir holdt i kjøleskaptemperatur over tid (Theron et al., 2017). I deres studie ble 20 proteinuriske og 20 non-proteinuriske prøver oppbevart innledningsvis ved romtemperatur (halvparten ved 20 grader og halvparten ved 4 grader) i 5 dager, og deretter opptil et år ved -20 og -80 grader. Noen av prøvene ble fryst og deretter opptint flere ganger for å se om dette hadde en effekt på UPC-ratio. Artikkelen konkluderer med at UPC-ratio ikke blir påvirket av oppbevaring ved romtemperatur (24 grader) eller ved frysing (Theron et al., 2017). I studien sank derimot UPC-verdiene med 10% hos non-proteinuriske urinprøver (UPC-ratio < 0,5) når prøven ble oppbevart ved 4 grader i 5 dager (Theron et al., 2017). Dette er noe som må tas hensyn til ved vurdering av resultatet. Omtrent halvparten av prøvene ble opptint, og hadde antagelig en temperatur mellom 0 og 24 grader i noen timer. Selv om prøvene hadde en temperatur rundt 4 grader i kortere tid enn de 5 dagene som ble undersøkt i artikkelen, kan ikke en effekt på UPC-ratioen utelukkes. Det hadde vært ønskelig om det ble notert ned hvilke prøver som ble opptint for å undersøke om disse prøvene skilte seg ut fra resten. Dette ble dessverre ikke gjort før analyse av UPC.

En annen mulig feilkilde i studien er tilfeldigheter grunnet lavt prøveantall. Med kun 23 innsamlede urinprøver vil individuelle variasjoner blant annet vedrørende potensiell uoppdaget sykdom kunne gi store utslag på resultatet. Dette gir en økt usikkerhet knyttet til data fra studien, og gjør det mer utfordrende å trekke en konklusjon. Ved et større utvalg ville eventuelle tilfeldigheter som skiller seg ut, ikke hatt like stor innvirkning på resultatet. Denne studien baserer seg på stikkprøver. Dermed er det utfordrende å skille mellom normalvariasjon og patologiske forandringer. Dersom det var flere urinprøver med i studien ville urinprøver som var utenfor normalfordelingen hatt mindre innvirkning, da de fleste prøvene vil vært normalfordelt. Et større utvalg ville også beriket studien med et større mangfold av raser, kjønn, alder og reproduksjonsstatus. Det ville dermed blitt mulig å undersøke variasjoner og tendenser innenfor disse kategoriene i forhold til proteinuri i etterkant av et epileptisk anfall.

Det må tas høyde for at stress kan ha hatt en innvirkning på proteinmengden i urin (Grauer, 2022a). Alle urinprøvene ble gjennomført på NMBU Dyresykehuset smådyr etter en forhudsvask eller vaginalvask. Dette kan oppleves stressende for pasienten, og som tidligere nevnt kan stress være en årsak til en funksjonell renal proteinuri (Grauer, 2022a). Dersom eier hadde tatt urinprøven hjemme uten de stressende omgivelsene i forbindelse med et sykehusbesøk, kunne resultatene blitt annerledes. Bakgrunnen for at prøvene er tatt på dyresykehuset er for å minimere risikoen for tilfeldige feil ved prøvetakning som kan oppstå når ulike eiere utfører dette på forskjellig vis. Mulige feil dette inkluderer er blant annet ikke-tilfredsstillende hygiene, ulik tidsperiode fra prøvetakning til undersøkelse eller feil ved oppbevaring. Videre ville dette vært avhengig av eiers motivasjon og kunnskap. Denne

feilkilden vektlegges lite i studien ettersom hundene ikke virket merkbart stresset eller ubekvem ved prøvetakning.

Urin-protein-kreatin ratio påvirkes av en rekke faktorer, men det er usikkert i hvilken grad. Tilstedeværelse av blod og tegn til inflammasjon i urinen kan gi et falskt forhøyet resultat (Jillings et al., 2019). I hvilken grad disse faktorene påvirker målingen av UPC, var avgjørende for hvilke inklusjons- og eksklusjonskriterier som var satt i forkant av studien. Det er en rekke ulike studier som ser på påvirkningen blod og inflammasjon har på UPC ratio. I en studie ble prøver av spontanurin samlet inn fra 18 hunder, som alle hadde en UPC $<0,2$. Det ble i tillegg tatt venøse blodprøver av de samme hundene, som ble tilsatt i urinprøvene for å se sammenheng med % blod tilsatt, makroskopisk vurdering og UPC-ratio. Det ble tilsatt 0,125-5% blod i ulike urinprøver. Den makroskopiske vurdering var basert på en observatør som klassifiserte urinprøvene som enten gul, ferskenfarget, oransje, oransje/rød eller rød. Studien konkluderte med at blodkontaminasjon $>0,125\%$ gir en økning i UPC, men dersom det kun er en mikroskopisk hematuri vil det være særdeles usannsynlig at en UPC $>0,5$ utelukkende skyldes hematurien (Jillings et al., 2019). I en annen studie konkluderes det også med at selv mikroskopisk hematuri vil kunne påvirke UPC-ratio i noen grad (Vientos-Plotts et al., 2018). Det er store utslag på UPC ($>0,5$) i begge studiene ved makroskopisk hematuri (Jillings et al., 2019; Vientos-Plotts et al., 2018). I denne studien er pasienter med makroskopisk hematuri ekskludert, da dette interferer med UPC-ratio. Ideelt skulle også pasienter med mikroskopisk hematuri blitt ekskludert, men for å bevare et tilstrekkelig utvalg i studien ble disse prøvene beholdt.

Urinanalysene foretatt i denne studien inkluderte makroskopisk vurdering, kjemisk analyse av urinen ved urinstix, maskinell sedimentanalyse ved bruk av Sedivue, estimering av spesifikke

vekt med refraktometer og utregning av UPC-ratio. Det er ikke utført mikroskopisk undersøkelse av tørr- og våtpreparat av urinen. Derfor er vurderingene i forhold til mengde røde blodceller, hvite blodceller og bakterier tatt ut ifra overnevnte tester. Ved påvisning eller mistanke om kokker eller staver etter maskinell sedimentanalyse, ble bildene i den maskinelle rapporten evaluert manuelt. Ettersom det ikke er utført manuell mikroskopisk evaluering av disse urinprøvene, vil man ikke kunne garantere for at det har blitt oversett enkelte områder med bakterier eller annen kontaminasjon. Dette vil kunne gi en falsk forhøyet UPC, og må tas høyde for ved vurdering av studien (Roura, Elliott & Grauer, 2017a).

En ytterligere feilkilde er at man ikke kan utelukke at noen av hundene kan ha hatt epileptiske krampeanfallet som eier ikke oppdaget. Tid fra anfall til innsamling av urin vil i disse tilfellene ikke representere sannheten, og gi misvisende resultater. Eiere til hunder med epilepsi blir ofte godt kjent med hvordan deres hund er i perioden før, under og etter et anfall. Det er derfor sannsynlig at eier kan mistenke at et anfall har skjedd selv om de ikke selv har observert det. Enkelte hunder viser derimot lite tegn under den preiktale og postiktale fasen, og kan dermed ha anfall uten at eier får mistanke om det. Denne feilkilden er utfordrende å kontrollere, da man trenger svært motiverte og fleksible eiere som kan følge med på hunden hele tiden i løpet av studieperioden. En må derfor i denne studien ta høyde for en viss usikkerhet knyttet til lengden fra sist krampeanfallet til innsamling av urin.

Dersom en lignende studie skal gjennomføres i fremtiden vil null-prøver, og deretter urinprøver med faste tidsintervaller for hvert individ være å anbefale. På den måte kan null-prøvene for hver hund fungere som kontroll ved vurdering av fremtidige prøver. Videre vil et større utvalg styrke eventuelle funn, og gjøre det lettere å tyde forskjell på normalvariasjon og

patologiske forandringer. Både blodprøver og urinprøver bør undersøkes for å kunne oppdage andre årsaker til proteinuri, og minimere risiko for feilkilder ved avlesning av UPC. Til slutt vil bruken av en kontrollgruppe med friske kontroll hunder fra samme populasjon være til hjelp for å verifisere funn.

Konklusjon

Proteinuri som følge av krampeanfall kan ifølge denne studien verken bekreftes eller utelukkes. Flere av prøvene i denne studien ble analysert til å være borderline proteinuriske eller proteinuriske, og gir en indikasjon på at det kan være en sammenheng. Økningen av UPC-ratio ser ut til å avhenge av tidsintervallet fra siste krampeanfall. Studien inneholder dog et lite prøveantall, og kun enkeltprøver fra ulike hunder. Dette gir ikke nok informasjon til å verifisere en økning i grad av proteinuri hos det enkelte individet.

Takk til bidragsytere

Vi vil gjerne takke våre veiledere Heidi Sjetne Lund og Josefin Hultman for tett oppfølging på oppgaven. Vi har satt pris på deres ærlige og konkrete tilbakemeldinger, og ikke minst raske svar på e-post. Denne oppgaven tar for seg to spennende fagfelt, og hadde ikke vært mulig uten våre to kunnskapsrike, inspirerende og råde veiledere.

Summary

Title: Proteinuria in dog with epileptic seizures

Authors: Louisa Jane Berntsen, Aurora Hopen

Supervisors: Josefin Hultman, Heidi Sjetne Lund, Department of Companion Animal
Clinical Sciences

This cross-sectional study examines the possible correlation between epileptic seizures and proteinuria. Veterinary clinicians have seen a higher frequency of proteinuria in epileptic patients, but there is minimal research in this field. The aim of this study was to determine whether proteinuria can occur in the period after an epileptic seizure, and if so, to what degree.

In 2023, 39 free catch urine samples were collected at the Norwegian University of Life Sciences Small Animal Hospital. Of these, 23 samples from 19 different dogs met the inclusion criteria for study participation. The urine samples were evaluated with macroscopic, chemical, and automatic sediment analysis, and later sent to an external laboratory, Sentrallaboratoriet, for evaluation of the urine protein creatinine ratio (UPC-ratio).

The majority of urine samples were within the normal range of UPC-ratio. A total of 9 samples were borderline proteinuric, and 3 samples are proteinuric. All proteinuric urine samples were collected within 1-5 days after an epileptic seizure. Due to the small sample size results from this study can be misleading. Based on the results from this project, further research including base line UPC analysis prior to seizures and several UPC measurements of each patient at set timepoints after a seizure would be of interest to increase our understanding of possible proteinuria in dogs with epileptiform seizures.

Referanser

- Alleman, R. & Wamsley, H. (2017). Specific chemical testing of the urine. I: *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*, s. 67. UK: British Small Animal Veterinary Association.
- Arne Borthne, M. B. *MR-undersøkelse*. Store Medisinske Leksikon Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/MR-unders%C3%B8kelse> (lest 25.04).
- Bellinghieri, G., Savica, V. & Santoro, D. (2008). Renal alterations during exercise. *J Ren Nutr*, 18 (1): 158-64. doi: 10.1053/j.jrn.2007.10.031.
- Berendt, M., Farquhar, R. G., Mandigers, P. J., Pakozdy, A., Bhatti, S. F., De Risio, L., Fischer, A., Long, S., Matiasek, K., Munana, K., et al. (2015). International veterinary epilepsy task force consensus report on epilepsy definition, classification and terminology in companion animals. *BMC Vet Res*, 11: 182. doi: 10.1186/s12917-015-0461-2.
- Bexfield, N. H., Heiene, R., Gerritsen, R. J., Risoen, U., Eliassen, K. A., Herrtage, M. E. & Michell, A. R. (2008). Glomerular filtration rate estimated by 3-sample plasma clearance of iohexol in 118 healthy dogs. *J Vet Intern Med*, 22 (1): 66-73. doi: 10.1111/j.1939-1676.2007.0035.x.
- Blod i urinen*. (2023). Norsk Helseinformatikk. Tilgjengelig fra: <https://nhi.no/symptomer/nyrer-og-urinveier/blod-i-urinen-veiviser> (lest 25.04).
- Brauer, C., Jambroszyk, M. & Tipold, A. (2011). Metabolic and toxic causes of canine seizure disorders: A retrospective study of 96 cases. *Vet J*, 187 (2): 272-5. doi: 10.1016/j.tvjl.2009.10.023.
- Braun, J., Lefebvre, H. & Watson, A. (2003). Creatinine in the dog: a review. *Veterinary Clinical Pathology*, 32 (4): 162-179.
- Braun, J. P., Lefebvre, H. P. & Watson, A. D. (2003). Creatinine in the dog: a review. *Vet Clin Pathol*, 32 (4): 162-79. doi: 10.1111/j.1939-165x.2003.tb00332.x.
- Byron, J. (2017). *Diagnostic approach to the incontinent patient*. Third edition utg. BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology.
- Charalambous, M., Munana, K., Patterson, E. E., Platt, S. R. & Volk, H. A. (2024). ACVIM Consensus Statement on the management of status epilepticus and cluster seizures in dogs and cats. *J Vet Intern Med*, 38 (1): 19-40. doi: 10.1111/jvim.16928.
- Cridge, H. & Lathan, R. W. W. P. (2018). Correlation between urine color and urine specific gravity in dogs: Can urine color be used to identify concentrated urine? *National Library of Medicine*.
- D L Oosterom, M. G. H. B. (2006). Exertion-related abnormalities in the urine. *PubMed*.
- De Risio, L., Bhatti, S., Munana, K., Penderis, J., Stein, V., Tipold, A., Berendt, M., Farquhar, R., Fischer, A., Long, S., et al. (2015). International veterinary epilepsy task force consensus proposal: diagnostic approach to epilepsy in dogs. *BMC Vet Res*, 11: 148. doi: 10.1186/s12917-015-0462-1.
- Devinsky, O. (2004). Effects of Seizures on Autonomic and Cardiovascular Function. *Epilepsy Currents*, 4 (2): 43-46. doi: 10.1111/j.1535-7597.2004.42001.x.
- Eisenbrandt, D. L. & Phemister, R. D. (1979). Postnatal development of the canine kidney: quantitative and qualitative morphology. *Am J Anat*, 154 (2): 179-93. doi: 10.1002/aja.1001540205.
- Finch, N. & Heiene, R. (2017). Early detection of chronic kidney disease. I: *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*, s. 134-141. UK: British Small Animal Veterinary Association.
- Fine, L. G. & Salehmoghaddam, S. (1990). Proteinuria. I: *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. Boston.

- Fisher, R. S., van Emde Boas, W., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P. & Engel, J., Jr. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 46 (4): 470-2. doi: 10.1111/j.0013-9580.2005.66104.x.
- Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., Engel, J., Jr., Forsgren, L., French, J. A., Glynn, M., et al. (2014). ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55 (4): 475-82. doi: 10.1111/epi.12550.
- Grauer, G. F. (2019). *Utility of Creatinine, UPC, and SDMA in the Early Diagnosis of CKD in dogs and cats*. Kansas State University, Manhattan, Kansas: International Renal Interest Society. Tilgjengelig fra: http://www.iris-kidney.com/education/utility_creatine_early_diagnosis_ckd.html (lest 25.04).
- Grauer, G. F. (2022a). *Measurement and interpretation of proteinuria and albuminuria*. Manhattan, KS, USA: International Renal Interest Society. Tilgjengelig fra: <http://www.iris-kidney.com/education/education/proteinuria.html> (lest 25.04).
- Grauer, G. F. (2022b). *Proteinuria*. Manhattan, KS, USA: International Renal Interest Society. Tilgjengelig fra: <http://www.iris-kidney.com/education/proteinuria.html> (lest 27.04).
- Guillaumin, J. (2021). *Use of Human Albumin*. Colorado State University: VIN. Tilgjengelig fra: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=27294&catId=168710&id=10271817&ind=7&objTypeID=17>.
- Hall, R., Labruyere, J., Volk, H. & Cardy, T. J. (2020). Estimation of the prevalence of idiopathic epilepsy and structural epilepsy in a general population of 900 dogs undergoing MRI for epileptic seizures. *Vet Rec*, 187 (10): e89. doi: 10.1136/vr.105647.
- Harley, L. & Langston, C. (2012). Proteinuria in dogs and cats. *The Canadian veterinary journal*, 53 (6): 631-638.
- Heiene, R. & Lefebvre, H. (2013). *Glomerular filtration rate in dogs and cats*: International Renal Interest Society. Tilgjengelig fra: <http://www.iris-kidney.com/education/education/gfr.html> (lest 26.04).
- Heiene, R. (2022). *Interpreting blood creatinine concentration in dogs*. Oslo, Norway: International Renal Interest Society. Tilgjengelig fra: http://www.iris-kidney.com/education/education/creatinine_dogs.html (lest 25.04).
- Heske, L., Nødtvedt, A., Jäderlund, K. H., Berendt, M. & Egenvall, A. (2014). A cohort study of epilepsy among 665,000 insured dogs: incidence, mortality and survival after diagnosis. *The Veterinary Journal*, 202 (3): 471-476. doi: 10.1016/j.tvjl.2014.09.023.
- Holck, P. (2021). *Glomerulus*. Universitetet i Oslo: Store Medisinske Leksikon.
- Holck, P. (2023). *Nyrene*: Store Medisinske Leksikon. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/nyrene> (lest 26.04).
- Hoskins, J. D., Turnwald, G. H., Kearney, M. T., Gossett, K. A. & Fakier, N. (1991). Quantitative urinalysis in kittens from four to thirty weeks after birth. *American journal of veterinary research*, 52 (8): 1295-1299.
- Irmen, F., Wehner, T. & Lemieux, L. (2015). Do reflex seizures and spontaneous seizures form a continuum? - triggering factors and possible common mechanisms. *Seizure*, 25: 72-9. doi: 10.1016/j.seizure.2014.12.006.
- J B Epstein, E. J. Z. (1979). Proteinuria in the exercising dog. *PubMed*.
- Jepson, R. (2017). Polyuria og polydipsia. I: *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*, s. 13. UK: British Small Animal Veterinary Association.
- Jepson, R. E. (2017). *Proteinuria in Dogs and Cats*. Veterinary Information Network: World Small Animal Veterinary Association Congress Proceeding. Tilgjengelig fra: <https://www.vin.com/doc/?id=8506238> (lest 26.04).

- Jillings, E., Squires, R. A., Azarpeykan, S. & Lopez-Villalobos, N. (2019). Does blood contamination of urine compromise interpretation of the urine protein to creatinine ratio in dogs? *N Z Vet J*, 67 (2): 74-78. doi: 10.1080/00480169.2018.1556129.
- Joles, J. A., Sanders, M., Velthuisen, J., Den Hertog, J. M. & Van Dijk, C. (1984). Proteinuria in intact and splenectomized dogs after running and swimming. *Int J Sports Med*, 5 (6): 311-316. doi: 10.1055/s-2008-1025923.
- Kearsley-Fleet, L., O'Neill, D., Volk, H., Church, D. & Brodbelt, D. (2013). Prevalence and risk factors for canine epilepsy of unknown origin in the UK. *Veterinary Record*, 172 (13): 338. doi: 10.1136/vr.101133.
- Klosterman, E. S. & Pressler, B. M. (2011). Nephrotic syndrome in dogs: clinical features and evidence-based treatment considerations. *Top Companion Anim Med*, 26 (3): 135-142. doi: 10.1053/j.tcam.2011.04.004.
- König, H. E. & Liebich, H.-G. (2014). Functional units of the kidney. I: *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals*, s. 402-404. Tyskland: Schattauer.
- Lane, I. F., Shaw, D. H., Burton, S. A. & Donald, A. W. (2000). Quantitative urinalysis in healthy Beagle puppies from 9 to 27 weeks of age. *American Journal of Veterinary Research*, 61 (5): 577-581. doi: 10.2460/ajvr.2000.61.577.
- Lees, G. E., Brown, S. A., Elliott, J., Grauer, G. F. & Vaden, S. L. (2005). Assessment and Management of Proteinuria in Dogs and Cats: 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (Small Animal). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19 (3): 377-385. doi: 10.1111/j.1939-1676.2005.tb02713.x.
- Liffman, R., Courtman, N., Tennent-Brown, B. & Johnstone, T. (2020). Urine creatinine concentration and urine protein-to-creatinine ratios in healthy nonracing Greyhounds. *Veterinary clinical pathology*, 49 (2): 270-278. doi: 10.1111/vcp.12856.
- Littman, M. P., Daminet, S., Grauer, G. F., Lees, G. E., van Dongen, A. M. & Subgroup, I. C. G. S. G. D. (2013). Consensus recommendations for the diagnostic investigation of dogs with suspected glomerular disease. *Journal of veterinary internal medicine*, 27 Suppl 1: 19-26. doi: 10.1111/jvim.12223.
- Maddison, J. E. (2008). Interpreting the Numbers, Azotemia and Urine Specific Gravity.
- O'Neill, D. G., Elliott, J., Church, D. B., McGreevy, P. D., Thomson, P. C. & Brodbelt, D. C. (2013). Chronic kidney disease in dogs in UK veterinary practices: prevalence, risk factors, and survival. *J Vet Intern Med*, 27 (4): 814-21. doi: 10.1111/jvim.12090.
- Ramakrishnan, N. & Jialal, I. (2023). *Bence-Jones Protein*: StatPearls Publishing.
- Roura, X., Elliott, J. & Grauer, G. F. (2017a). Proteinuria. I: *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*, s. 50-59. UK: British Small Animal Veterinary Association.
- Roura, X., Elliott, J. & Grauer, G. F. (2017b). Proteinuria. I: *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*, s. 54. UK: British Small Animal Veterinary Association.
- Rudinsky, A., Cortright, C., Purcell, S., Cordner, A., Lord, L., Wellman, M., DiBartola, S. & Chew, D. (2019). Variability of first morning urine specific gravity in 103 healthy dogs. *J Vet Intern Med*, 33 (5): 2133-2137. doi: 10.1111/jvim.15592.
- Segev, G. (2022). *Biomarkers of urinary tract disease: potential utilities*. Koret School of Veterinary Medicine, Hebrew University of Jerusalem, Israel: International Renal Intrest Society. Tilgjengelig fra: http://www.iris-kidney.com/education/education/renal_biomarkers.html (lest 25.04).
- Sjaastad, Ø. V., Sand, O. & Hove, K. (2016a). Function of the Glomerulus. I: *Physiology of Domestic Animals*, s. 559-560. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Sjaastad, Ø. V., Sand, O. & Hove, K. (2016b). Function of the Glomerulus. I: *Physiology of Domestic Animals*, s. 560. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.

- Sjaastad, Ø. V., Sand, O. & Hove, K. (2016c). The kidneys. I: *Physiology of Domestic Animals*, s. 557. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Sjaastad, Ø. V., Sand, O. & Hove, K. (2016d). The kidneys. I: *Physiology of Domestic Animals*, s. 555-558. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Sjaastad, Ø. V., Sand, O. & Hove, K. (2016e). Tubular function. I: *Physiology of Domestic Animals*, s. 581-582. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Sjaastad, Ø. V., Sand, O. & Hove, K. (2016f). Tubular function. I: *Physiology of Domestic Animals*, s. 570-577. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Smyroglou, E. D., Athanasiou, L. V., Baka, R. D. & Polizopoulou, Z. S. (2023). Comparative Evaluation between Visual and Automated Dipstick Urinalyses in Dogs. *Veterinary Sciences*, 10 (4): 284. doi: 10.3390/vetsci10040284.
- Spinella, G., Valentini, S., Matarazzo, M., Tidu, L., Ferlizza, E., Isani, G. & Andreani, G. (2023). Effects of exercise on urinary biochemical parameters and proteins in a group of well-trained military working dogs. *Vet Q*, 43 (1): 1-9. doi: 10.1080/01652176.2023.2241551.
- Syme, H. (2019). *CKD Early Diagnosis*. London: International Renal Interest Society. Tilgjengelig fra: http://www.iris-kidney.com/education/education/early_diagnosis.html (lest 25.04).
- Tastensen, C., Gutmann, S., Loderstedt, S., Flegel, T., Demeny, H. & Baum, P. (2024). Prevalence of nonconvulsive seizures and nonconvulsive status epilepticus in dogs and cats with a history of cluster seizures: A retrospective study. *J Vet Intern Med*, 38 (1): 238-246. doi: 10.1111/jvim.16953.
- Theron, M. L., Plane, L., Lucarelli, L., Henrion, R., Layssol-Lamour, C., Palanche, F., Concordet, D., Braun, J. D., Trumel, C. & Lavoue, R. (2017). Effects of storage conditions on results for quantitative and qualitative evaluation of proteins in canine urine. *Am J Vet Res*, 78 (8): 990-999. doi: 10.2460/ajvr.78.8.990.
- Veliskova, J. (2006). *Models of Seizures and Epilepsy*. ScienceDirect.
- Vientos-Plotts, A. I., Behrend, E. N., Welles, E. G., Chew, D. J., Gaillard, P. R., Busler, J. N. & Lee, H. P. (2018). Effect of blood contamination on results of dipstick evaluation and urine protein-to-urine creatinine ratio for urine samples from dogs and cats. *Am J Vet Res*, 79 (5): 525-531. doi: 10.2460/ajvr.79.5.525.
- Volk, H. A. (2015). International Veterinary Epilepsy Task Force consensus reports on epilepsy definition, classification and terminology, affected dog breeds, diagnosis, treatment, outcome measures of therapeutic trials, neuroimaging and neuropathology in companion animals. *BMC Veterinary Research*, 11 (1). doi: 10.1186/s12917-015-0460-3.
- Watson, A., Lefebvre, H. & Elliott, J. (2022). *Urine Specific Gravity*. UK: International Renal Interest Society. Tilgjengelig fra: http://www.iris-kidney.com/education/urine_specific_gravity.html.



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Postboks 5003
NO-1432 Ås
67 23 00 00
www.nmbu.no