



UNIVERSITÀ DI PARMA

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA

DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE MEDICO-VETERINARIE

CICLO XXXI

Dimetilarginina simmetrica (SDMA) nei gatti ipertiroidi
Symmetric dimethylarginine (SDMA) in hyperthyroid cats

Coordinatore:

Chiar.mo Prof. Paolo Martelli

Tutore:

Chiar.mo Prof.ssa Serena Crosara

Dottorando: Dott. Andrea Corsini

Anni 2015/2018

INDICE

ABSTRACT	3
RIASSUNTO	5
1.INTRODUZIONE	7
1.1 Ipertiroidismo felino	7
<i>Eziopatogenesi</i>	7
<i>Aspetti clinici e clinico-patologici</i>	8
<i>Diagnosi</i>	10
<i>Terapia e prognosi</i>	11
1.2 Ipertiroidismo felino e funzionalità renale	14
1.3 Dimetilarginina simmetrica (SDMA)	16
<i>Dimetilarginine in medicina umana</i>	16
<i>Dimetilarginina simmetrica (SDMA) in medicina veterinaria</i>	17
2. IPOTESI E OBIETTIVI DELLO STUDIO	19
3. MATERIALI E METODI	20
<i>Design dello studio</i>	20
<i>Popolazione</i>	20
<i>Analisi dei campioni</i>	22
<i>Analisi statistica</i>	22
4. RISULTATI	23
<i>Dati all'inclusione</i>	23
<i>Dati al follow-up</i>	28
5. DISCUSSIONE	34
6. CONCLUSIONI	39
BIBLIOGRAFIA	40

ABSTRACT

Hyperthyroidism and chronic kidney disease (CKD) are two of the most common disease in old-aged cat population. Hyperthyroidism leads to a decrease in serum creatinine (sCr) by increasing glomerular filtration rate (GFR) and decreasing body muscle mass. This can mask a concurrent CKD that might become evident after the onset of treatment. Symmetric dimethylarginine (SDMA) is a novel, early, renal biomarker independent of body muscle mass, therefore it might be a useful marker of renal disease in hyperthyroid cats.

The aim of this study was to evaluate if SDMA was affected by hyperthyroidism and if it would change after methimazole treatment. Moreover, the aim was also to evaluate if SDMA could be a valuable biomarker for the early detection of patients that would develop CKD after methimazole treatment.

Twenty-four hyperthyroid cats [serum total thyroxin (T_4) >40 mmol/L] with normal sCr (<1.8 mg/dL) were included. Eighteen healthy cats, older than 7 years, with normal T_4 and sCr <1.8 mg/dL were enrolled as control group. Data about physical exam, emogram, serum biochemistry and T_4 concentrations were evaluated. SDMA was measured on the left over serum from previous analyzes and stored at -20°C. SDMA measurement was performed on serum samples collected at the time of diagnosis of hyperthyroidism and after methimazole treatment between 14 days to 3 months days after start of treatment; follow-up was available for 10/24 hyperthyroid cats. SDMA was measured using a validated immunoassay (IDEXX SDMA test).

Hyperthyroid cats were older ($p=0.001$) and had a lower body weight (BW) ($p<0.0001$) than control cats. In hyperthyroid cats sCr was positively correlated with SDMA both at diagnosis and after treatment, but correlation was stronger after treatment ($r=0.49$, $p=0.01$ vs $r=0.82$, $p=0.005$). No correlation was found between SDMA and T_4 at diagnosis ($r=-0.32$; $p=0.12$). In hyperthyroid cats BW was not correlated with sCr, nor with SDMA. There was no difference for sCr between hyperthyroid cats and controls at diagnosis ($p=0.3$). Creatinine ($p=0.006$) and BW ($p=0.015$) significantly increased after treatment. No difference was found when comparing SDMA in hyperthyroid and control cats both

at diagnosis ($p=0.11$) and after treatment ($p=0.28$); however, SDMA decrease in 7/10 cats after treatment. Six hyperthyroid cats had SDMA value higher than reference range at diagnosis. In these cats follow-up after treatment was available for 2/6 only; in both these 2 cats when T4 was normal sCr was slightly increased and SDMA was decreased. Based on this study results feline hyperthyroidism seems not to influence SDMA concentration by itself. Correlation between SDMA and creatinine was confirmed also in hyperthyroid population. Further studies are needed to better define the role of SDMA as biomarker of CKD in hyperthyroid cats.

RIASSUNTO

L'ipertiroidismo e la malattia renale cronica (MRC) sono due delle patologie più comuni nel gatto anziano. A causa dell'aumento della velocità di filtrazione glomerulare (GFR) e della diminuzione della massa muscolare, l'ipertiroidismo porta ad una diminuzione della creatinina sierica (sCr). Questo può mascherare una eventuale MRC concomitante, che può manifestarsi in seguito all'inizio della terapia. La dimetilarginina simmetrica (SDMA) è un nuovo biomarker renale precoce, indipendente dalla massa muscolare, che potrebbe quindi risultare utile per diagnosticare una malattia renale in corso di ipertiroidismo.

L'obiettivo di questo studio era di valutare se l'SDMA fosse influenzata dall'ipertiroidismo e se la sua concentrazione variasse in seguito a terapia con metimazolo. Si voleva inoltre valutare se l'SDMA potesse essere un biomarker valido per individuare precocemente i pazienti che avrebbero sviluppato MRC iperazotemica dopo la terapia con metimazolo.

Sono stati inclusi 24 gatti ipertiroidei [tiroxina totale sierica (T_4) > 40 mmol/L] con sCr normale (<1.8 mg/dL). Diciotto gatti sani, di età superiore a 7 anni, con T_4 normale e sCr >1.8 mg/dL sono stati reclutati come gruppo di controllo. Sono stati analizzati i dati relativi a esame fisico, esame emocromocitometrico, biochimica sierica e concentrazioni di T_4 . L'SDMA è stata misurata sul siero avanzato dalle analisi precedenti stoccato a -20°C fino al momento della misurazione. Le misurazioni dell'SDMA sono state eseguite su campioni di siero prelevati al momento della diagnosi di ipertiroidismo e in seguito al trattamento con metimazolo, dai 14 giorni ai 3 mesi dopo l'inizio della terapia; è stato ottenuto un follow-up per 10/24 gatti ipertiroidei. L'SDMA è stata misurata mediante un metodo immunoenzimatico validato (IDEXX SDMA test).

I gatti ipertiroidei sono risultati più anziani ($p=0.001$) e con un peso corporeo inferiore ($p<0.0001$) rispetto ai gatti del gruppo di controllo. Nei gatti ipertiroidei la sCr è risultata correlata positivamente con l'SDMA, sia alla diagnosi che dopo il trattamento, sebbene la correlazione sia risultata più forte dopo il trattamento ($r=0.49$, $p=0.01$ vs $r=0.82$, $p=0.005$). Non è stata individuata nessuna correlazione tra SDMA e T_4 alla diagnosi ($r=-$

0.32, $p=0.12$). Nei gatti ipertiroidei, il peso corporeo non è risultato correlato con la sCr né con l'SDMA. La sCr non è risultata differente tra il gruppo ipertiroidei alla diagnosi e il gruppo controllo ($p=0.3$).

La creatinina sierica ($p=0.006$) e il peso corporeo ($p=0.015$) sono aumentati in seguito al terapia. Non sono state individuate differenze tra l'SDMA nei gatti ipertiroidei e nei gatti di controllo sia alla diagnosi ($p=0.11$) che dopo il trattamento ($p=0.28$); tuttavia, l'SDMA è diminuita in 7/10 gatti in seguito alla terapia. Sei gatti ipertiroidei avevano SDMA superiore all'intervallo di riferimento alla diagnosi. In questi 6 gatti il follow-up dopo il trattamento era disponibile solo per 2; in entrambi, alla normalizzazione dello stato tiroideo, la sCr è lievemente aumentata e l'SDMA è diminuita.

Secondo i risultati di questo studio l'ipertiroidismo felino non sembra influenzare indipendentemente la concentrazione di SDMA. La correlazione tra SDMA e creatinina è stata confermata anche nella popolazione di gatti ipertiroidei. Sono necessari ulteriori studi per definire con maggior precisione il ruolo dell'SDMA come biomarker di MRC nei gatti ipertiroidei.

1.INTRODUZIONE

1.1 Ipertiroidismo felino

L'ipertiroidismo spontaneo felino (ITF) è una condizione clinica causata da una eccessiva produzione di ormoni tiroidei, tiroxina (T4) e triiodotirodina (T3), da parte delle ghiandole tiroidee. La prima descrizione della patologia nel gatto risale al 1979 [1] e da allora è stata riconosciuta con sempre maggior frequenza. Ad oggi rappresenta la più comune endocrinopatia felina e una delle patologie più comuni nel gatto.

Eziopatogenesi

Nell'uomo le due forme più comuni di ipertiroidismo sono la sindrome di Basedow-Graves e il gozzo tossico nodulare (malattia di Plummer). Nel gatto l'ipertiroidismo è solitamente causato da forme di iperplasia adenomatosa multi-nodulare o adenomi della tiroide, più comunemente bilaterali, comparabili al gozzo tossico nodulare umano con cui condivide caratteri istopatologici[2]. In entrambi i casi, l'eccesso di ormoni tiroidei deriva da una iperattività su base autonoma della ghiandola tiroide, a differenza di quanto accade nella sindrome di Basedow-Graves dove lo stato ipertiroideo è causato dalla presenza di autoanticorpi leganti i recettori tiroidei del TSH. Un percentuale minima di casi, stimata intorno al 1-3%, origina da carcinomi tiroidei[3]. La sindrome di Basedow-Graves e altre forme meno comuni di ipertiroidismo dell'uomo non sono invece ad oggi descritte nel gatto.

Nel corso degli anni diversi studi hanno cercato di individuare le cause alla base della iperplasia adenomatosa delle tiroidee del gatto, arrivando a definire l'ipertiroidismo felino una patologia ad eziologia multifattoriale[3]. Alcuni fattori ambientali tipici di uno stile di vita casalingo, quali l'utilizzo di lettiera o un'alimentazione con cibo in scatola, sono stati associati ripetutamente all'insorgenza di ipertiroidismo. Si ipotizza che il tipo di dieta favorisca lo sviluppo della malattia per la presenza nell'alimento commerciale di fattori goitrogeni o di squilibri nutrizionali[4]. I fattori goitrogeni sono sostanze chimiche

ambientali (bisfenolo A, polibromodifenileteri) ad elevata affinità strutturale con la tiroxina, in grado di alterare per mezzo di diversi meccanismi il normale funzionamento della tiroide. Sulla base degli studi pubblicati non è tuttavia possibile definire con esattezza il ruolo di questi fattori nella patogenesi della malattia[4-11].

Le ipotesi eziologiche proposte potrebbero incidere nell'andamento storico della malattia e nel progressivo aumento della prevalenza negli ultimi 30 anni. L'esposizione ai fattori di rischio citati è divenuta sempre maggiore nel corso degli anni, di pari passo con la modifica nello stile di vita della specie felina sempre più spesso caratterizzato da un ambiente casalingo e da una dieta commerciale. Tale andamento può essere in parte correlato al miglioramento delle capacità diagnostiche.

Ad oggi l'ipertiroidismo rappresenta una patologia comune del gatto anziano, con una prevalenza stimata attorno al 6% nella popolazione di gatti > 9 anni di età [12]. Meno del 5% dei casi è diagnosticato in gatti sotto gli 8 anni di età[3]. I gatti di razza, in particolare Siamese e Himalayano, mostrano minor rischio di sviluppare la malattia[3,13].

Aspetti clinici e clinico-patologici

L'eccesso di ormoni tiroidei altera la normale funzionalità di quasi tutti i distretti dell'organismo, pertanto i gatti ipertiroidei possono mostrare un'ampia gamma di sintomi [3]. Perdita di peso e polifagia rappresentano i sintomi più comuni e sono conseguenza dell'aumentata attività metabolica e del maggior dispendio energetico. Nel momento in cui l'incremento nell'assunzione di cibo non è più sufficiente per compensare l'aumento della richiesta energetica e del catabolismo proteico si viene a creare una condizione di bilancio energetico negativo, che porta al consumo delle masse muscolari e al dimagrimento. Poliuria e polidipsia compaiono nel 30-40 % dei casi, in correlazione o meno con alterazioni della funzionalità renale (vedi *Terapia dell'ipertiroidismo e funzionalità renale*) [3,14]. Circa la metà dei gatti ipertiroidei manifesta vomito mentre altri sintomi gastroenterici quali diarrea e anoressia sono meno comuni, spesso presenti in associazione a patologie gastroenteriche primarie. In corso di ipertiroidismo si possono presentare alterazioni comportamentali quali

iperattività, aggressività e nervosismo, legati ad un possibile aumento dell'attività adrenergica. Lo stato ipertiroideo induce una ridotta tolleranza allo stress, motivo per cui situazioni stressanti quali spostamenti o procedure di contenimento durante la visita possono esacerbare i sintomi fino ad indurre crisi dispnoiche che nei casi più gravi possono portare alla morte. Il sistema cardiovascolare risente particolarmente dello stato ipertiroideo. L'eccesso di ormoni induce un incremento dell'inotropismo e del cronotropismo cardiaco che, associato ad una diminuzione delle resistenze periferiche e ad un' aumentata richiesta di ossigeno dai tessuti periferici, porta ad un aumento della gittata cardiaca. Queste alterazioni possono esitare nello sviluppo di una cardiomiopatia ipertrofica secondaria, detta cardiopatia tireotossica. I segni più comuni riscontrabili all'esame fisico sono tachicardia, ritmo di galoppo e la presenza di un soffio sistolico. Circa il 10-20% dei gatti ipertiroidei risulta iperteso al momento della diagnosi. I meccanismi sopracitati sono responsabili dell'ipertensione ma portano solitamente ad aumenti pressori modesti, rendendo infrequente il verificarsi di danno d'organo [15-17]. Altri sintomi riscontrabili in corso di ipertiroidismo sono intolleranza al caldo, alopecia e/o condizioni del pelo scadenti. Un percentuale minima di gatti manifesta una forma di ipertiroidismo definito 'apatico', caratterizzato da debolezza, letargia e calo dell'appetito. È interessante notare come ad oggi i gatti ipertiroidei appaiano meno sintomatici alla presentazione rispetto a quanto fossero in passato. Questo è probabilmente dovuto ad una miglior conoscenza e maggior attenzione nei confronti della patologia che porta ad una diagnosi più precoce [3,18].

Alla visita clinica più del 90% dei gatti ipertiroidei presenta un nodulo tiroideo evidenziabile alla palpazione del collo, sebbene il riscontro del nodulo non indichi necessariamente una condizione di ipertiroidismo [3,19]. In uno studio su 104 gatti geriatrici eutiroidei si è riscontrato un nodulo nel 26% dei casi; il 16% di questi ha sviluppato la patologia nell'arco dei 4 anni successivi [12].

La diagnostica di laboratorio evidenzia frequentemente alterazioni dell'esame delle urine e degli esami ematici, anche in virtù del fatto che i gatti colpiti sono solitamente anziani e possono presentare patologie concomitanti. L'alterazione più frequente all'esame emocromocitometrico è una lieve eritrocitosi, meno comuni sono linfopenia e eosinopenia. Un riscontro comune è l'aumento degli enzimi epatici, nell'80% dei casi l'alanina-amino transferasi (ALT) e in più del 50% la fosfatasi alcalina (ALP). Circa un

quarto dei gatti ipertiroidei è iperazotemico alla diagnosi ed è possibile riscontrare isostenuria e proteinuria di origine renale all'esame delle urine (vedi *Terapia dell'ipertiroidismo e funzionalità renale*) [16,18,20,21].

Diagnosi

La diagnosi di sospetto di ipertiroidismo si basa su segnalamento, segni clinici, alterazioni agli esami di base e presenza di un nodulo tiroideo [3,22].

Il test diagnostico maggiormente utilizzato per confermare la diagnosi è il dosaggio della tiroxina totale (T_4) che mostra elevata sensibilità e specificità, risultando aumentato in più del 90% dei gatti ipertiroidei [23]. Il riscontro di falsi positivi è infrequente ma possibile e va considerato qualora si riscontrino valori di T_4 aumentati in gatti non sintomatici e senza noduli tiroidei. Per questi motivi e per il costo di esecuzione ridotto è anche ampiamente utilizzato come test di screening. Nei casi in cui il sospetto clinico non venga confermato dal dosaggio del T_4 può essere utile ripetere il test dopo due settimane oppure dosare la tiroxina libera (fT_4), preferibilmente usando come metodo o il dosaggio radioimmunologico (RIA) o l'equilibrio dialitico modificato (MED) o la chemiluminescenza (CLIA) [22]. L' fT_4 mostra maggiore sensibilità rispetto al T_4 ma al contempo una minore specificità, motivo per cui può risultare elevato tra il 6% e il 12% dei gatti eutiroidei, in particolare se sono presenti patologie concomitanti [23]. La tiroxina libera deve pertanto sempre essere interpretata in aggiunta e tenendo conto del valore del T_4 , nonché della clinica del paziente. La triiodotironina (T_3) pur risultando aumentata nello stato ipertiroideo non è un test affidabile nella diagnosi a fronte di una bassa sensibilità [18,23].

Il dosaggio dell'ormone stimolante la tiroide (TSH) è utilizzato in medicina umana come test di prima scelta per la diagnosi di ipertiroidismo in quanto aumenti anche minimi del T_4 inibiscono la secrezione di TSH ipofisario tramite un meccanismo di feedback negativo [24]. Non esistono ad oggi metodiche commerciali validate per la misurazione del TSH felino ($fTSH$). È possibile dosare il $fTSH$ utilizzando metodiche validate per la misurazione del TSH canino ($cTSH$), tuttavia tali metodiche non sono sufficientemente accurate per distinguere valori bassi da valori subnormali [25-27]. La quasi totalità dei gatti

ipertiroidei presenta valori di TSH non misurabile ma questo può avvenire anche in un 30% di gatti anziani non ipertiroidei [25,27]. Il TSH nel gatto è quindi da considerarsi un test altamente sensibile ma con una pessima specificità. Per questo motivo il riscontro di valori di TSH misurabili è stato proposto, meglio se in associazione a T4 e fT4, come criterio per escludere l'ipertiroidismo in casi dubbi [12,27].

Qualora persistano dubbi è possibile ricorrere alla scintigrafia tiroidea o a test ormonali dinamici, metodiche ritenute il gold standard [3,28]. Nonostante l'efficacia questi test non sono eseguiti di routine a fronte dei costi elevati e delle limitate disponibilità, in particolare per quanto riguarda la scintigrafia.

Terapia e prognosi

L'ipertiroidismo felino può essere trattato con terapia farmacologica, radioterapia metabolica, terapia chirurgica e terapia dietetica. La scelta del trattamento si basa su diversi fattori ma, a prescindere dall'approccio scelto, è fondamentale trattare il paziente in quanto, se non trattato, l'ipertiroidismo progredisce deteriorando le condizioni cliniche del paziente fino alla morte [3].

La terapia farmacologica prevede l'utilizzo di farmaci antitiroidei quali metimazolo e il suo precursore carbimazolo, che contrastano reversibilmente la produzione ormonale da parte della tiroide inibendo l'enzima tireoperossidasi [29]. I farmaci antitiroidei sono solitamente somministrati per via orale e risultano efficaci nel trattare lo stato ipertiroideo nell'arco di 2-4 settimane. Gli effetti collaterali più comuni sono gastroenterici (vomito, anoressia, diarrea e letargia) e spesso sono transitori. Raramente possono comparire effetti collaterali ematologici gravi (trombocitopenia, agranulocitosi, diatesi emorragica, grave epatopatia) [29]. Un'alternativa alla somministrazione orale, qualora compaiano segni gastroenterici non tollerabili o il proprietario non riesca a somministrare il farmaco, è la somministrazione di metimazolo transdermico [30,31]. Questa via può richiedere circa 4 settimane per il raggiungimento dell'eutiroidismo e non riduce il rischio di effetti collaterali non gastroenterici [32,33]. La terapia farmacologica non è una terapia definitiva e permette il progredire della patologia che può comportare la necessità di progressivi aumenti di dosaggio.

Sia la radioterapia metabolica che la terapia chirurgica rappresentano invece approcci terapeutici definitivi. Al fine di prevedere eventuali complicazioni successive alla terapia è quindi consigliato un trial terapeutico con metimazolo prima della loro esecuzione [34].

La radioterapia metabolica è considerata la terapia di scelta per l'ipertiroidismo felino e prevede la somministrazione di isotopi radioattivi dello iodio (^{131}I) per via sottocutanea o endovenosa. Il ^{131}I viene trasportato all'interno delle cellule follicolari iperplastiche e neoplastiche, legandosi poi alla tireoglobulina. In questo modo le radiazioni ionizzanti distruggono il tessuto tiroideo attivo, risparmiando parte del tessuto sano, solitamente ipofunzionale [3]. Il trattamento ristabilisce immediatamente lo stato eutiroideo e in alcuni casi può indurre un ipotiroidismo iatrogeno, legato al danno a carico di parte del tessuto tiroideo sano [35]. Nella maggior parte dei casi l'ipotiroidismo iatrogeno è transitorio e risolve con il recupero della funzionalità del tessuto sano, non richiedendo una terapia integrativa sul lungo periodo [3]. La selezione dei pazienti deve essere eseguita con cura in quanto il trattamento richiede l'isolamento del gatto per alcuni giorni, rendendo candidati non idonei i gatti con patologie concomitanti o altre condizioni che richiedano un intervento assistenziale giornaliero.

La terapia chirurgica rappresenta una valida alternativa terapeutica definitiva alla radioterapia metabolica [36]. La selezione del paziente, oltre al trial farmacologico, dovrebbe prevedere anche una scintigrafia tiroidea necessaria per escludere la presenza di tessuto tiroideo ectopico non rimuovibile chirurgicamente [28,36]. La procedura deve essere eseguita da un chirurgo esperto al fine di ridurre le possibili complicanze legate alla procedura e il rischio di recidive. Nello specifico la complicanza più comune è l'ipocalcemia legata alla rimozione delle ghiandole paratiroidee che rende necessario un monitoraggio post-operatorio intensivo [36-38]. La presenza di tessuto tiroideo ectopico si associa ad un maggior rischio di recidive [36]. Nella scelta dell'approccio chirurgico va poi considerata la presenza del rischio anestesilogico, non presente solitamente nell'approccio con iodio radioattivo [39].

La terapia dietetica si basa su una dieta esclusiva priva di iodio. Ad oggi esistono dubbi sull'efficacia terapeutica e sulle conseguenze della privazione di iodio sul lungo periodo. Il proprietario può incontrare difficoltà legate al fatto che la dieta per essere efficace

deve essere esclusiva e può risultare molto complessa la gestione del gatto in realtà con più animali conviventi. Per questi motivi si consiglia di limitare l'utilizzo della terapia dietetica a situazioni in cui gli altri approcci terapeutici non siano attuabili [40,41]. Nello studio di Scott-Moncrieff et al. la dieta a limitato contenuto di iodio sembrerebbe aumentare l'assorbimento di ^{123}I da parte del tessuto tiroideo autonomo[42].

Nella realtà clinica italiana la terapia farmacologica è per diversi fattori la più comunemente utilizzata. In Italia non sono disponibili centri che eseguano la radioterapia metabolica. La chirurgia è eseguita prevalentemente in centri di riferimento, non sempre è possibile eseguire una scintigrafia tiroidea e spesso la presenza di un rischio anestesilogico condiziona la scelta del proprietario. Inoltre il costo dell'approccio farmacologico nell'immediato è minore, sebbene sul lungo periodo sia comparabile al costo di un approccio chirurgico. In gatti idonei un approccio terapeutico definitivo è da ritenersi preferibile.

1.2 Ipertiroidismo felino e funzionalità renale

Ipertiroidismo felino e malattia renale cronica (MRC) sono tra le patologie più comuni nel gatto anziano, pertanto non è infrequente riscontrare contemporaneamente le malattie nello stesso paziente. Si stima che circa il 40% dei gatti ipertiroidei sia affetto anche da malattia renale cronica, con un 10-23% iperazotemico alla diagnosi [3,16,18,43].

L'ipertiroidismo influenza direttamente la funzionalità renale per mezzo di diversi meccanismi. L'eccesso di ormoni tiroidei induce un effetto inotropo e cronotropo positivo, l'attivazione del sistema renina-angiotensina (RAAS) e la diminuzione delle resistenze vascolari periferiche causando un aumento della gittata cardiaca. Si verifica pertanto un aumento della pressione intra-glomerulare e quindi un aumento della velocità di filtrazione glomerulare (GFR) [44]. Nello studio di Van Hoek et al. la GFR era aumentata rispetto all'intervallo di riferimento nell'80% dei gatti ipertiroidei [45]. Ipertensione sistemica e proteinuria sono possibili riscontri in corso di ipertiroidismo ed in particolare la proteinuria è associata alla progressione della malattia renale cronica [46,47].

Il verificarsi di questa co-morbilità porta ad una maggior difficoltà nella diagnosi di malattia renale cronica in quanto lo stato ipertiroideo influenza la concentrazione di creatinina sierica e porta alla comparsa di sintomi sovrapponibili alla MRC (dimagrimento, vomito, poliuria/polidipsia, ipertensione). La creatinina sierica è correlata positivamente alla massa corporea magra pertanto la perdita di masse muscolari [48], causata dall'incrementato catabolismo proteico tipico dei gatti ipertiroidei, porta ad una ridotta produzione di creatinina sierica. Anche l'aumento della GFR influenza la concentrazione sierica di creatinina, diminuendola. Allo stesso tempo la malattia renale cronica può diminuire la concentrazione ematica di tiroxina totale (T₄) complicando la diagnosi di ipertiroidismo [49].

L'interazione tra le due patologie fa sì che circa il 15-49 % dei gatti ipertiroidei con creatinina normale alla diagnosi mostri un aumento del valore oltre l'intervallo di riferimento a seguito della terapia per l'ipertiroidismo, smascherando la MRC sottostante [16,34,43,44,50-53]. Solitamente l'iperazotemia compare entro un mese

dalla risoluzione dello stato ipertiroideo [21]. A fronte di questo in gatti candidati ad un approccio terapeutico definitivo (radioterapia metabolica o chirurgia tiroidea) è sempre indicato, prima del trattamento, un trial terapeutico farmacologico volto a valutare l'entità della riduzione della funzionalità renale una volta corretto lo stato ipertiroideo [3].

La valutazione della GFR è ritenuta la metodica più efficace per predire la comparsa di malattia renale cronica iperazotemica dopo la terapia ma risulta di difficile attuazione in un contesto clinico [45,51,54,55]. Sono stati perciò indagati diversi possibili marker predittivi. Nello studio di Williams et al. gli unici parametri correlati alla comparsa di iperazotemia dopo la terapia sono stati creatinina e urea sierica alla diagnosi [16]. In gatti con USG superiore a 1035 e creatinina sierica normale alla diagnosi è improbabile la comparsa di malattia renale cronica dopo la terapia [16,21]. L'USG è tuttavia un parametro altamente variabile e in diversi studi non è risultato un marker predittivo affidabile [34,44,50]. Altri parametri come la cistatina C sierica (sCysC), la proteina legante il retinolo urinaria (uRBP), il rapporto fattore di crescita endoteliale vascolare/creatinina (VEGFCR) e l'interpretazione del protidogramma non sono risultati utili nel predire la comparsa di iperazotemia dopo la terapia [56-59]. Ad oggi non esistono marker affidabili per predire la comparsa di MRC in gatti ipertiroidei a seguito del trattamento [49].

È importante ricordare che la comparsa di iperazotemia a seguito della terapia per l'ipertiroidismo non sembra essere correlata con una diminuzione del tempo di sopravvivenza del paziente. Al contrario gatti ipertiroidei iperazotemici alla diagnosi mostrano un tempo di sopravvivenza significativamente minore rispetto a gatti non iperazotemici alla diagnosi [16,43].

1.3 Dimetilarginina simmetrica (SDMA)

Dimetilarginine in medicina umana

Con il termine dimetilarginine si identificano la dimetilarginina asimmetrica (ADMA) è il suo isomero strutturale dimetilarginina simmetrica (SDMA). Le dimetilarginine sono analoghi dell'amminoacido arginina che presentano due atomi di azoto guanidinico sostituiti da gruppi metilici. Il processo di metilazione delle proteine da cui derivano le dimetilarginine è operato dalla famiglia di enzimi proteina-arginina metiltransferasi (PRMTs). SDMA e ADMA vengono quindi rilasciate in forma libera a seguito di proteolisi. Pur non derivando direttamente dall'arginina condividono con essa meccanismi di trasporto dentro e fuori dalle cellule costituiti dai trasportatori CAT (trasportatori aminoacidi cationici) [60]. L'ADMA è escreta al 20% per via renale e per la restante parte metabolizzata dall'enzima dimetilarginina dimetilaminoidrolasi (DDAH) a differenza dell'SDMA che viene escreta per la quasi totalità per via renale. Una minima quota di entrambe le molecole è metabolizzata dall'enzima alanina gliossilato aminotransferasi (AGXT)[60,61](Figura 1).

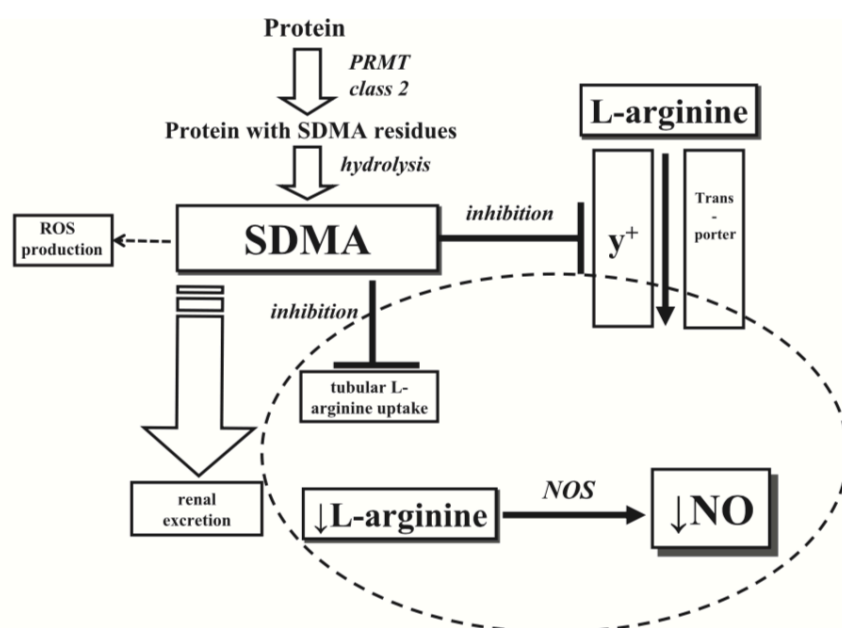


Figura 1 Schema esemplificativo dei processi metabolici coinvolti nella sintesi e nella eliminazione dell'SDMA e degli effetti biologici ad oggi noti nell'organismo umano. Tratto da Kielstein JT et al., *Semin Dial* 2009

Poiché l'SDMA è escreta quasi esclusivamente tramite filtrazione glomerulare risulta essere un eccellente marker della funzionalità renale sia nell'uomo [62] che in diverse specie animali [63]. Sia l'SDMA che la ADMA sono tossine uremiche e esercitano diverse attività biologiche attraverso le quali risultano coinvolte in un'ampia gamma di processi patologici tra cui malattia renale cronica, ipertensione, insufficienza cardiaca, patologie coronariche, infarto miocardico, diabete, ipertiroidismo, glaucoma. L'attività biologica maggiormente nota è l'inibizione della produzione di ossido nitrico (NO) nell'organismo, processo in cui l'ADMA riveste il ruolo principale tramite l'inibizione dell'ossido nitrico sintasi endoteliale (eNOS). Se per lungo tempo si è considerata l'SDMA come una molecola biologicamente inerte, ad oggi si sa che è anch'essa in grado di inibire indirettamente la produzione di NO riducendo il riassorbimento tubulare di arginina e competendo con essa per i trasportatori CAT. L'SDMA potrebbe inoltre avere effetti pro-infiammatori e pro-ossidanti [61,63].

Un numero di studi limitato ha indagato il ruolo e le modificazioni delle dimetilarginine in corso di patologie della tiroide. Itterman et al. hanno valutato le concentrazioni plasmatiche delle dimetilarginine in un gruppo di pazienti con diverse forme di ipertiroidismo, riscontrando una correlazione positiva con i valori ematici di fT4 e una correlazione negativa con i valori di TSH [64]. Nel lavoro di Arikan et al. l'ADMA è risultata significativamente aumentata in pazienti ipertiroidei ed entrambe le dimetilarginine sono risultate significativamente aumentate in pazienti ipotiroidei [65]. Sembrerebbe quindi che patologie tiroidee possano influenzare le concentrazioni plasmatiche delle dimetilarginine sebbene non sia ancora chiaro tramite quale meccanismo ciò possa avvenire.

Dimetilarginina simmetrica (SDMA) in medicina veterinaria

In medicina veterinaria i primi studi eseguiti su ADMA e SDMA non hanno dato risultati soddisfacenti. Pedersen et al. non hanno evidenziato l'utilità delle dimetilarginine come marker di rigurgito mitralico in corso di malattia mitralica valvolare cronica nel Cavalier King Charles Spaniel [66]. Jepson et al. hanno indagato l'andamento delle dimetilarginine in corso di ipertensione felina essenziale e secondaria a malattia renale

cronica, senza individuare un ruolo delle due molecole nella patogenesi di queste malattie. Gli autori hanno però riscontrato, confermando quanto noto in medicina umana, una correlazione positiva tra i valori di ADMA e SDMA e i valori di creatinina sierica (sCr) nei gatti nefropatici [67].

Negli ultimi anni gli studi si sono focalizzati sul ruolo dell'SDMA come marker di funzionalità renale. Nel gatto è stata dimostrato come l'SDMA aumenti al ridursi della velocità di filtrazione glomerulare (GFR) [68] e abbia correlazione positiva con la concentrazione di creatinina sierica [69]. L'SDMA a differenza della creatinina non è correlata alla massa magra corporea [70] e non sembra essere correlata alla razza [71,72]. Rispetto alla creatinina l'SDMA mostra una maggiore sensibilità risultando aumentata in media 17 mesi prima in gatti con malattia renale cronica, sebbene sia meno specifica ed abbia un valore predittivo positivo inferiore [69]. I promettenti riscontri sperimentali hanno portato a valutare con sempre maggior interesse l'applicazione clinica dell'SDMA come marker per una diagnosi precoce di malattia renale cronica. L'*International Renal Interest Society* (IRIS), organizzazione che si occupa di definire le linee guida per la gestione della MRC nel cane e nel gatto, ha modificato nel 2017 le proprie indicazioni inserendo l'SDMA tra i parametri da prendere in considerazione per diagnosi e terapia. Nel gatto la concentrazione di SDMA potrebbe diminuire in corso di diabete mellito mentre non sembra essere alterata in pazienti affetti da cardiomiopatia ipertrofica [73]. Ad oggi non si sa se altre patologie siano di per sé in grado di alterarne i valori.

Sebbene la metodica di riferimento per la determinazione dell'SDMA sia la cromatografia liquida associata alla spettrometria di massa (HPLC-MS)[68,74], normalmente utilizzata in ambito di ricerca, il crescente interesse verso un utilizzo clinico ha portato allo sviluppo di metodiche di determinazione meno costose e fruibili nella pratica clinica. Laboratori commerciali di riferimento eseguono la determinazione dell'SDMA e recentemente sono state sviluppate metodiche di misurazione del parametro 'in-house' (IDEXX Catalyst SDMA™, IDEXX Laboratories).

2. IPOTESI E OBIETTIVI DELLO STUDIO

I meccanismi fisiopatologici che nei gatti ipertiroidei influenzano la concentrazione sierica di creatinina non sembrano influenzare la concentrazione sierica di dimetilarginina simmetrica. Pertanto la dimetilarginina simmetrica potrebbe risultare, in questa popolazione, un marker di funzionalità renale migliore rispetto alla creatinina, facilitando la diagnosi di malattia renale cronica ed eventualmente definendo precocemente quali pazienti presenteranno la malattia renale cronica dopo la terapia per l'ipertiroidismo, così da definire piani terapeutici individuali. Per poter utilizzare l'SDMA in quest'ottica è necessario definire se e come lo stato ipertiroideo possa di per sé influenzare la concentrazione sierica di SDMA.

Le ipotesi dello studio sono che:

- a) La dimetilarginina simmetrica sia diversa nei gatti ipertiroidei rispetto ai gatti sani.
- b) La dimetilarginina simmetrica si modifichi nei gatti ipertiroidei a seguito della terapia.
- c) La dimetilarginina simmetrica al momento della diagnosi di ipertiroidismo sia più elevata nei gatti ipertiroidei che svilupperanno malattia renale cronica dopo la terapia rispetto ai gatti ipertiroidei che non la svilupperanno.

3. MATERIALI E METODI

Design dello studio

Sono stati definiti due gruppi: il gruppo ipertiroidei e il gruppo controllo. I due gruppi sono stati confrontati analizzando età, peso, creatinina sierica, urea, dimetilarginina simmetrica e tiroxina totale al momento della diagnosi. Nel gruppo ipertiroidei, per i gatti in cui era disponibile il follow-up, è stato inoltre eseguito il confronto tra i parametri al momento della diagnosi e i parametri dopo la terapia. Nel follow-up i gatti sono stati seguiti per i 3 mesi successivi all'inizio della terapia ed è stato selezionato, ai fini dell'analisi statistica, il controllo più vicino ai tre mesi per cui fossero disponibili tutti i dati analizzati.

Popolazione

Nel gruppo ipertiroidei (GI) sono stati inseriti gatti ipertiroidei non azotemici al momento della diagnosi di ipertiroidismo. Per la composizione del gruppo ipertiroidei sono stati presi in considerazione:

- a) Retrospectivamente, casi presentati presso l'Ospedale Didattico Veterinario 'Gentile' di Bologna (ODV) da gennaio 2013 a febbraio 2016.
- b) Prospettivamente, casi presentati presso l'Ospedale Veterinario Universitario Didattico di Parma (OVUD) da ottobre 2016 a agosto 2018.

Nel gruppo controllo (GC) sono stati inseriti prospettivamente gatti sani presentati per esami di screening presso l'Ospedale Veterinario Universitario Didattico di Parma da ottobre 2016 a ottobre 2017.

Casi inclusi retrospettivamente

Nel gruppo ipertiroidei (GI), i casi inclusi retrospettivamente sono stati selezionati tra i gatti presentati con diagnosi di ipertiroidismo presso l'Ospedale Didattico Veterinario di Bologna nel periodo in esame.

Per tutti i gatti esaminati sono state revisionate le cartelle cliniche e sono stati esclusi i gatti che erano già in terapia per ipertiroidismo alla presentazione.

Prima visita: dall'analisi delle cartelle cliniche sono stati recuperati i dati relativi a segnalamento (età, sesso, razza), peso e body condition score (BCS), parametri di biochimica sierica (creatinina, urea, ALT, AST, fosfatasi alcalina) e dosaggio della tiroxina totale (T_4). Solo i gatti con valori di creatinina sierica <1.8 mg/dL, $T_4 > 40$ nmol/L e un campione di siero stoccato a -20°C sono stati inclusi.

Follow-up: nei gatti per cui era disponibile un campione di siero stoccato a -20°C in occasione delle visite di follow-up, sono stati registrati i dati relativi al peso, parametri di biochimica sierica (creatinina, urea, ALT, AST, fosfatasi alcalina) e dosaggio della tiroxina totale (T_4).

Sui campioni stoccati a -20°C alla diagnosi e al follow-up, è stata eseguita in un secondo momento la determinazione dell'SDMA.

Casi inclusi prospettivamente

Nel gruppo ipertiroidei i casi presentati presso l'Ospedale Veterinario Universitario Didattico di Parma sono stati inclusi prospettivamente qualora rispettassero i seguenti criteri: diagnosi di ipertiroidismo non in terapia, $T_4 > 40$ nmol/L, creatinina < 1.8 mg/dL, assenza di gravi patologie concomitanti. In tutti i gatti inclusi prospettivamente sono stati registrati età, sesso razza, peso, creatinina sierica, urea, ALT, AST, fosfatasi alcalina e tiroxina totale (T_4).

Il gruppo di gatti controllo (GC) è stato definito includendo gatti ≥ 7 anni di età portati a visita presso l'OVUD per eseguire test ematici di screening (es: sierologia per malattie infettive, dosaggio T_4 , screening di routine). Sono stati inclusi gatti considerati sani sulla base della storia clinica riferita dai proprietari, senza noduli tiroidei evidenziabili alla visita clinica, con creatinina < 1.8 mg/dL e $T_4 < 40$ nmol/L.

Per entrambe i gruppi, il siero in eccesso è stato stoccato a -20°C per eseguire la determinazione dell'SDMA in un secondo momento.

Analisi dei campioni

La determinazione dei parametri biochimici dei casi inclusi è stata eseguita utilizzando l'analizzatore COBAS INTEGRA® 400 plus, Roche Diagnostics. La determinazione della tiroxina totale (T_4) è stata eseguita con metodica a chemiluminescenza utilizzando il sistema IMMULITE 2000, Siemens Medical Solutions-Diagnostics. Il dosaggio della concentrazione sierica di SDMA è stato eseguito su tutti i campioni stoccati a -20°C utilizzando una metodica EMIT (enzyme multiplied immuno technique) validata ed eseguita dal laboratorio commerciale IDEXX Laboratories.

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando il software GraphPad Prism 7. Per verificare che le variabili in esame fossero distribuite normalmente è stato utilizzato il test di D'agostino & Paerson. Tutti i parametri analizzati sono risultati distribuiti normalmente ad eccezione dell'SDMA nel gruppo ipertiroidei al follow-up e della creatinina sierica nel gruppo controllo. A fronte della ridotta numerosità dei campioni in esame si è tuttavia scelto di applicare a tutti i dati test non-parametrici. Per il confronto tra GI e GC è stato utilizzato il test di Mann-Whitney mentre per confrontare i gatti ipertiroidei al momento della diagnosi e dopo la terapia è stato utilizzato il test di Wilcoxon. I dati sono stati riportati come mediana (range 25°-75° interquartile) e sono stati rappresentati graficamente mediante box-whiskers plot. La correlazione tra le variabili è stata indagata utilizzando l'indice di correlazione lineare di Pearson. Per le variabili presentanti una correlazione statisticamente significativa la relazione è stata rappresentata graficamente attraverso una retta di regressione lineare. Il livello di significatività dei test è stato fissato a 0.05.

4. RISULTATI

Dati all'inclusione

Sono stati inclusi 24 gatti nel gruppo ipertiroidei e 18 nel gruppo controllo. Dei 24 gatti ipertiroidei 19 (79%) sono stati inclusi retrospettivamente e 5 (21%) prospettivamente. In 10 (41 %) gatti è stato possibile ottenere un follow-up fino almeno alla risoluzione dello stato ipertiroideo, avvenuta in un intervallo di tempo dai 10 a 90 giorni dall'inizio della terapia. Nei gatti in cui erano disponibili diverse misurazioni durante il follow-up sono state considerate le più distanti dal momento della diagnosi.

Nel gruppo ipertiroidei sono stati inclusi 14 femmine (58%) e 10 maschi, tutti sterilizzati (Figura 1). Dal punto di vista della razza il gruppo era composto da 22 gatti comuni europei (92%), 1 Siamese e 1 Scottish Fold. L'età media è stata di 14.25 anni, range 10-19 (mediana, 14.5; range interquartile [IQR], 12-16). Il peso medio è stato 3.32 kg, range 1.9-5.3 (mediana 3.4; IQR, 2.8-4). La tiroxina totale media è stata 194.2 nmol/mL, range 69-360 (mediana 178; IQR, 127-284). La creatinina sierica media è stata 1.04 mg/dL, range 0.5-1.8 (mediana 1.06; IQR, 0.81-1.23). L' SDMA media è stata 11.58 ug/dL, range 3-19 (mediana 11; IQR, 9.25-14.75). Dei 24 gatti ipertiroidei 10 sono stati trattati con metimazolo transdermico (42%), 6 con metimazolo in compresse per via orale (25%), 3 con metimazolo in soluzione orale (13%). Nei restanti 5 gatti (20%) non è stata registrata la formulazione del farmaco (Figura 2).

Nel gruppo controllo sono stati inclusi 10 femmine (55%) e 8 maschi, tutti sterilizzati (Figura 1). Diciassette gatti erano di razza comune europea ed uno di razza Siamese. L'età media è stata 10.83 anni, range 7-17 (mediana, 11; IQR, 7-14). Il peso medio è stato 5 kg, range 3.2-6.5 (mediana 35.1; IQR 4.5-5.7). La tiroxina totale media è stata range 1.9-5.3 (mediana 3.4; IQR, 2.8-4). La creatinina sierica media è stata range 1.9-5.3 (mediana 3.4; IQR, 2.8-4). L' SDMA media è stata 11.58 ug/dL, range 3-19 (mediana 11; IQR, 9.25-14.75).

I dati relativi a età, peso, creatinina sierica, urea sierica, SDMA sierica e T₄ sierico nei due gruppi sono riportati in Tabella 1.

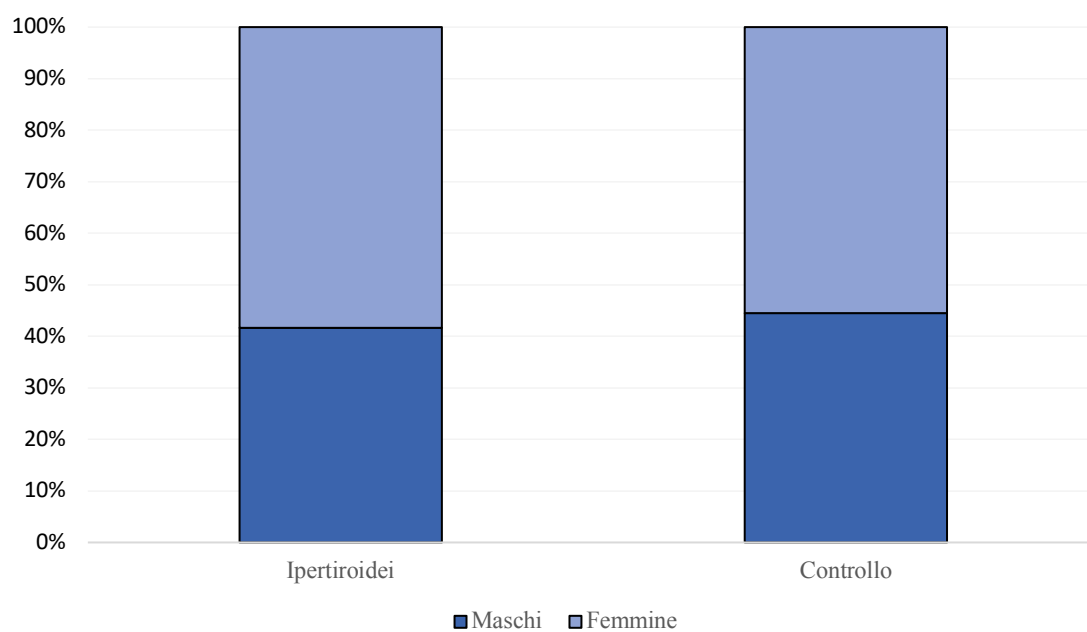


Figura 1 Istogramma rappresentante in percentuale la distribuzione dei sessi nel gruppo ipertiroideo e nel gruppo controllo.

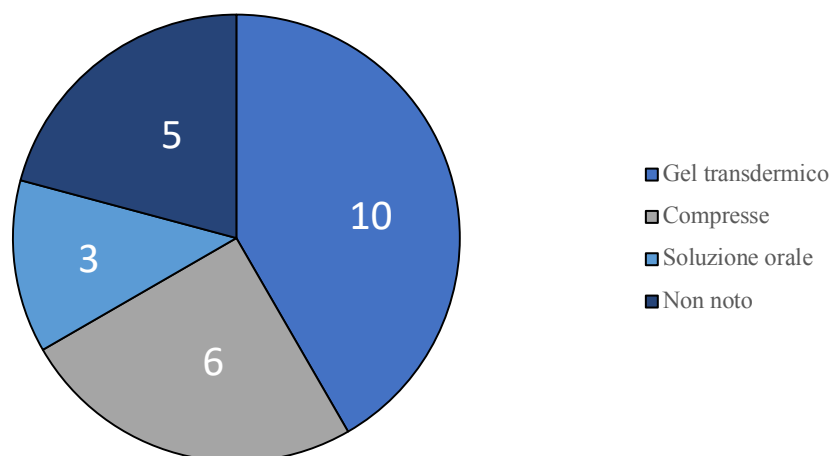


Figura 2 Grafico a torta rappresentante la distribuzione delle diverse formulazioni di metimazolo utilizzate per trattare l'ipertiroidismo nei gatti del gruppo ipertiroidei.

Tra i due gruppi non è stata evidenziata differenza per sesso e razza. I gatti ipertiroidei hanno evidenziato un'età significativamente maggiore ($p=0.001$) e un peso significativamente minore ($p<0.0001$) rispetto ai gatti del gruppo controllo (Tabella 1). La tiroxina libera (T_4) è risultata significativamente maggiore nei gatti ipertiroidei rispetto al gruppo controllo ($p<0.0001$). La creatinina sierica e la dimetilarginina simmetrica sono risultate maggiori nel gruppo ipertiroidei ma in entrambi i casi la differenza non è stata statisticamente significativa (rispettivamente $p=0.105$ e $p=0.115$) (Figura 3).

Nel gruppo ipertiroidei la creatinina sierica e la dimetilarginina simmetrica hanno mostrato una moderata correlazione positiva ($r=0.49$, $p=0.01$) (Figura 4). Non sono state evidenziate correlazioni statisticamente significative tra i valori di T_4 sierico e peso, creatinina ($r=-0.23$; $p=0.27$), SDMA ($r=-0.32$; $p=0.12$). Allo stesso modo non si sono evidenziate correlazioni tra il peso dei gatti al momento della diagnosi e i valori di creatinina sierica ($r=0.26$, $p=0.24$) e SDMA ($r=0.13$, $p=0.59$) (Figura 4).

Al momento della diagnosi l'SDMA risultava maggiore della soglia di riferimento (14 ug/dL) in 6/24 gatti (25%) del gruppo ipertiroidei e 1/18 gatti (5%) del gruppo controllo.

Tabella 1 Dati clinici e laboratoristici (mediana; intervallo interquartile) selezionati relativi al gruppo ipertiroidei alla diagnosi e al gruppo controllo.

Variabile	Ipertiroidei (24)	Controllo (18)	P value
Età (anni)	14.5 (12-16)	11 (7-14)	*0.001
Peso (kg)	3.4 (2.8-4)	5.1 (4.5-5.7)	*<0.0001
Creatinina sierica (mg/dL)	1.06 (0.81-1.23)	1.17 (1.02-1.26)	0.105
Urea sierica (mg/dL)	65 (40-71)	51 (43-60)	0.290
SDMA sierica (ug/dL)	11 (9.25-14.75)	9.5 (8-11.25)	0.115
T_4 sierico (nmol/mL)	178.3 (127-284)	30.89 (25-36)	*<0.0001

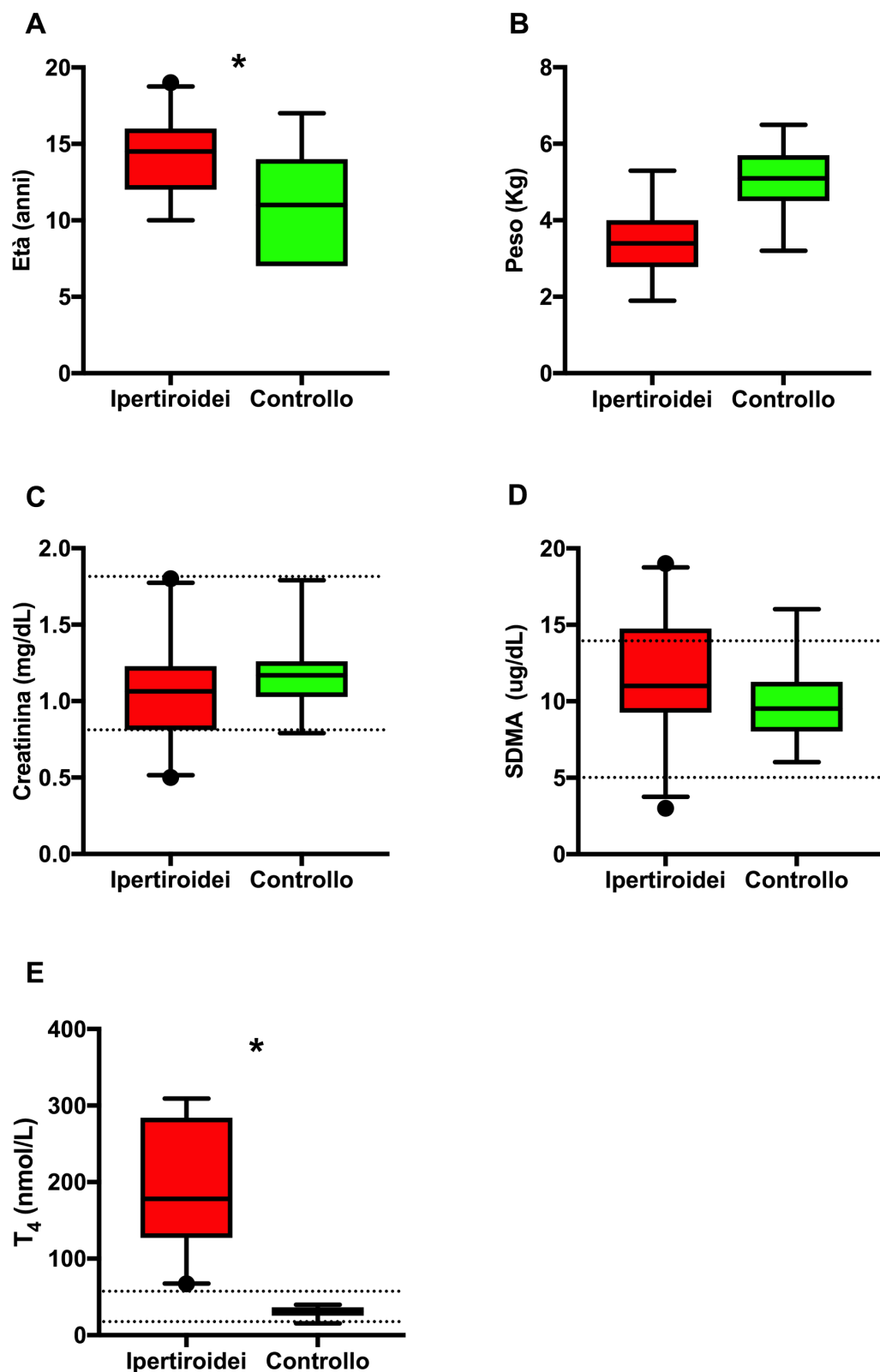


Figura 3 Box plot relativi a (A) età, (B) peso, concentrazioni sieriche di (C) creatinina, (D) SDMA, (E) tiroxina totale nel gruppo ipertiroidei e nel gruppo controllo. I box rappresentano l'intervallo tra il 25° e il 75° interquartile, la barra orizzontale nei box rappresenta il valore mediano. Le barre a T rappresentano l'intervallo in cui ricade il 95% dei dati mentre i punti rappresentano i valori esterni.

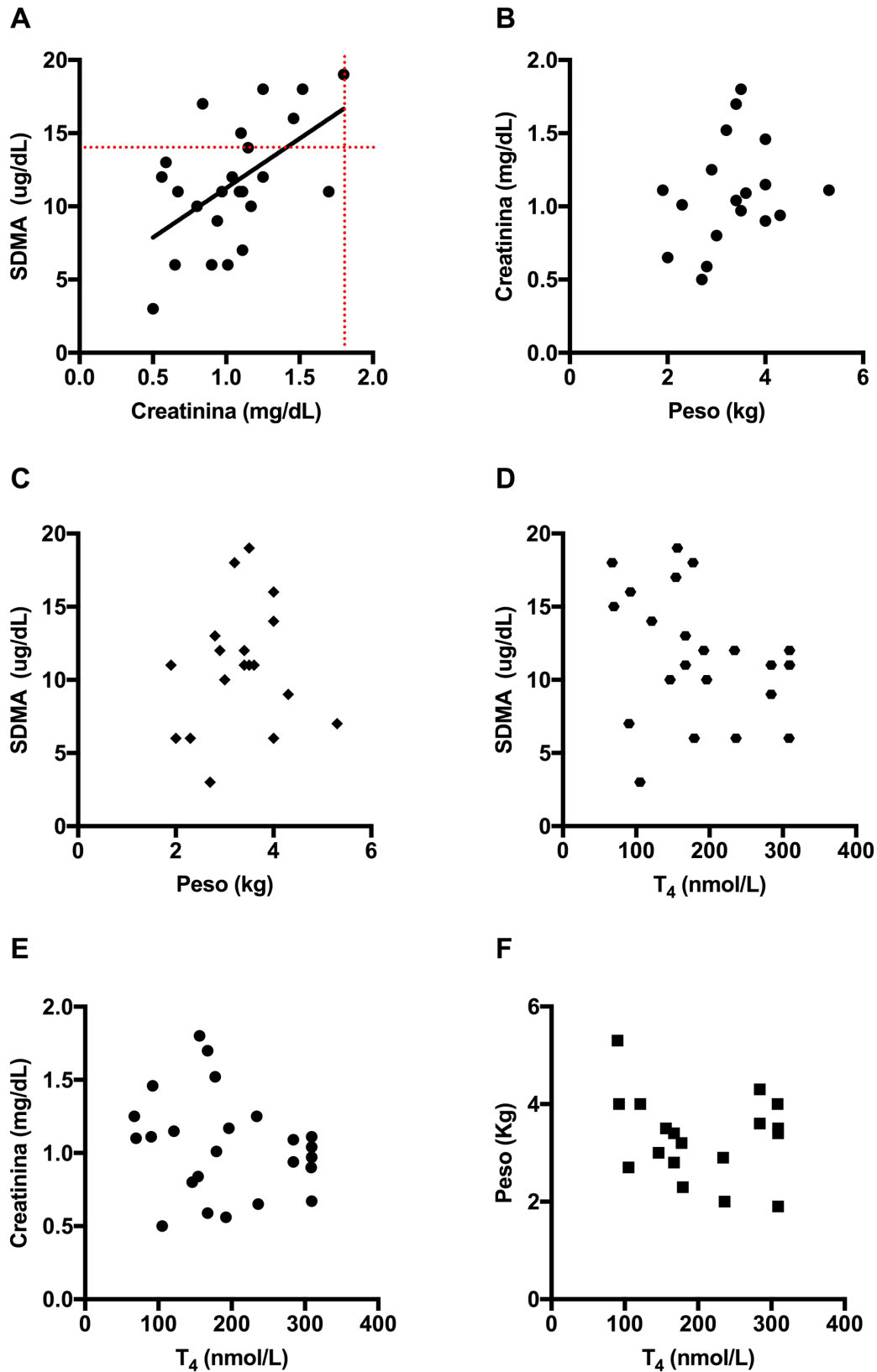


Figura 4 Scatter plot rappresentanti nel gruppo ipertiroidi, al momento della diagnosi, le correlazioni tra (A) SDMA e creatinina*, (B) peso e creatinina, (C) peso e SDMA, (D) T₄ e SDMA, (E) T₄ e creatinina, (F) T₄ e peso. (* correlazione significativa)

Dati al follow-up

All'interno del gruppo ipertiroidei il follow-up era disponibile in 10 gatti. I dati al follow-up sono stati raccolti in 1 gatto dopo 14 giorni, in 1 dopo 30 giorni e in 8 dopo 3 mesi.

Al follow-up, in seguito alla terapia, il peso è risultato maggiore ($p=0.015$) (Figura 6), il T_4 è risultato minore ($p=0.001$) (Figura 7) e la creatinina sierica è risultata più alta rispetto al momento della diagnosi ($p=0.006$) (Figura 8). Per quanto concerne l'SDMA non è stata evidenziata differenza a seguito della terapia (Figura 9).

Al follow-up, in seguito a terapia, la creatinina sierica e l'SDMA hanno mostrato una forte correlazione positiva ($r=0.82$; $p=0.005$) (Figura 5); il T_4 non è risultato correlato a peso, creatinina ed SDMA; la creatinina sierica e l'SDMA non sono risultate correlate al peso.

Tabella 2 Dati clinici e laboratoristici (mediana; intervallo interquartile) selezionati relativi a 11 gatti del gruppo ipertiroidei per cui erano disponibili dati alla diagnosi e dati dopo la terapia medica.

Variabile	Diagnosi	Post terapia	P value
Peso (kg)	3.5 (2.97-4)	3.6 (3.4-4.6)	0.015*
Creatinina sierica (mg/dL)	1.1 (0.94-1.25)	1.56 (1.12-1.6)	0.006**
Dimetilarginina simmetrica sierica (ug/dL)	11 (10-15)	10 (6.75-12.25)	0.283
T_4 sierico (nmol/mL)	234 (146-308)	22 (14-51)	0.001*

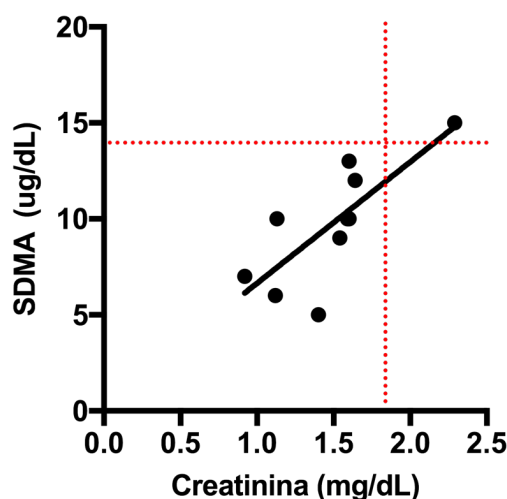


Figura 5 Scatter plot e retta di regressione rappresentanti la correlazione tra creatinina sierica e SDMA sierica nei gatti ipertiroidei dopo la terapia. Le linee tratteggiate rosse rappresentano i valori limite degli intervalli di riferimento.

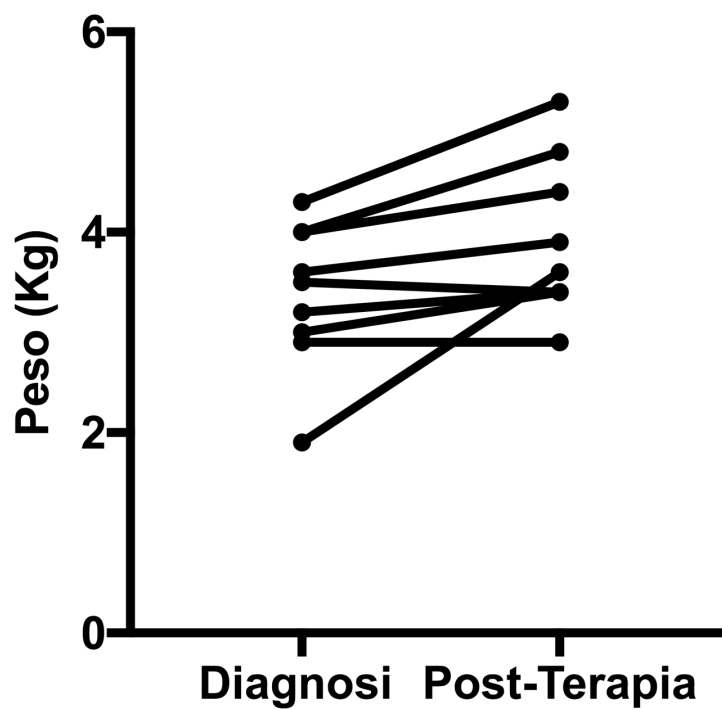
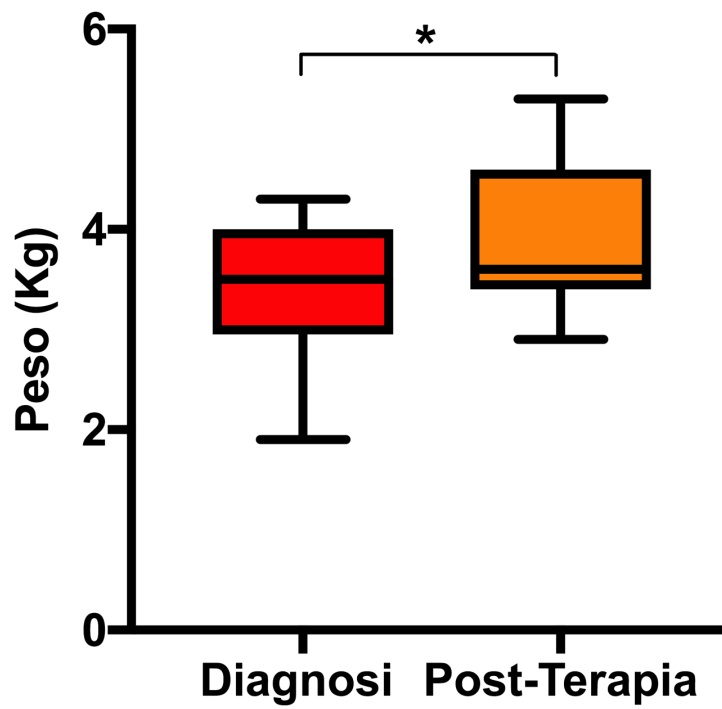


Figura 6: **Sopra** Box plot relativo al confronto tra il peso al momento della diagnosi e a seguito della terapia nel gruppo ipertiroidici. I box rappresentano l'intervallo tra il 25° e il 75° interquartile, la barra orizzontale nei box rappresenta il valore mediano. Le barre a T rappresentano l'intervallo in cui ricade il 95% dei dati mentre i punti rappresentano i valori esterni. **Sotto** Grafico rappresentante l'andamento del peso negli individui del gruppo.

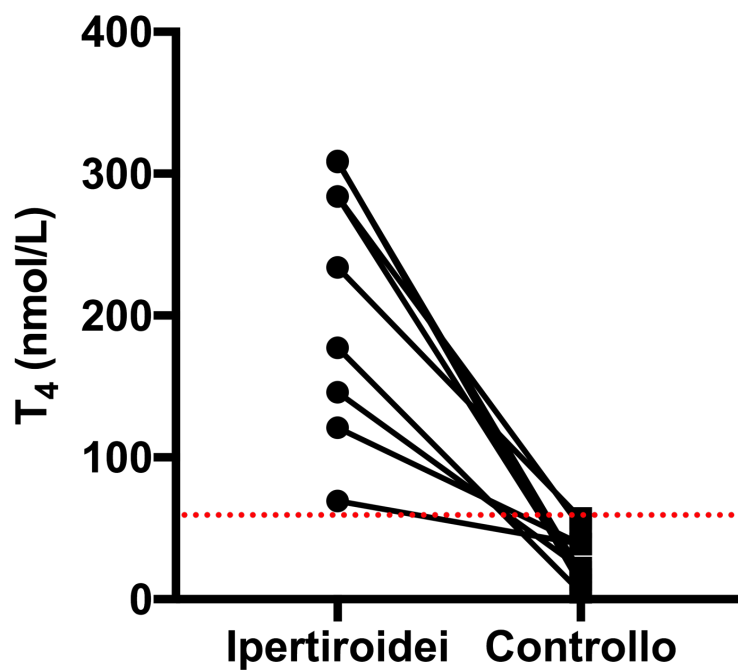
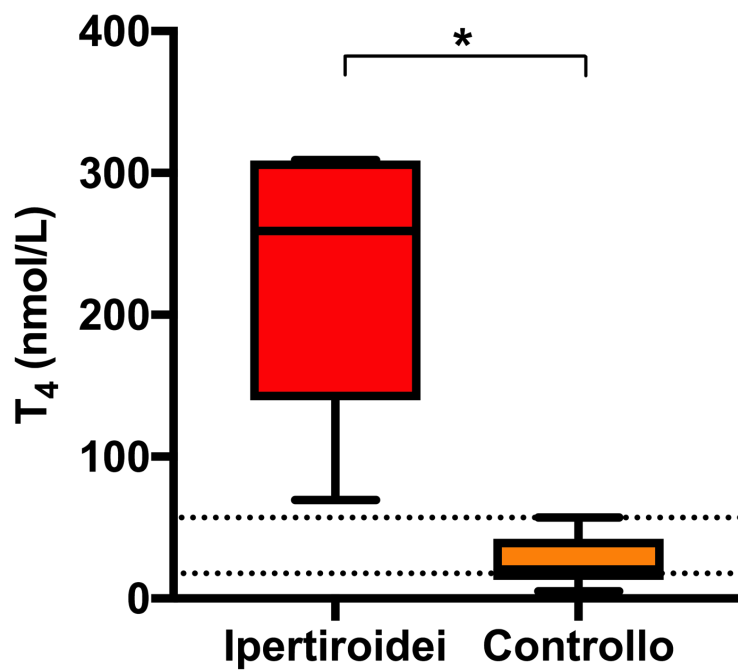


Figura 7: **Sopra** Box plot relativo al confronto tra la tiroxina totale al momento della diagnosi e a seguito della terapia nel gruppo ipertiroidei. I box rappresentano l'intervallo tra il 25° e il 75° interquartile, la barra orizzontale nei box rappresenta il valore mediano. Le barre a T rappresentano l'intervallo in cui ricade il 95% dei dati mentre i punti rappresentano i valori estremi. **Sotto** Grafico rappresentante l'andamento della tiroxina totale negli individui del gruppo prima e dopo la terapia.

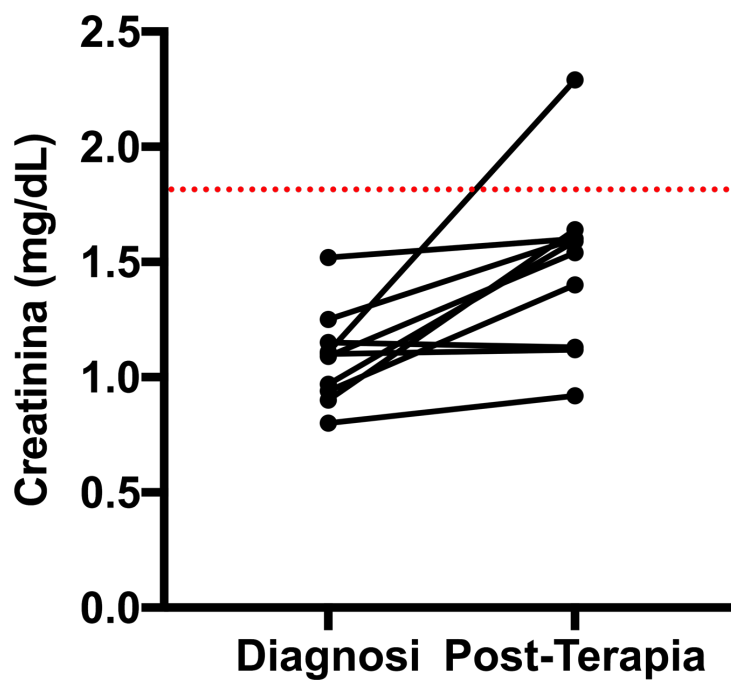
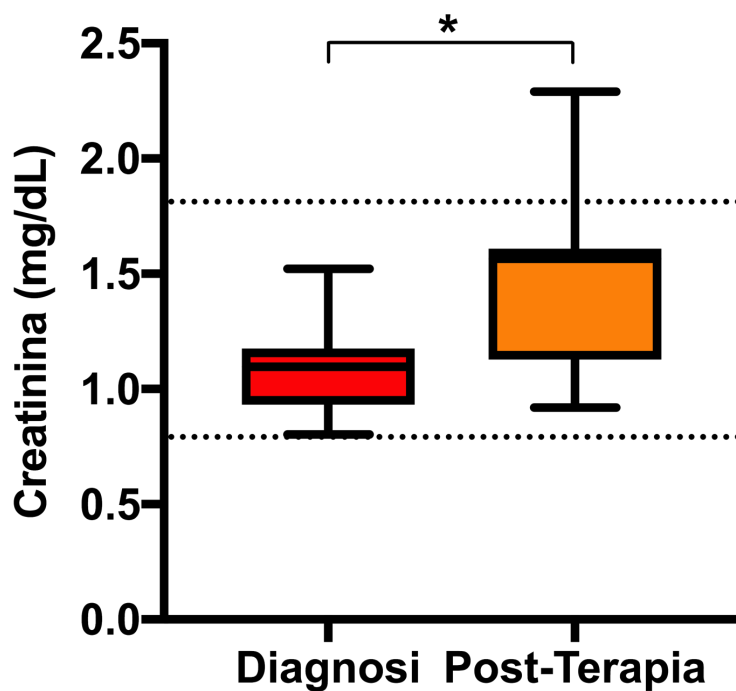


Figura 8: **Sopra** Box plot relativo al confronto tra la creatinina sierica al momento della diagnosi e a seguito della terapia nel gruppo ipertiroidei. I box rappresentano l'intervallo tra il 25° e il 75° interquartile, la barra orizzontale nei box rappresenta il valore mediano. Le barre a T rappresentano l'intervallo in cui ricade il 95% dei dati mentre i punti rappresentano i valori esterni. **Sotto** Grafico rappresentante l'andamento della creatinina sierica negli individui del gruppo prima e dopo la terapia.

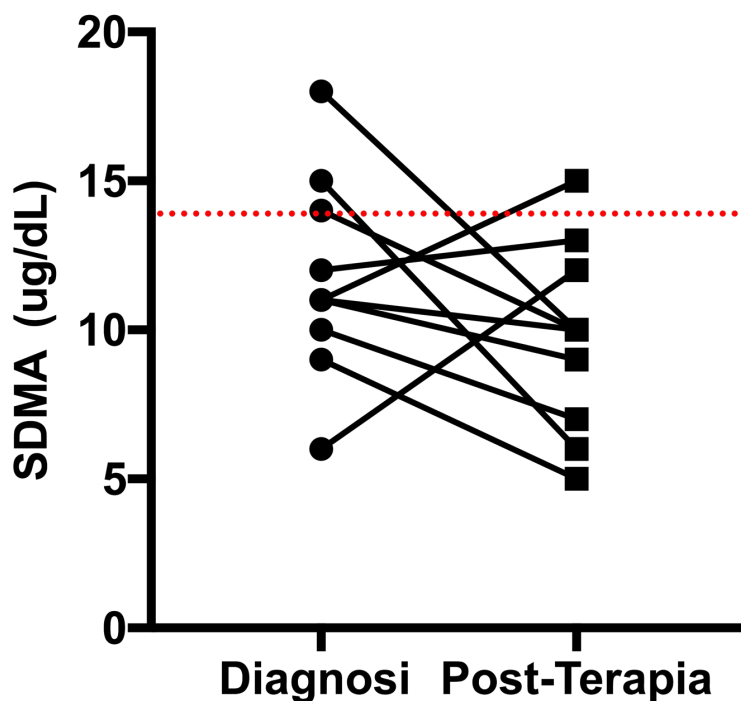
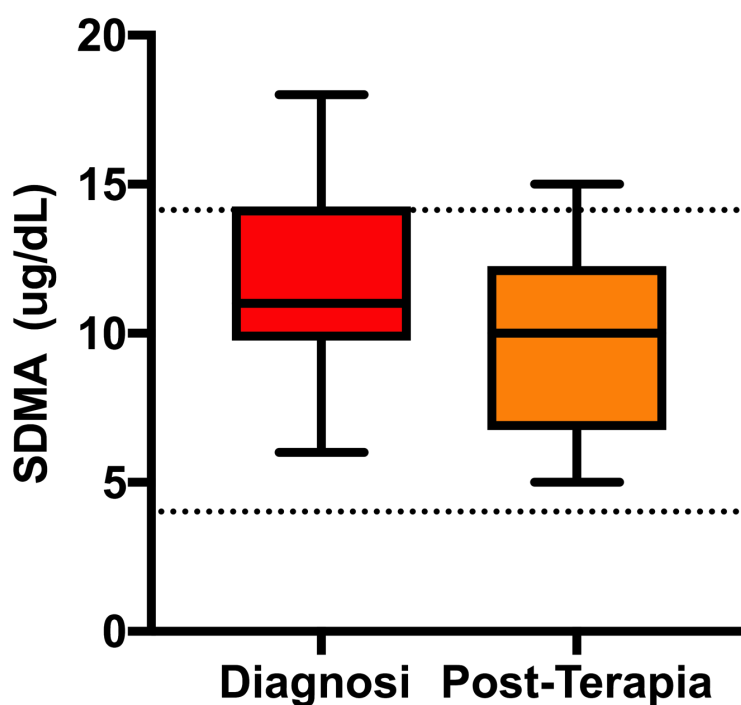


Figura 9: **Sopra** Box plot relativo al confronto tra l'SDMA sierica al momento della diagnosi e a seguito della terapia nel gruppo ipertiroidici. I box rappresentano l'intervallo tra il 25° e il 75° interquartile, la barra orizzontale nei box rappresenta il valore mediano. Le barre a T rappresentano l'intervallo in cui ricade il 95% dei dati mentre i punti rappresentano i valori esterni. **Sotto** Grafico rappresentante l'andamento dell'SDMA sierica negli individui del gruppo prima e dopo la terapia.

La creatinina sierica è aumentata in 9/10 gatti a seguito della terapia. Solo in 1/9 (11%) è aumentata oltre il valore di riferimento (da 1.11 a 2.29 mg/dL). In questo gatto l'SDMA era normale al momento della diagnosi ed è aumentata oltre il valore di riferimento dopo la terapia (da 11 a 15 ug/dL). In altri due gatti l'SDMA è aumentata dopo la terapia ed in entrambi è aumentata anche la creatinina pur rimanendo nell'intervallo di riferimento. L'SDMA sierica è diminuita dopo la terapia in 7/10 gatti (70%).

Solo in 2 dei 6 gatti ipertiroidei che presentavano SDMA oltre l'intervallo di riferimento al momento della diagnosi, era disponibile un follow-up. In questi pazienti, in seguito alla terapia la creatinina è aumentata all'interno del range di riferimento, passando da 1.52 a 1.60 mg/dL in uno e da 1.10 a 1.12 mg/dL nell'altro. La concentrazione sierica di SDMA è invece scesa sotto il valore di riferimento in entrambi, passando da 18 a 10 ug/dL in uno e da 15 a 6 ug/dL nell'altro.

I valori di creatinina sierica e SDMA sierica nei 10 gatti ipertiroidei prima e dopo la terapia è riassunto nella Tabella 3.

Tabella 3 Riassunto dei valori di creatinina e SDMA sierica in 10 gatti ipertiroidei al momento della diagnosi e dopo la terapia con metimazolo.

Caso	Creatinina sierica (mg/dL)		SDMA sierica (ug/dL)	
	Diagnosi	Post-terapia	Diagnosi	Post-terapia
1	0.97	1.59	11	10
2	0.94	1.40	9	5
3	1.52	1.60	18	10
4	0.90	1.64	6	12
5	1.25	1.60	12	13
6	0.80	0.92	10	7
7	1.10	1.12	15	6
8	1.15	1.13	14	10
9	1.11	2.29	11	15
10	1.09	1.54	11	9

5. DISCUSSIONE

I risultati ottenuti nello studio non supportano l'ipotesi che lo stato ipertiroideo influenzi di per sé la concentrazione sierica di dimetilarginina simmetrica. Non è stata individuata una correlazione tra tiroxina totale (T_4) e SDMA nella popolazione di gatti ipertiroidei al momento della diagnosi. Allo stesso modo non è emersa correlazione tra i due parametri a seguito della normalizzazione della funzionalità tiroidea dopo la terapia. L'SDMA non è risultata differente nei gatti ipertiroidei tra prima e dopo la terapia, a differenza di creatinina sierica e peso che sono aumentati significativamente. Anche paragonando i gatti ipertiroidei con il gruppo controllo, sia alla diagnosi che post-terapia, non sono emerse differenze statisticamente significative nei valori di SDMA. La correlazione tra SDMA e creatinina sierica, già evidenziata in gatti sani e gatti con malattia renale cronica [68,69], è stata confermata anche nella popolazione di gatti ipertiroidei sia prima della terapia che a seguito della stessa.

Nel discutere i risultati ottenuti vale la pena considerare come il numero di casi inclusi nei gruppi influisca sulla potenza dei test statistici effettuati. Nello studio è stato possibile includere un numero ridotto di casi. È stato scelto un livello di significatività di 0.05, comunemente utilizzato in ambito scientifico per garantire un adeguato livello di protezione del test. È quindi possibile che l'analisi statistica effettuata sia soggetta ad un errore di secondo tipo, ovvero l'ipotesi nulla sia stata accettata quando non vera. Aumentare il numero di casi porta ad un aumento della potenza dei test e potrebbe permettere di individuare una differenza statisticamente significativa. Nell'ottica di valutare quanto sia probabile che i risultati ottenuti siano stati soggetti ad un errore di secondo tipo, è interessante confrontare i risultati con quanto riscontrato da Peterson et al. [75], nel cui studio è stato incluso un numero molto maggiore di casi.

Nello studio di Peterson et al. sia l'SDMA che la creatinina sierica sono significativamente minori nei pazienti ipertiroidei non trattati rispetto ai sani ed aumentano significativamente dopo la terapia radio metabolica. Nei gatti ipertiroidei SDMA e T_4 mostrano una debole correlazione negativa prima della terapia. SDMA e creatinina risultano invece correlate positivamente sia prima che dopo la terapia, come

evidenziato anche nel nostro studio. Tali riscontri supportano l'ipotesi che le alterazioni dell'SDMA nei gatti ipertiroidei siano correlate alle variazioni della GFR e non allo stato ipertiroideo di per sé.

Diversi fattori, oltre ad un eventuale errore di secondo tipo, potrebbero spiegare i risultati di questo studio e le differenze riscontrate rispetto allo studio di Peterson et al. In questo studio l'SDMA nei gatti ipertiroidei alla diagnosi non differisce rispetto all'SDMA nei gatti sani; similmente l'SDMA non differisce nei gatti ipertiroidei prima e dopo la terapia. Tuttavia in 7/10 gatti ipertiroidei l'SDMA è diminuita dopo la terapia, evidenziando una tendenza opposta rispetto alla creatinina sierica, aumentata in 9/10 gatti. Il fatto che l'SDMA nei gatti ipertiroidei alla diagnosi non fosse diminuita rispetto ai sani e che tenda a diminuire dopo la terapia potrebbe rappresentare un effetto dello stato ipertiroideo. Itterman et al. hanno riscontrato una correlazione positiva tra tiroxina libera (fT₄) e SDMA nell'uomo, senza però riuscire a definire i meccanismi alla base di questa correlazione [64]. Tra le ipotesi proposte ci sono un'aumentata produzione di derivati metilati dell'arginina a seguito dell'aumentato catabolismo proteico o una alterazione nel metabolismo epatico delle dimetilarginine, che coinvolge però minimamente l'SDMA. Ad oggi non si conoscono gli esatti processi coinvolti nel metabolismo della dimetilarginina simmetrica nel gatto, sebbene per quanto noto sia ragionevole ritenerli comparabili ai processi metabolici individuati nell'uomo. Un altro fattore che potrebbe giocare un ruolo nelle differenze riscontrate tra il nostro studio e quello di Peterson et al., è che la nostra popolazione è stata sottoposta a terapia medica con metimazolo mentre Peterson et al. hanno trattato tutti i gatti del loro studio con radioterapia metabolica. Sebbene entrambi gli approcci terapeutici risultino efficaci nel correggere lo stato ipertiroideo non è escludibile che possano aver influenzato in misura differente la funzionalità renale nelle due popolazioni, non essendo in nessuno dei due studi stata eseguita una valutazione della GFR prima e dopo la terapia.

Nel complesso sia il nostro studio che il lavoro di Peterson et al. non supportano un ruolo indipendente dello stato ipertiroideo nell'influenzare le concentrazioni sieriche di SDMA. Ci sono tuttavia indicazioni per ritenere utili ulteriori studi sul metabolismo della dimetilarginina simmetrica nel gatto, in particolare in corso di ipertiroidismo.

Il secondo obiettivo dello studio era valutare se l'SDMA fosse un marker valido per identificare alla diagnosi i gatti ipertiroidei che svilupperanno iperazotemia a seguito della terapia. Sulla base dei risultati ottenuti non è stato possibile formulare una valutazione al riguardo. Dei 24 gatti ipertiroidei inclusi è stato possibile ottenere un follow-up soltanto in 10 (41%) e di questi solo 1 (10%) ha sviluppato malattia renale cronica iperazotemica a seguito della terapia; pertanto i dati non sono sufficienti a supportare un'analisi statistica. In letteratura la percentuale di gatti ipertiroidei che sviluppa malattia renale cronica iperazotemica dopo la terapia va dal 15% al 17% nei gatti trattati con terapia medica [50,76] e dal 16% al 49% nei gatti trattati con radioterapia metabolica o tiroidectomia bilaterale [16,34,43,44,51-53,75]. Nel nostro studio la percentuale di gatti che ha sviluppato iperazotemia è stata quindi leggermente minore di quanto riportato in letteratura.

Tra i fattori che si ritiene possano influire sulla percentuale di gatti ipertiroidei che sviluppino iperazotemia a seguito della terapia, vanno considerati il periodo di follow-up e l'eventuale comparsa di ipotiroidismo iatrogeno a seguito della terapia. Per quanto riguarda il follow-up, in base ai dati disponibili in letteratura, nei gatti trattati con ¹³¹I la GFR inizia a diminuire dopo 7 giorni dalla terapia, continua a diminuire fino a 30 giorni, quindi tende a stabilizzarsi o diminuire per valori minimi e non significativi clinicamente [21,44,51]. La creatinina sierica può aumentare fino a 6-8 mesi dopo l'inizio della terapia, sebbene nella maggior parte dei casi siano già osservabili degli incrementi clinicamente significativi dopo 1 mese [16,44,51]. In questo studio il periodo di follow-up è variato tra i 14 giorni ed i 3 mesi dall'inizio della terapia. In questo periodo il 90% dei gatti ha mostrato un aumento della creatinina sierica, ma solo in un 1 gatto la creatinina è aumentata oltre l'intervallo di riferimento portando ad una diagnosi di malattia renale cronica iperazotemica. L'aumento della creatinina in questi pazienti è imputabile alla riduzione della GFR, tuttavia un altro fattore che potrebbe aver contribuito all'aumento della creatinina è l'aumento della massa muscolare magra, dal momento che 8/10 (80%) gatti hanno mostrato un aumento di peso significativo dopo la terapia. È possibile che alcuni dei gatti in cui la creatinina è aumentata all'interno dell'intervallo di riferimento dopo la terapia possano aver successivamente sviluppato iperazotemia con il progredire della riduzione della GFR, manifestando malattia renale cronica iperazotemica. Questa considerazione è particolarmente rilevante per i due gatti rivalutati a 14 giorni e a 1

mese, tempistiche che potrebbero essere troppo brevi per valutare correttamente la diminuzione della GFR. Nello studio di Peterson et al., in cui il follow-up è stato fissato a 6 mesi, il 16% dei gatti ipertiroidi ha sviluppato iperazotemia dopo la terapia [75]. Tuttavia, sulla base di quanto riportato in letteratura appare verosimile che un periodo di follow-up di 3 mesi sia adeguato per rilevare eventuali variazioni clinicamente rilevanti. Inoltre, aumentare eccessivamente il periodo di follow-up potrebbe aumentare la probabilità che il gatto sviluppi malattia renale cronica indipendentemente dall'ipertiroidismo.

L'insorgenza di ipotiroidismo iatrogeno a seguito della terapia è un'evenienza possibile sia a seguito di terapia medica che a seguito di radioterapia metabolica o di tiroidectomia e si correla alla comparsa di iperazotemia. Nel cane, specie in cui la forma spontanea è più comune, è ben noto come l'ipotiroidismo possa diminuire la funzionalità renale. Un'eccessiva riduzione della funzionalità tiroidea a seguito della terapia esita in un'eccessiva diminuzione della GFR con conseguente aumento dei valori di creatinina sierica anche in gatti non affetti da malattia renale cronica. In uno studio coinvolgente 80 gatti ipertiroidi sottoposti a terapia medica o radioterapia metabolica 28 (35%) hanno sviluppato ipotiroidismo clinico (caratterizzato da T₄ basso e TSH alto). Tra questi 16/28 (57%) hanno sviluppato iperazotemia [77]. Peterson et al. hanno confermato per mezzo di scintigrafia tiroidea l'insorgenza di ipotiroidismo iatrogeno in 28/42 (66%) gatti ipertiroidi divenuti iperazotemici a seguito di radioterapia metabolica. Il marker più affidabile per la diagnosi di ipotiroidismo iatrogeno in questa popolazione è risultato essere il TSH, aumentato in tutti i gatti ipotiroidi. Da notare come nei 28 gatti ipotiroidi il T₄ sia risultato diminuito solo nel 53% dei casi, percentuale non significativamente differente dal 50% dei casi in cui è risultato diminuito nei gatti iperazotemici eutiroidei con MRC [78]. Il riscontro di un T₄ normale o normale-basso e di un TSH aumentato viene definita ipotiroidismo subclinico. Sebbene nei gatti ipertiroidi lo sviluppo di iperazotemia a seguito della terapia non sia correlato ad una diminuzione del tempo di sopravvivenza, i gatti iperazotemici ipotiroidi hanno mostrato un tempo di sopravvivenza significativamente minore rispetto ai gatti iperazotemici eutiroidei con MRC [77]. Peterson et al. utilizzando un protocollo di radioterapia metabolica a basse dosi (1.9 mCi) hanno riscontrato lo sviluppo di ipotiroidismo iatrogeno in 53/262 (20%) gatti, ma solo 5/262 (1.9%) ha sviluppato

ipotiroidismo clinico. I gatti ipotiroidei a seguito della terapia hanno mostrato una maggior incidenza di iperazotemia rispetto agli eutiroidei (35.9% vs 11%). La creatinina e l'SDMA sono aumentate dopo la terapia in misura significativamente maggiore nei gatti ipotiroidei rispetto ai gatti eutiroidei [75]. Nel nostro studio tutti i gatti sono stati sottoposti a terapia medica con metimazolo. Nessuno ha presentato un T₄ basso dopo la terapia, tuttavia in nessuno è stato misurato il TSH. Aldridge et al. hanno indagato l'incidenza di ipotiroidismo iatrogeno a seguito di terapia medica in una popolazione di 125 gatti trattati con metimazolo, riscontrando un'incidenza del 20.8% [76]. Sulla base dei dati presenti in letteratura si evidenzia come qualsiasi approccio terapeutico comporti il rischio di indurre un ipotiroidismo iatrogeno. Poiché tale evenienza modifica la prognosi del paziente, è da considerare di fondamentale importanza il monitoraggio della funzionalità tiroidea nei mesi successivi alla terapia.

Lo studio presenta alcune limitazioni. Il numero ridotto di casi inclusi ha diminuito la potenza dei test statistici effettuati ed il numero esiguo di gatti per cui è stato possibile ottenere un follow-up adeguato ha impedito la creazione di gruppi idonei ad una valutazione dell'attendibilità dell'SDMA come marker predittivo. La natura parzialmente retrospettiva non ha permesso di uniformare la durata della terapia con metimazolo nel gruppo ipertiroidei prima della valutazione al follow-up. Per lo stesso motivo non è stato possibile ottenere in tutti i gatti dati clinici rilevanti quali la pressione arteriosa sistemica ed il peso specifico urinario, che sono quindi stati esclusi dalla valutazione statistica effettuata. Infine, in nessuno dei gatti è stata valutata la velocità di filtrazione glomerulare che rappresenta il gold standard per la valutazione della funzionalità renale. Tale metodica non è di uso comune in ambito clinico, pertanto non è tra i dati reperibili all'interno di uno studio retrospettivo.

6. CONCLUSIONI

Sulla base dei risultati di questo studio e di quanto presente ad oggi in letteratura non esistono dati a supporto di un ruolo indipendente dell'ipertiroidismo felino nell'influenzare la concentrazione sierica di SDMA. La correlazione tra SDMA e creatinina sierica è mantenuta nella popolazione di gatti ipertiroidei, migliorando dopo la terapia. Questi riscontri supportano l'ipotesi che l'SDMA sia un marker di funzionalità renale affidabile nei gatti affetti da ipertiroidismo, nonostante non sia stata valutata la sua correlazione con la GFR in questo tipo di popolazione. Non è stato possibile ottenere indicazioni sull'efficacia dell'SDMA come marker in grado di predire l'insorgenza di iperazotemia a seguito della terapia con metimazolo nei gatti ipertiroidei. Al fine di delineare con maggior precisione il metabolismo dell'SDMA ed il suo ruolo come biomarker nella popolazione di gatti ipertiroidei, sono auspicabili ulteriori studi che prendano in considerazione dati clinici quali velocità di filtrazione glomerulare e pressione arteriosa sistemica.

BIBLIOGRAFIA

1. Peterson M, Johnson J, Andrews L Spontaneous hyperthyroidism in the cat. *Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine* 1979; **108**.
2. Peterson ME Animal models of disease: feline hyperthyroidism: an animal model for toxic nodular goiter. *J Endocrinol* 2014; **223**: T97-114.
3. Scott-Moncrieff JC. Feline Hyperthyroidism. In: Elsevier, ed. *Canine and Feline Endocrinology*, 2015: 136-95.
4. Peterson M Hyperthyroidism in cats: what's causing this epidemic of thyroid disease and can we prevent it? *J Feline Med Surg* 2012; **14**: 804-18.
5. Chow K, Hearn LK, Zuber M, Beatty JA, Mueller JF, Barrs VR Evaluation of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in matched cat sera and house dust samples: investigation of a potential link between PBDEs and spontaneous feline hyperthyroidism. *Environ Res* 2015; **136**: 173-9.
6. Guo W, Park JS, Wang Y, et al. High polybrominated diphenyl ether levels in California house cats: house dust a primary source? *Environ Toxicol Chem* 2012; **31**: 301-6.
7. Mensching DA, Slater M, Scott JW, Ferguson DC, Beasley VR The feline thyroid gland: a model for endocrine disruption by polybrominated diphenyl ethers (PBDEs)? *J Toxicol Environ Health A* 2012; **75**: 201-12.
8. van Hoek I, Hesta M, Biourge V A critical review of food-associated factors proposed in the etiology of feline hyperthyroidism. *J Feline Med Surg* 2015; **17**: 837-47.
9. McLean JL, Lobetti RG, Schoeman JP Worldwide prevalence and risk factors for feline hyperthyroidism: A review. *J S Afr Vet Assoc* 2014; **85**: 1097.
10. Norrgran J, Jones B, Lindquist NG, Bergman A Decabromobiphenyl, polybrominated diphenyl ethers, and brominated phenolic compounds in serum of cats diagnosed with the endocrine disease feline hyperthyroidism. *Arch Environ Contam Toxicol* 2012; **63**: 161-8.
11. Norrgran J, Jones B, Bignert A, Athanassiadis I, Bergman Å Higher PBDE serum concentrations may be associated with feline hyperthyroidism in Swedish cats. *Environ Sci Technol* 2015; **49**: 5107-14.
12. Wakeling J, Elliott J, Syme H Evaluation of predictors for the diagnosis of hyperthyroidism in cats. *J Vet Intern Med* 2011; **25**: 1057-65.
13. Olczak J, Jones BR, Pfeiffer DU, Squires RA, Morris RS, Markwell PJ Multivariate analysis of risk factors for feline hyperthyroidism in New Zealand. *N Z Vet J* 2005; **53**: 53-8.
14. Wang W, Li C, Summer SN, Falk S, Schrier RW Polyuria of thyrotoxicosis: downregulation of aquaporin water channels and increased solute excretion. *Kidney Int* 2007; **72**: 1088-94.
15. van der Woerd A, Peterson ME Prevalence of ocular abnormalities in cats with hyperthyroidism. *J Vet Intern Med* 2000; **14**: 202-3.

16. Williams TL, Peak KJ, Brodbelt D, Elliott J, Syme HM Survival and the development of azotemia after treatment of hyperthyroid cats. *J Vet Intern Med* 2010; **24**: 863-9.
17. Syme HM Cardiovascular and renal manifestations of hyperthyroidism. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2007; **37**: 723-43, vi.
18. Broussard JD, Peterson ME, Fox PR Changes in clinical and laboratory findings in cats with hyperthyroidism from 1983 to 1993. *J Am Vet Med Assoc* 1995; **206**: 302-5.
19. Boretti FS, Sieber-Ruckstuhl NS, Gerber B, et al. Thyroid enlargement and its relationship to clinicopathological parameters and T(4) status in suspected hyperthyroid cats. *J Feline Med Surg* 2009; **11**: 286-92.
20. Thoday KL, Mooney CT Historical, clinical and laboratory features of 126 hyperthyroid cats. *Vet Rec* 1992; **131**: 257-64.
21. van Hoek I, Lefebvre HP, Peremans K, et al. Short- and long-term follow-up of glomerular and tubular renal markers of kidney function in hyperthyroid cats after treatment with radioiodine. *Domest Anim Endocrinol* 2009; **36**: 45-56.
22. Peterson ME More than just T₄: diagnostic testing for hyperthyroidism in cats. *J Feline Med Surg* 2013; **15**: 765-77.
23. Peterson ME, Melián C, Nichols R Measurement of serum concentrations of free thyroxine, total thyroxine, and total triiodothyronine in cats with hyperthyroidism and cats with nonthyroidal disease. *J Am Vet Med Assoc* 2001; **218**: 529-36.
24. Kasagi K, Kousaka T, Misaki T, Iwata M, Alam MS, Konishi J Comparison of serum thyrotrophin concentrations determined by a third generation assay in patients with various types of overt and subclinical thyrotoxicosis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999; **50**: 185-9.
25. Wakeling J, Smith K, Scase T, Kirkby R, Elliott J, Syme H Subclinical hyperthyroidism in cats: a spontaneous model of subclinical toxic nodular goiter in humans? *Thyroid* 2007; **17**: 1201-9.
26. Wakeling J Use of thyroid stimulating hormone (TSH) in cats. *Can Vet J* 2010; **51**: 33-4.
27. Peterson ME, Guterl JN, Nichols R, Rishniw M Evaluation of Serum Thyroid-Stimulating Hormone Concentration as a Diagnostic Test for Hyperthyroidism in Cats. *J Vet Intern Med* 2015; **29**: 1327-34.
28. Harvey AM, Hibbert A, Barrett EL, et al. Scintigraphic findings in 120 hyperthyroid cats. *J Feline Med Surg* 2009; **11**: 96-106.
29. Daminet S, Kooistra HS, Fracassi F, et al. Best practice for the pharmacological management of hyperthyroid cats with antithyroid drugs. *J Small Anim Pract* 2014; **55**: 4-13.
30. Hill KE, Gieseg MA, Kingsbury D, Lopez-Villalobos N, Bridges J, Chambers P The efficacy and safety of a novel lipophilic formulation of methimazole for the once daily transdermal treatment of cats with hyperthyroidism. *J Vet Intern Med* 2011; **25**: 1357-65.
31. Boretti FS, Sieber-Ruckstuhl NS, Schäfer S, et al. Transdermal application of methimazole in hyperthyroid cats: a long-term follow-up study. *J Feline Med Surg* 2014; **16**: 453-9.

32. Sartor LL, Trepanier LA, Kroll MM, Rodan I, Challoner L Efficacy and safety of transdermal methimazole in the treatment of cats with hyperthyroidism. *J Vet Intern Med* 2004; **18**: 651-5.
33. Trepanier LA Medical management of hyperthyroidism. *Clin Tech Small Anim Pract* 2006; **21**: 22-8.
34. Riensche MR, Graves TK, Schaeffer DJ An investigation of predictors of renal insufficiency following treatment of hyperthyroidism in cats. *J Feline Med Surg* 2008; **10**: 160-6.
35. Peterson ME, Becker DV Radioiodine treatment of 524 cats with hyperthyroidism. *J Am Vet Med Assoc* 1995; **207**: 1422-8.
36. Naan EC, Kirpensteijn J, Kooistra HS, Peeters ME Results of thyroidectomy in 101 cats with hyperthyroidism. *Vet Surg* 2006; **35**: 287-93.
37. Birchard SJ Thyroidectomy in the cat. *Clin Tech Small Anim Pract* 2006; **21**: 29-33.
38. Radlinsky MG Thyroid surgery in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2007; **37**: 789-98, viii.
39. Watson N, Murray JK, Fonfara S, Hibbert A Clinicopathological features and comorbidities of cats with mild, moderate or severe hyperthyroidism: a radioiodine referral population. *J Feline Med Surg* 2018: 1098612X18755925.
40. Hui TY, Bruyette DS, Moore GE, Scott-Moncrieff JC Effect of Feeding an Iodine-Restricted Diet in Cats with Spontaneous Hyperthyroidism. *J Vet Intern Med* 2015; **29**: 1063-8.
41. van der Kooij M, Bečvářová I, Meyer HP, Teske E, Kooistra HS Effects of an iodine-restricted food on client-owned cats with hyperthyroidism. *J Feline Med Surg* 2014; **16**: 491-8.
42. Scott-Moncrieff JC, Heng HG, Weng HY, Dimeo D, Jones MD Effect of a Limited Iodine Diet on Iodine Uptake by Thyroid Glands in Hyperthyroid Cats. *J Vet Intern Med* 2015; **29**: 1322-6.
43. Milner RJ, Channell CD, Levy JK, Schaer M Survival times for cats with hyperthyroidism treated with iodine 131, methimazole, or both: 167 cases (1996-2003). *J Am Vet Med Assoc* 2006; **228**: 559-63.
44. Boag AK, Neiger R, Slater L, Stevens KB, Haller M, Church DB Changes in the glomerular filtration rate of 27 cats with hyperthyroidism after treatment with radioactive iodine. *Vet Rec* 2007; **161**: 711-5.
45. van Hoek IM, Lefebvre HP, Paepe D, Croubels S, Biourge V, Daminet S Comparison of plasma clearance of exogenous creatinine, exo-iohexol, and endo-iohexol over a range of glomerular filtration rates expected in cats. *J Feline Med Surg* 2009; **11**: 1028-30.
46. Jepson RE, Brodbelt D, Vallance C, Syme HM, Elliott J Evaluation of predictors of the development of azotemia in cats. *J Vet Intern Med* 2009; **23**: 806-13.
47. Chakrabarti S, Syme HM, Elliott J Clinicopathological variables predicting progression of azotemia in cats with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 2012; **26**: 275-81.

48. Peterson ME, Castellano CA, Rishniw M Evaluation of Body Weight, Body Condition, and Muscle Condition in Cats with Hyperthyroidism. *J Vet Intern Med* 2016; **30**: 1780-9.
49. Vaske HH, Schermerhorn T, Grauer GF Effects of feline hyperthyroidism on kidney function: a review. *J Feline Med Surg* 2016; **18**: 55-9.
50. Becker TJ, Graves TK, Kruger JM, Braselton WE, Nachreiner RF Effects of methimazole on renal function in cats with hyperthyroidism. *J Am Anim Hosp Assoc* 2000; **36**: 215-23.
51. Adams WH, Daniel GB, Legendre AM, Gompf RE, Grove CA Changes in renal function in cats following treatment of hyperthyroidism using 131I. *Vet Radiol Ultrasound* 1997; **38**: 231-8.
52. Graves TK, Olivier NB, Nachreiner RF, Kruger JM, Walshaw R, Stickle RL Changes in renal function associated with treatment of hyperthyroidism in cats. *Am J Vet Res* 1994; **55**: 1745-9.
53. Slater MR, Geller S, Rogers K Long-term health and predictors of survival for hyperthyroid cats treated with iodine 131. *J Vet Intern Med* 2001; **15**: 47-51.
54. van Hoek I, Lefebvre HP, Kooistra HS, et al. Plasma clearance of exogenous creatinine, exo-iohexol, and endo-iohexol in hyperthyroid cats before and after treatment with radioiodine. *J Vet Intern Med* 2008; **22**: 879-85.
55. Vandermeulen E, van Hoek I, De Sadeleer C, et al. A single sample method for evaluating 51chromium-ethylene diamine tetraacetic acid clearance in normal and hyperthyroid cats. *J Vet Intern Med* 2008; **22**: 266-72.
56. Williams TL, Dillon H, Elliott J, Syme HM, Archer J Serum Cystatin C Concentrations in Cats with Hyperthyroidism and Chronic Kidney Disease. *J Vet Intern Med* 2016; **30**: 1083-9.
57. Williams TL, Elliott J, Syme HM Association between urinary vascular endothelial growth factor excretion and chronic kidney disease in hyperthyroid cats. *Res Vet Sci* 2014; **96**: 436-41.
58. van Hoek I, Meyer E, Duchateau L, Peremans K, Smets P, Daminet S Retinol-binding protein in serum and urine of hyperthyroid cats before and after treatment with radioiodine. *J Vet Intern Med* 2009; **23**: 1031-7.
59. Williams TL, Elliott J, Syme HM, Archer J Investigation of the association between serum protein concentrations and concurrent chronic kidney disease in hyperthyroid cats. *Res Vet Sci* 2017; **115**: 412-7.
60. Tain YL, Hsu CN
Toxic Dimethylarginines: Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) and Symmetric Dimethylarginine (SDMA). *Toxins (Basel)* 2017; **9**.
61. Schepers E, Speer T, Bode-Böger SM, Fliser D, Kielstein JT Dimethylarginines ADMA and SDMA: the real water-soluble small toxins? *Semin Nephrol* 2014; **34**: 97-105.
62. Kielstein JT, Salpeter SR, Bode-Boeger SM, Cooke JP, Fliser D Symmetric dimethylarginine (SDMA) as endogenous marker of renal function--a meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant* 2006; **21**: 2446-51.
63. Kielstein JT, Fliser D, Veldink H Asymmetric dimethylarginine and symmetric dimethylarginine: axis of evil or useful alliance? *Semin Dial* 2009; **22**: 346-50.

64. Ittermann T, Bahls M, Atzler D, et al. L-Arginine Derivatives Are Associated with the Hyperthyroid State in the General Population. *Thyroid* 2016; **26**: 212-8.
65. Arikan E, Karadag CH, Guldiken S Asymmetric dimethylarginine levels in thyroid diseases. *J Endocrinol Invest* 2007; **30**: 186-91.
66. Pedersen LG, Tarnow I, Olsen LH, Teerlink T, Pedersen HD Body size, but neither age nor asymptomatic mitral regurgitation, influences plasma concentrations of dimethylarginines in dogs. *Res Vet Sci* 2006; **80**: 336-42.
67. Jepson RE, Syme HM, Vallance C, Elliott J Plasma asymmetric dimethylarginine, symmetric dimethylarginine, l-arginine, and nitrite/nitrate concentrations in cats with chronic kidney disease and hypertension. *J Vet Intern Med* 2008; **22**: 317-24.
68. Braff J, Obare E, Yerramilli M, Elliott J Relationship between serum symmetric dimethylarginine concentration and glomerular filtration rate in cats. *J Vet Intern Med* 2014; **28**: 1699-701.
69. Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Jewell DE Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in cats with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 2014; **28**: 1676-83.
70. Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Yu S, Jewell DE Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in healthy geriatric cats fed reduced protein foods enriched with fish oil, L-carnitine, and medium-chain triglycerides. *Vet J* 2014; **202**: 588-96.
71. Paltrinieri S, Giraldi M, Prolo A, et al. Serum symmetric dimethylarginine and creatinine in Birman cats compared with cats of other breeds. *J Feline Med Surg* 2017: 1098612X17734066.
72. Reynolds BS, Concordet D, Germain CA, Daste T, Boudet KG, Lefebvre HP Breed dependency of reference intervals for plasma biochemical values in cats. *J Vet Intern Med* 2010; **24**: 809-18.
73. Langhorn R, Kieler IN, Koch J, Christiansen LB, Jessen LR Symmetric Dimethylarginine in Cats with Hypertrophic Cardiomyopathy and Diabetes Mellitus. *J Vet Intern Med* 2018; **32**: 57-63.
74. Martens-Lobenhoffer J, Bode-Böger SM Chromatographic-mass spectrometric methods for the quantification of L-arginine and its methylated metabolites in biological fluids. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007; **851**: 30-41.
75. Peterson ME, Varela FV, Rishniw M, Polzin DJ Evaluation of Serum Symmetric Dimethylarginine Concentration as a Marker for Masked Chronic Kidney Disease in Cats With Hyperthyroidism. *J Vet Intern Med* 2018; **32**: 295-304.
76. Aldridge C, Behrend EN, Martin LG, et al. Evaluation of thyroid-stimulating hormone, total thyroxine, and free thyroxine concentrations in hyperthyroid cats receiving methimazole treatment. *J Vet Intern Med* 2015; **29**: 862-8.
77. Williams TL, Elliott J, Syme HM Association of iatrogenic hypothyroidism with azotemia and reduced survival time in cats treated for hyperthyroidism. *J Vet Intern Med* 2010; **24**: 1086-92.
78. Peterson ME, Nichols R, Rishniw M Serum thyroxine and thyroid-stimulating hormone concentration in hyperthyroid cats that develop azotaemia after radioiodine therapy. *J Small Anim Pract* 2017; **58**: 519-30.