



HAL
open science

Diabète insipide: étude rétrospective des cas vus au ChuvA entre 2003 et 2022 et tentative de validation du dosage de la copeptine afin d'évaluer son intérêt dans l'exploitation d'une polyuro-polydipsie

Rémi Regnard

► **To cite this version:**

Rémi Regnard. Diabète insipide: étude rétrospective des cas vus au ChuvA entre 2003 et 2022 et tentative de validation du dosage de la copeptine afin d'évaluer son intérêt dans l'exploitation d'une polyuro-polydipsie. Médecine vétérinaire et santé animale. 2023. dumas-04299777

HAL Id: dumas-04299777

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04299777v1>

Submitted on 22 Nov 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Copyright

Année 2023

**DIABÈTE INSIPIDE : ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DES CAS
VUS AU CHUVA ENTRE 2003 ET 2022 ET TENTATIVE DE
VALIDATION DU DOSAGE DE LA COPEPTINE AFIN
D'ÉVALUER SON INTÉRÊT DANS L'EXPLORATION D'UNE
POLYURO-POLYDIPSIE**

THÈSE

Pour obtenir le diplôme d'État de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE
présentée et soutenue publiquement devant
la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)
le 25 juillet 2023

par

Rémi, Jean, Rio REGNARD

sous la direction de
Ghita BENCHEKROUN

JURY

Président du jury :	M. Renaud TISSIER	Professeur à l'EnvA
Directrice de thèse :	Mme Ghita BENCHEKROUN	Maître de Conférences à l'EnvA
Examinatrice :	Mme Delphine LE ROUX	Maître de Conférences à l'EnvA
Membre invité :	Mme Inès BARTHÉLÉMY	Ingénieur de recherche - Praticien Hospitalier à l'EnvA

Liste des enseignants intervenant dans l'encadrement des thèses de Doctorat vétérinaire



version juin 2023

Liste des Professeurs et Maîtres de conférences titulaires de l'HDR

M	Adjou	Karim	Professeur	DPASP
M	Audigié	Fabrice	Professeur	DEPEC
M	Bellier	Sylvain	Professeur	DSBP
M	Blaga	Radu	Professeur	DSBP
M	Blot	Stéphane	Professeur	DEPEC
M	Boulouis	Henri-Jean	Professeur émérite	DSBP
Mme	Chahory	Sabine	Professeur	DEPEC
M	Chateau	Henry	Professeur	DSBP
Mme	Chetboul	Valerie	Professeur	DEPEC
Mme	Crevier-Denoix	Nathalie	Professeur	DSBP
M	Degueurce	Christophe	Professeur	DSBP
M	Denoix	Jean-Marie	Professeur	DEPEC
M	Desquilbet	Loïc	Professeur	DSBP
Mme	Dufour	Barbara	Professeur émérite	DPASP
M	Eloit	Marc	Professeur	DSBP
M	Fayolle	Pascal	Professeur émérite	DEPEC
M	Federighi	Michel	Professeur	DPASP
M	Fontbonne	Alain	Professeur	DEPEC
Mme	Gilbert	Caroline	Professeur	DSBP
M	Grandjean	Dominique	Professeur	DEPEC
Mme	Grimard-Ballif	Bénédicte	Professeur	DPASP
Mme	Haddad-Hoang Xuan	Nadia	Professeur	DPASP
M	Jouvion	Gregory	Professeur	DSBP
M	Kohlhauer	Matthias	Professeur	DSBP
Mme	Le Poder	Sophie	Professeur	DSBP
Mme	Le Roux	Delphine	Maître de conférences HDR	DSBP
M	Manassero	Mathieu	Professeur	DEPEC
Mme	Maurey-Guéneç	Christelle	Professeur	DEPEC
M	Millemann	Yves	Professeur	DPASP
Mme	Pilot-Storck	Fanny	Professeur	DSBP
M	Ponter	Andrew	Professeur	DPASP
Mme	Risco-Castillo	Véronica	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Rivière	Julie	Maître de conférences HDR	DPASP
Mme	Robert	Céline	Professeur	DSBP
M	Tiret	Laurent	Professeur	DSBP
M	Tissier	Renaud	Professeur	DSBP
M	Verwaerde	Patrick	Professeur	DEPEC
Mme	Viateau	Véronique	Professeur	DEPEC

Liste des Maîtres de conférences et Ingénieurs de recherche DMV

M	Arné	Pascal	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barassin	Isabelle	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barbarino	Alix	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Benckekroun	Chita	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Bertoni	Lelia	Maître de conférences	DEPEC
M	Bolnot	Francois	Maître de conférences	DPASP
Mme	Canonne-Guibert	Morgane	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Chevallier	Lucie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Cochet-Faivre	Noëlle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Cordonnier-Lefort	Nathalie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Coudry	Virginie	ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Crepeaux	Guillemette	Maître de conférences	DSBP
M	Crozet	Guillaume	Maître de conférences	DPASP
Mme	De Paula Reis	Alline	Maître de conférences	DPASP
M	Delsart	Maxime	Maître de conférences associé	DPASP
Mme	Denis	Marine	Ingénieur de recherche (DMV)	DPASP
M	Deshuillers	Pierre	Maître de conférences	DSBP
M	Gauthier	Michel	Maître de conférences associé	DPASP
Mme	Guérin	Virginie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Guétin-Poirier	Valentine	Maître de conférences	DPASP
Mme	Jacquet	Sandrine	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Kurtz	Maxime	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Lagré	Anne-Claire	Maître de conférences	DSBP
Mme	Le Dudal	Marine	Ingénieur de recherche (DMV)	DSBP
Mme	Legrand	Chantal	Maître de conférences associé	DSBP
M	Mammeri	Mohamed	Maître de conférences	DSBP
Mme	Manguin	Estelle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Marignac	Genevieve	Maître de conférences	DSBP
Mme	Marotto	Stéphanie	ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Maufré	Vincent	Maître de conférences	DPASP
Mme	Maurice	Emeline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Mespoules-Rivière	Céline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Mtimet	Narjès	Maître de conférences	DPASP
M	Mortier	Jérémy	Maître de conférences associé	DEPEC
M	Nudelmann	Nicolas	Maître de conférences	DEPEC
M	Pignon	Charly	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Polack	Bruno	Maître de conférences	DSBP
Mme	Quéré	Émilie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Ravary-Plumioën	Bérandgère	Ingénieur de recherche (DMV)	DPASP
M	Reyes-Gomez	Edouard	Maître de conférences	DSBP
Mme	Rose	Hélène	Maître de conférences associé	DSBP
M	Tanquerel	Ludovic	Maître de conférences	DEPEC

Remerciements

À M. Renaud Tissier, Professeur à l'EnvA,

Pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de thèse, pour son sens de la transmission, mes hommages respectueux.

À Mme Ghita Benchekroun, Maître de conférences à l'EnvA,

Pour m'avoir fait l'honneur de me proposer ce sujet et de la diriger, pour sa disponibilité et ses précieux conseils lors de ce travail, pour ses recommandations à l'internat et tout son soutien dont elle a fait preuve à mon égard durant mon parcours à l'école, très sincères remerciements.

À Mme Delphine Le Roux, Maître de conférences à l'EnvA,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de faire partie du jury de cette thèse, pour son temps pris pour la relecture de ce manuscrit et sa pédagogie lors de la réalisation de la partie expérimentale, très sincères remerciements.

À Mme Inès Barthélémy, Docteure vétérinaire au service de recherche biomédicale de l'EnvA,

Pour sa bienveillance et sa gentillesse, pour tout le temps qu'elle a consacré à cette thèse, très sincères remerciements.

À M. Antoine Chamagne, Assistant hospitalier au service de médecine interne de l'EnvT,

Pour m'avoir transmis sa passion de la copeptine, pour sa sympathie, ses conseils et soutien depuis mon entrée dans l'école, très sincères remerciements.

À ma famille, à mes amis,

Pour votre amour et soutien inconditionnel, merci infiniment.

Table des matières

Liste des figures.....	5
Liste des tableaux	7
Liste des abréviations.....	9
Introduction	11
Première partie : Etude Bibliographique	13
1. Rappels physiologiques sur le rôle de l'hormone anti-diurétique (ADH) : action et régulation	
13	
A. <i>Biosynthèse et structure de l'hormone anti-diurétique</i>	13
a. L'hypothalamus, une glande neuroendocrine	13
b. L'ADH, une hormone peptidique	14
c. La biosynthèse de l'ADH.....	15
B. <i>Effets biologiques de l'ADH</i>	16
a. Tissus et récepteurs cibles.....	16
b. Mécanisme cellulaire de l'ADH	18
c. Le rôle de l'ADH dans l'homéostasie de l'eau.....	19
C. <i>Régulation de l'action de l'ADH</i>	22
a. Stimulus physiologiques de la sécrétion d'ADH	22
b. Inter-régulation de l'ADH et du système endocrine	23
c. Altérations du système de l'ADH.....	24
2. Le diabète insipide en médecine vétérinaire.....	26
A. <i>Définition et importance du diabète insipide dans le diagnostic différentiel de la PUPD</i>	26
a. Définition de la PUPD	26
b. Physiopathogénie et diagnostic différentiel de la PUPD	26
B. <i>Diabète insipide central : étiologie, épidémiologie et examen clinique</i>	27
a. Etiologie	27
b. Epidémiologie	30
c. Signalement et examen clinique	30
C. <i>Diabète insipide néphrogénique : étiologie, épidémiologie et examen clinique</i>	31
a. Etiologie	31
b. Epidémiologie	33
c. Signalement et examen clinique	34
D. <i>Diagnostic du diabète insipide</i>	34
a. La démarche diagnostique à adopter lors de diabète insipide	34
b. Modifications paracliniques attendues lors de diabète insipide.....	35
c. Le test de restriction hydrique	37
d. Alternatives diagnostiques	41
e. Différencier diabète insipide central, diabète insipide néphrogénique et polydipsie psychogène	42
f. Déterminer la cause du diabète insipide	44
E. <i>Traitement du diabète insipide</i>	44
a. Traitement du diabète insipide central	45
b. Traitement du diabète insipide néphrogénique	47
F. <i>Pronostic lors de diabète insipide</i>	48
3. Le diabète insipide en médecine humaine.....	50
A. <i>Etiologie du diabète insipide en médecine humaine</i>	50
a. Diabète insipide central.....	50
b. Diabète insipide néphrogénique.....	51
B. <i>Signes cliniques lors de diabète insipide</i>	52
C. <i>Diagnostic du diabète insipide en médecine humaine</i>	52
a. Confirmation de la PUPD et examens de première intention	52
b. Caractérisation du diabète insipide	52

D. Traitement du diabète insipide en médecine humaine	55
a. Traitement du diabète insipide central	55
b. Traitement du diabète insipide néphrogénique	55
Deuxième partie : étude rétrospective	57
1. Contexte de l'étude	57
2. Matériel et méthode.....	57
A. Population d'étude et critères d'inclusion.....	57
B. Recueil des données.....	58
a. Données épidémiologiques et anamnestiques.....	58
b. Données cliniques.....	58
c. Données paracliniques : examen hémato-biochimique, analyse d'urine, test de confirmation du diabète insipide	59
d. Traitement, délai diagnostique et durée de suivi	59
e. Statistiques	59
3. Résultats	60
A. Cas de diabète insipide chez le chien.....	60
a. Epidémiologie	60
b. Anamnèse et commémoratifs	62
c. Signes cliniques	63
d. Exploration et confirmation du diabète insipide.....	64
e. Traitement et suivi.....	73
B. Cas de diabète insipide chez le chat	74
a. Epidémiologie	74
b. Anamnèse et commémoratifs	75
c. Signes cliniques	76
d. Exploration et confirmation du diabète insipide.....	76
e. Traitement et suivi.....	83
4. Discussion.....	84
A. Epidémiologie.....	84
B. Anamnèse et commémoratifs	84
C. Signes cliniques	84
D. Examens complémentaires.....	85
a. Examens d'orientation.....	85
b. Analyse d'urine	86
c. Confirmation du diabète insipide	86
E. Traitement et suivi.....	87
5. Conclusion et limite de l'étude	88
Troisième partie : étude expérimentale	89
1. Introduction	89
2. Objectifs de l'étude.....	90
A. Objectifs	90
B. Hypothèses	91
3. Matériels et méthodes	91
A. Chronologie de l'étude	91
B. Animaux	92
C. Détail des protocoles réalisés	92
a. Protocole de restriction hydrique.....	93
b. Période de repos entre les deux protocoles.....	93
c. Protocole de stimulation hypertonique	93
d. Mesure de la concentration basale en ADH.....	95
D. Prélèvements	95
E. Variable mesurées	95
a. Mesure de la concentration en copeptine	95
b. Calcul de l'osmolarité sanguine	97

c. Mesure de la concentration en ADH	98
F. Analyses statistiques.....	98
4. Validation du kit « Canine Copeptin ELISA Kit ».....	98
A. Obtention des données brutes.....	98
B. Etablissement de la courbe standard.....	99
C. Test de linéarité.....	100
5. Etude de la concentration en ADH face à la restriction hydrique et stimulation hypertonique	101
A. Objectifs	101
B. Comparaison de la capacité des protocoles à induire une hausse de l'osmolarité sanguine	102
C. Concentration sanguine basale en ADH.....	103
D. Evolution de la concentration en ADH lors de la variation de l'osmolarité sanguine	104
a. Privation hydrique	104
b. Stimulation hypertonique.....	104
E. Corrélation entre l'osmolarité sanguine et la concentration en ADH	105
6. Discussion.....	107
A. Retour sur le dosage de la copeptine : hypothèses expliquant le défaut de linéarité	107
B. Retour sur le dosage de l'ADH	108
Conclusion.....	109
Liste des références bibliographiques	111
Annexe 1	119
Annexe 2	123
Annexe 3	125

Liste des figures

Figure 1 : Structure de l'hypothalamo-hypophyse, d'après (Fox, 2018)	14
Figure 2 : Structure peptidique de l'ADH	14
Figure 3 : Biosynthèse de l'ADH, traduit de (Thompson et Verbalis, 2020).....	15
Figure 4 : Action de l'ADH dans les cellules du tube collecteur (Robben <i>et al.</i> , 2006)	19
Figure 5 : Action de l'ADH sur le volume urinaire (gauche) et sur l'osmolarité urinaire (droite), d'après (Shiel, 2017a).....	21
Figure 6 : Relation entre la concentration plasmatique d'ADH et l'osmolarité sanguine (Shiel, 2017a)	22
Figure 7 : Altérations iatrogènes et pathologiques de l'axe de l'ADH, traduit de (Di Bartola, 2011; Nelson, 2014).....	25
Figure 8 : Interprétation du test de restriction hydrique, valeurs seuil d'après (Nelson, 2014).....	40
Figure 9 : Effectifs des chiens diagnostiqués de diabète insipide central par année au CHUVA	60
Figure 10 : Répartition des chiens de l'étude selon l'âge lors de la première consultation (nombre d'individus, %).....	61
Figure 11 : Répartition des chiens de l'étude selon le poids lors de la première consultation (nombre d'individus, %).....	62
Figure 12 : Répartition des effectifs de l'étude selon la densité urinaire à l'admission	66
Figure 13 : Effectif des chats diagnostiqués de diabète insipide central par année au CHUVA	74
Figure 14 : Répartition des chats selon l'âge lors de la première consultation	75
Figure 15 : Répartition des individus selon leur densité urinaire à l'admission	78
Figure 16 : Démarche diagnostique reposant sur la copeptine, traduit de (Refardt et al., 2019)	90
Figure 17 : Résumé du protocole de restriction hydrique puis de stimulation hypertonique	94
Figure 18 : Plaque ELISA après ajout de la "solution stop"	96
Figure 19 : Dosage de la copeptine canine par ELISA compétitif (Kit AMS Bio)	97
Figure 20 : Courbe étalon reliant la concentration en copeptine à l'inverse de l'absorbance.....	100
Figure 21 : Osmolarité avant la réalisation et à l'issue des protocoles de privation hydrique et de infusion hypertonique réalisés sur la cohorte 2.....	102
Figure 22 : Répartition des concentrations en ADH	103
Figure 23 : Evolution de la concentration en ADH après de la restriction hydrique	104

Figure 24 : Evolution de la concentration en ADH lors de stimulation hypertonique.....	105
Figure 25 : Concentration en ADH lors des protocoles de privation hydrique et infusion hypertonique selon l'osmolarité calculée.....	106
Figure 26 : Linéarité fournie par le manuel d'utilisation du kit CPP ELISA de AMSBio.....	107

Liste des tableaux

Tableau 1 : Maladies intercurrentes déjà diagnostiquées chez les chiens atteints de diabète insipide lors du diagnostic	63
Tableau 2 : Médiane et extremum des analyses biochimiques effectuées.....	64
Tableau 3 : Médiane et extremum des concentrations en ions	65
Tableau 4 : Déroulé des tests de restriction hydrique	68
Tableau 5 : Déroulement des tests à l'épreuve thérapeutique	69
Tableau 6 : Etiologie présomptive des cas de DIC canins	72
Tableau 7 : Médiane et extremum des analyses biochimiques effectuées.....	76
Tableau 8 : Médiane et extremum des concentrations des électrolytes mesurés.....	77
Tableau 9 : Déroulé des tests de restriction hydrique	80
Tableau 10 : Déroulé des tests à l'épreuve thérapeutique	81
Tableau 11 : Mesure de l'absorbance des échantillons par spectrophotométrie	99
Tableau 12 : Résultats du test de linéarité.....	101

Liste des abréviations

ACTH : corticotropine
ADH : Hormone anti-diurétique
ALAT : Alanine aminotransférase
AQP : Aquaporine
AQP-2 : Aquaporine 2
AQP-3 : Aquaporine 3
AQP-4 : Aquaporine 4
AMP_c : Adénosine monophosphate cyclique
ATP : Adénosine Tri-Phosphate
BUN : Blood Urea Nitrogen
CHUVA : Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort
COX : Cyclooxygénase
COX-2 : Cyclooxygénase 2
DAG : Diacylglycérol
DI : Diabète Insipide
DIC : Diabète Insipide Central
DIN : Diabète Insipide Néphrogénique
DU : Densité Urinaire
ENVA : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
FSH : Hormone folliculostimulante
GGT : Gamma-glutamyltranspeptidase
GH : hormone de croissance
IP₃ : Inositol (1,4,5) - triphosphate
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
LH : hormone lutéinisante
ml : millilitres
mm : millimètres
mOsm : milliosmole
MSH : hormone mélanotrope
nm : nanomètre
PAL : Phosphatase Alcaline
PIP2 : Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate
PKA : Protéine Kinase A
PLC β : Phospholipase C β
pmol : picomole
PP : Polydipsie Psychogène
SIADH : Syndrome de Sécrétion Inappropriée d'ADH
SRAA : Système Rénine Angiotensine Aldostérone
TRH : Test de restriction hydrique
TSH : thyroïdostimuline

Introduction

Le diabète insipide (DI) désigne un syndrome résultant d'un déficit de synthèse / sécrétion d'hormone anti-diurétique (ADH) ou d'un défaut d'action d'ADH sur ses récepteurs situés dans les néphrons. Il en résulte une incapacité à concentrer les urines et une production exagérée d'urines diluées. Afin de conserver l'homéostasie de l'organisme, une nette augmentation de la prise de boisson est observée. Le terme de diabète insipide est trompeur, car dans le langage courant le terme de « diabète » réfère au diabète sucré, une affection dont la physiopathologie ne correspond pas à un défaut de synthèse ou d'action d'ADH mais à un défaut de synthèse d'insuline et/ou à une résistance des tissus périphériques à son action. En réalité, le terme « diabète » réfère à l'augmentation du volume urinaire. Le mot **diabète** vient d'un verbe du grec ancien qui signifie *passer au travers* comme si l'eau traversait le corps sans que les malades ne puissent la retenir. Le terme « insipide » désigne l'absence de goût de l'urine par opposition à l'urine par opposition au goût sucré des urines lors de diabète sucré.

Une grande variété d'affections peut entraîner un DI, on parlera de DI secondaire lorsqu'une affection sous-jacente est mise en évidence. À l'inverse, en absence d'une affection permettant d'expliquer le développement du DI, la maladie est dite primaire, ou idiopathique. Ainsi, la fréquence et l'épidémiologie du DI sont profondément liées à l'éventuelle affection sous-jacente. Les DI primaires sont des situations rares voire exceptionnelles en médecine vétérinaire, tandis que certains DI secondaires sont fréquents.

Si la description anamnestique du DI est variable compte tenu de la diversité des causes envisageables, la présentation clinique est souvent identique. Les animaux atteints de DI présentent une polyurie et une polydipsie majeures, sans atteinte de l'état général le plus souvent. Les propriétaires rapportent une soif insatiable, l'animal cherchant en permanence à boire quitte à délaissier l'alimentation. Enfin, l'examen clinique révèle d'autres anomalies à relier avec la maladie causale lors de DI secondaire.

Cette affection, sous sa forme primaire, étant plutôt rare, les données bibliographiques concernant sa présentation clinique, son diagnostic et son évolution sous traitement sont peu disponibles. De plus, le diagnostic de certitude repose aujourd'hui en médecine vétérinaire sur un test de restriction / privation hydrique. Il s'agit de tests difficilement interprétables, chronophages et potentiellement dangereux pour l'animal. C'est dans cette perspective que des alternatives diagnostiques existent en médecine humaine depuis plusieurs années. Ces alternatives n'ont pas été à ce jour étudiées en médecine vétérinaire.

Le but de notre travail est triple. En premier lieu, il consistera en une revue de la bibliographie vétérinaire et humaine sur le DI à ce jour. Également, cette partie s'attachera à étudier l'évolution de la démarche diagnostique du DI en médecine humaine. Historiquement, le diagnostic de certitude du DI en médecine passait par la réalisation de test de restriction hydrique. Depuis quelques années, le dosage de la copeptine apparaît comme une alternative moins risquée et plus éthique. Dans un deuxième temps, ce travail consistera en une étude rétrospective ayant pour objectif de décrire les spécificités anamnestiques, cliniques et paracliniques et de confronter ces données avec les données de la littérature. Dans un dernier temps, ce travail visera à valider le dosage de la copeptine

chez le chien et d'évaluer, sous réserve de validation d'un dosage, son intérêt dans la démarche diagnostique d'un chien présentant une polyuro-polydipsie.

Première partie : Etude Bibliographique

1. Rappels physiologiques sur le rôle de l'hormone anti-diurétique (ADH) : action et régulation

A. Biosynthèse et structure de l'hormone anti-diurétique

En 1953, le Dr Vincent Du Vigneaud identifie la structure de l'hormone anti-diurétique (ADH), il reçoit deux ans plus tard un prix Nobel pour ces travaux (Vigneaud *et al.*, 1953). L'ADH est synthétisée par l'hypothalamus et sécrétée par la neurohypophyse. Également nommée vasopressine, elle sera appelée ADH dans le reste du manuscrit.

a. L'hypothalamus, une glande neuroendocrine

L'hypothalamus et l'hypophyse sont des structures diencephaliques situées ventralement au télencéphale. L'hypophyse se loge dans une concavité dorsale de l'os sphénoïde, la selle turcique, appelée aussi fosse hypophysaire (Reimers, 2003). L'hypothalamus est relié à l'hypophyse par la tige hypophysaire, il constitue le plancher du troisième ventricule.

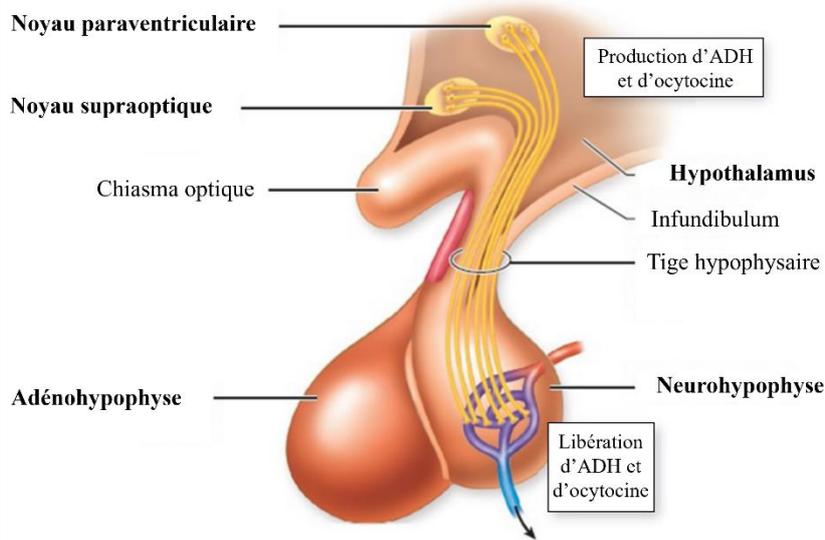
L'hypophyse est composée de l'adénohypophyse et de la neurohypophyse. Malgré leur proximité anatomique, l'adénohypophyse et la neurohypophyse possèdent une origine embryonnaire différente. La première se forme à partir de la poche de Rathke, une évagination du toit ectodermique du pharynx. Puis, elle s'élargit enveloppant alors la tige hypophysaire. Par la suite, l'adénohypophyse s'individualise du pharynx. La neurohypophyse se forme à partir du diencephale (Reimers, 2003).

L'adénohypophyse se divise en trois parties : la *pars distalis*, la *pars intermedia* et la *pars tuberalis*. La *pars distalis*, la partie la plus étendue, sécrète les hormones trophiques dont la thyrostimuline (TSH), l'hormone folliculostimulante (FSH), l'hormone lutéinisante (LH), l'hormone de croissance (GH). La *pars intermedia* sécrète la corticotropine (ACTH). La *pars tuberalis*, partie en lien avec la tige hypophysaire, produit l'hormone mélanotrope (MSH). La vascularisation de l'adénohypophyse est assurée par les artères hypophysaires supérieures et inférieures, ramifications de la carotide interne (Reimers, 2003). Un premier réseau capillaire est hypothalamique, puis un second adénohypophysaire : c'est le système porte-hypophysaire. L'innervation de l'adénohypophyse se restreint à quelques contingents de fibres nerveuses qui modulent le flux capillaire (Malven, 1993).

La Figure 1 illustre les relations anatomiques entre hypophyse et hypothalamus.

La neurohypophyse est constituée par la tige hypophysaire et la *pars nervosa*, responsable de la sécrétion des hormones peptidiques : l'ADH et l'ocytocine. La neurohypophyse est irriguée par l'artère hypophysaire inférieure et drainée par la veine jugulaire interne. De nombreuses fibres nerveuses naissent dans les noyaux supraoptiques et paraventriculaires de l'hypothalamus et se terminent dans la neurohypophyse : l'ADH et l'ocytocine sont produites et sécrétées par ces neurones, dits neurones magnocellulaires (Malven, 1993).

Figure 1 : Structure de l'hypothalamo-hypophyse, d'après (Fox, 2018)

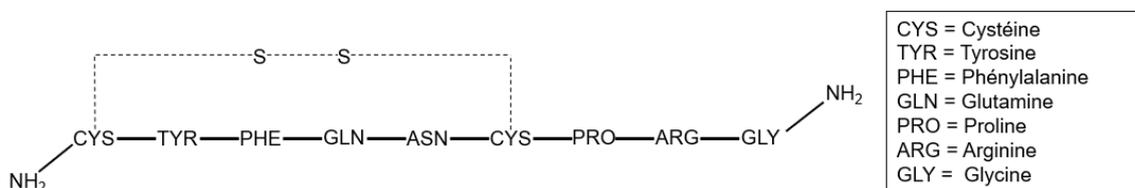


b. L'ADH, une hormone peptidique

L'ADH et l'ocytocine, possèdent des homologies structurales : ce sont des hormones peptidiques composées de neuf acides-aminés dont le premier et le sixième sont reliés par un pont disulfure. Dans la plupart des espèces, un unique gène code pour l'ADH, il en est de même pour l'ocytocine. Des exceptions existent : chez les suidés, un deuxième gène est exprimé dans les tissus gonadiques. (Wallis, 2012)

La structure protéique de l'ADH est bien conservée au sein des mammifères, à l'exception du taxon des suidés chez qui l'arginine en huitième position est substituée par une lysine. On parle de lysine vasopressine chez les suidés. De même, les séquences des précurseurs de l'ADH sont fortement conservées chez les euthériens. En revanche, Wallis décrit une plus grande variabilité génétique chez les vertébrés non mammifères. (Wallis, 2012). La Figure 2 détaille la structure peptidique de l'ADH.

Figure 2 : Structure peptidique de l'ADH



La desmopressine est un analogue synthétique de l'ADH qui en diffère par le huitième acide aminé, l'arginine étant substituée par son énantiomère lévogyre, et par l'absence du groupement amine lié à la cystéine. Son action biologique est plus marquée et longue. (Nelson, 2014)

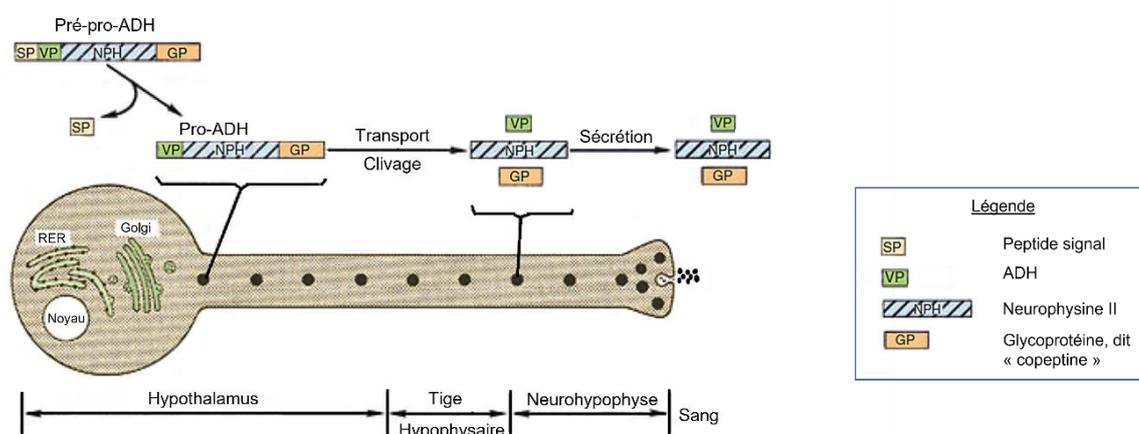
c. La biosynthèse de l'ADH

La biosynthèse de l'ADH et de l'ocytocine a lieu presque exclusivement dans les corps cellulaires, dit péricaryon, des neurones magnocellulaires (Greco et Stabenfeldt, 2012). Ces cellules sont présentes dans les noyaux supraoptiques et paraventriculaires de l'hypothalamus. Quelques neurones magnocellulaires sont présents dans un groupe sécrétoire accessoire localisé ventralement et rostralement aux noyaux supraoptique et paraventriculaire. Le noyau paraventriculaire contient aussi des neurones de petites tailles, les neurones parvocellulaires, responsables d'une sécrétion d'ADH assurant la modulation du système porte-hypophysaire (Malven, 1993).

Initialement, il était supposé que les neurones magnocellulaires présentent deux phénotypes bien distincts, le premier sécrétant uniquement l'ADH, le second uniquement l'ocytocine. Cependant, des études plus récentes montrent qu'il existe, chez des ratte en lactation, une coexpression des deux neurohormones dans 9 à 17% des neurones du noyau supraoptique (Mezey et Kiss, 1991). Une analyse quantitative des ARNm présents dans les neurones magnocellulaires du noyau supraoptique montre que l'intégralité des neurones coexpriment les deux hormones. C'est la proportion entre ADH et ocytocine qui constitue les différents phénotypes : les neurones « à ADH » ont un rapport ADH/ocytocine supérieur à 180, les neurones « mixtes » ont un rapport égal ADH/ocytocine à 2, les neurones « à ocytocine » ont un rapport ocytocine/ADH supérieur à 250 (Xi *et al.*, 1999).

Ces hormones peptidiques sont d'abord synthétisées dans le réticulum endoplasmique des cellules magnocellulaires sous la forme d'une pré-pro-hormone. Cette dernière est composée depuis l'extrémité N-terminale vers l'extrémité C-terminale, d'un peptide signal participant à l'adressage de la pré-pro-hormone, de l'hormone peptidique, d'une neurophysine et pour l'ADH d'un glycopeptide de 39 acides aminés, appelé copeptine. Les neurophysines assurent le transport et une protection contre la dégradation enzymatique. En particulier la neurophysine I est associée à l'ocytocine, tandis que la neurophysine II est associée à l'ADH. Le rôle de la copeptine n'est pas clairement démontré, Szinnai *et al.* (2007) suggèrent une implication dans le repliement de la pré-pro-ADH lors de l'entrée dans le réticulum endoplasmique. La Figure 3 résume l'évolution de la structure protéique de l'ADH au cours de sa biosynthèse.

Figure 3 : Biosynthèse de l'ADH, traduit de (Thompson et Verbalis, 2020)



Les hormones neurohypophysaires sont codées par trois exons. Le premier code pour le peptide signal, la neurohormone et pour la partie N-terminale. Le deuxième dirige la synthèse de la neurophysine. Le troisième code pour la partie C-terminale de la neurophysine et le glycopeptide, pour la pré-pro-ADH seulement (Malven, 1993).

Après la traduction dans le réticulum endoplasmique, le peptide signal se dissocie de la pré-pro-ADH permettant l'entrée de la pro-ADH dans une vésicule assurant le trajet axonal. Durant le trajet axonal, la neurophysine II et la copeptine sont clivées de l'ADH. Plusieurs maturations surviennent : la formation du pont disulfure et la séparation d'une lysine puis d'une glycine. Enfin, l'ADH forme une liaison covalente avec la neurophysine II, qui se rompt dès la libération dans le sang (Malven, 1993).

L'arrivée d'un potentiel d'action provoque une entrée d'ions sodium puis d'ions calcium dans le neurone : la membrane cellulaire se dépolarise. Il s'agit d'un potentiel de haute fréquence, entre 6 et 15 Hz, dont l'intensité est codée en fréquence. L'augmentation de la concentration calcique intracellulaire entraîne la migration des vésicules contenant les hormones peptidiques, puis leur fusion avec la membrane cellulaire. L'ADH est libérée dans la synapse : c'est l'exocytose. Les vésicules sont ensuite recapturées. Enfin, la pompe sodium-potassium ATPasique permet le retour au potentiel de repos (Greco et Stabenfeldt, 2012). Les vésicules sont stockées en amont de la synapse ce qui permet une libération rapide d'ADH alors que le processus de sécrétion depuis les péricaryons dure environ trois heures.

B. Effets biologiques de l'ADH

L'ADH est une hormone peptidique rapidement sécrétée dans le sang, sa sécrétion est pulsatile. Elle est majoritairement dégradée par des récepteurs spécifiques et dans une moindre mesure, à hauteur de 25%, par une excrétion urinaire (Shiel, 2017a). Par conséquent, la demi-vie est courte, mais la durée exacte fluctue selon les auteurs : de six minutes (Shiel, 2017a) à quinze minutes (Nelson, 2014).

a. Tissus et récepteurs cibles

L'action biologique de l'ADH a lieu grâce à sa fixation sur ses récepteurs spécifiques, nommés récepteurs V. Il existe trois types de récepteurs à l'ADH (V1, V2 et V3), ce sont des récepteurs transmembranaires dotés de 7 hélices α et couplés à une protéine G (Birnbaumer, 2000).

Les récepteurs V1a sont distribués largement dans l'organisme. Ils sont présents notamment dans le foie, les poumons, les surrénales, les cellules musculaires lisses, les plaquettes, les cellules mésangiales, le système nerveux central, les vaisseaux dont les artères coronaires et artères rénales afférentes. Les récepteurs V1b, aussi appelé V3, sont situés dans l'adénohypophyse et le pancréas. Enfin, le récepteur V2 se trouve au pôle basolatéral du tube contourné distal et du tube collecteur rénal (Szczepanska-Sadowska *et al.*, 2018).

Détaillons les actions de l'ADH par organe.

- *Actions sur le rein*

La fonction majeure de l'ADH est son action anti-diurétique. La fixation de l'ADH sur les récepteurs V2 augmente la perméabilité du tube contourné distal et du tube collecteur à l'eau par un recrutement d'aquaporines-2 (AQP-2). L'eau est ensuite réabsorbée puis redistribuée dans la

circulation systémique par les capillaires sanguins de l'intersitium rénal, dit *vasa recta* (Birnbaumer, 2000). Une stimulation prolongée par l'ADH provoque une augmentation de l'expression des AQP-2 dans le tube collecteur (Verlander, 2012 ; Thompson et Verbalis, 2020). Finalement, l'ADH entraîne la production d'une urine plus concentrée et une économie d'eau.

Similairement au recrutement des AQP-2, le récepteur V2 permet la migration des cotransporteurs $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ vers le pôle apical des cellules de l'anse large ascendante. Une stimulation chronique par l'ADH augmente l'expression des cotransporteurs $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ (Kim *et al.*, 1999). L'ADH participe donc à l'homéostasie électrolytique.

Les récepteurs V1a et V2 activent le système NO endothélial vasculaire ainsi que la cyclooxygénase 2 (COX-2), activant la production de rénine par l'appareil juxta-glomérulaire. L'ADH stimule donc indirectement la production d'angiotensine II (Aoyagi *et al.*, 2008).

Des transporteurs spécifiques à l'urée, nommés UT-A1 et UT-A3, sont présents dans la portion médullaire du tube collecteur, cette portion du tube collecteur est perméable à l'urée. L'action des UT-1 et UT 3 est potentialisée par l'ADH (Verlander, 2012a). Le rôle de l'ADH dans l'homéostasie hydrique est détaillé plus amplement dans le paragraphe I.1.b.c

- *Action sur le système cardio-vasculaire*

In vitro, la fixation de l'ADH sur les récepteurs V1a des cellules musculaires lisses vasculaires provoque une vasoconstriction, à l'origine d'une augmentation de la pression sanguine. La peau, les muscles et les organes abdominaux sont particulièrement sensibles à l'effet vasoconstricteur de l'ADH (Szczepanska-Sadowska *et al.*, 2018). *In vivo*, l'ADH participe au maintien de la pression sanguine systémique lors d'épisodes pathologiques. En revanche, cette action hypertensive est plus discrète en condition physiologique (Koshimizu *et al.*, 2006). Koshimizu *et al.* (2006) mettent en évidence une action inhibitrice de l'ADH sur le système orthosympathique. Dans la même étude, des souris *knock-out* V1a *-/-* présentaient une sensibilité du baroréflexe altérée : l'ADH potentialise le baroréflexe par des récepteurs V1a situés dans la *area postrema*, dit centre du vomissement (Koshimizu *et al.*, 2006).

Les effets cardiovasculaires de l'ADH peuvent être délétère pour l'organisme. L'augmentation de la résistance périphérique par vasoconstriction provoque une diminution du débit cardiaque et coronaire pouvant être à l'origine d'une arythmie et d'infarctus myocardique ou cérébral (Glavaš *et al.*, 2022). En médecine humaine, il a été prouvé qu'une surstimulation des récepteurs V1a dans un contexte d'insuffisance cardiaque entraîne des processus pro-fibrotiques et une hypertrophie cardiaque (Szczepanska-Sadowska *et al.*, 2018).

Koshimizu *et al.* (2006) montrent qu'une concentration élevée d'ADH entraîne, via le récepteur V2 une sécrétion de monoxyde d'azote, puissant vasodilatateur.

En conclusion, l'action de l'ADH sur la pression sanguine est la résultante de son effet vasoconstricteur par les récepteurs V1a et de son effet vasodilatateur par les récepteurs V2.

- *Actions sur la coagulation*

La fixation de l'ADH sur les récepteurs V2 stimule la libération du facteur de Von Willebrand et du facteur VIII de la coagulation, dit facteur anti-hémophilique A (Birnbaumer, 2000). Il s'agit de l'action dite « non traditionnelle » de l'ADH. D'autre part, les récepteurs V1a sont des agonistes faibles de l'agrégation plaquettaire (Wun, 1997).

- *Actions sur le métabolisme*

Les récepteurs V1a stimulent la sécrétion d'insuline par l'intermédiaire des récepteurs Akt, une voie de signalisation intracellulaire entraînant la migration de transporteurs au glucose GLUT4 vers la membrane cellulaire (Aoyagi *et al.*, 2007). Dans cette étude, des souris *knock-out* V1a *-/-* développaient une insulino-résistance et une faible tolérance au glucose. Les récepteurs V1b participent également à la sécrétion d'insuline et de glucagon (Nakamura *et al.*, 2017). L'ADH, en se fixant sur les récepteurs V1a, stimule la glycogénolyse hépatique, d'où un effet hyperglycémiant (Nakamura *et al.*, 2017).

Les récepteurs V1a interviennent aussi dans le métabolisme lipidique, leur absence chez les souris V1a *-/-* s'accompagnant de troubles du métabolisme lipidique (Aoyagi *et al.*, 2008).

- *Actions sur le système nerveux central*

Les récepteurs V1a agissent au niveau du système nerveux central et interviennent dans l'apprentissage, la mémoire, le comportement social et le cycle circadien (Shiel, 2017 ; Glavaš *et al.*, 2022).

Les récepteurs V1b agissent conjointement avec la corticolibérine et stimulent la sécrétion de l'ACTH, augmentant la cortisolémie (Nelson, 2014).

b. Mécanisme cellulaire de l'ADH

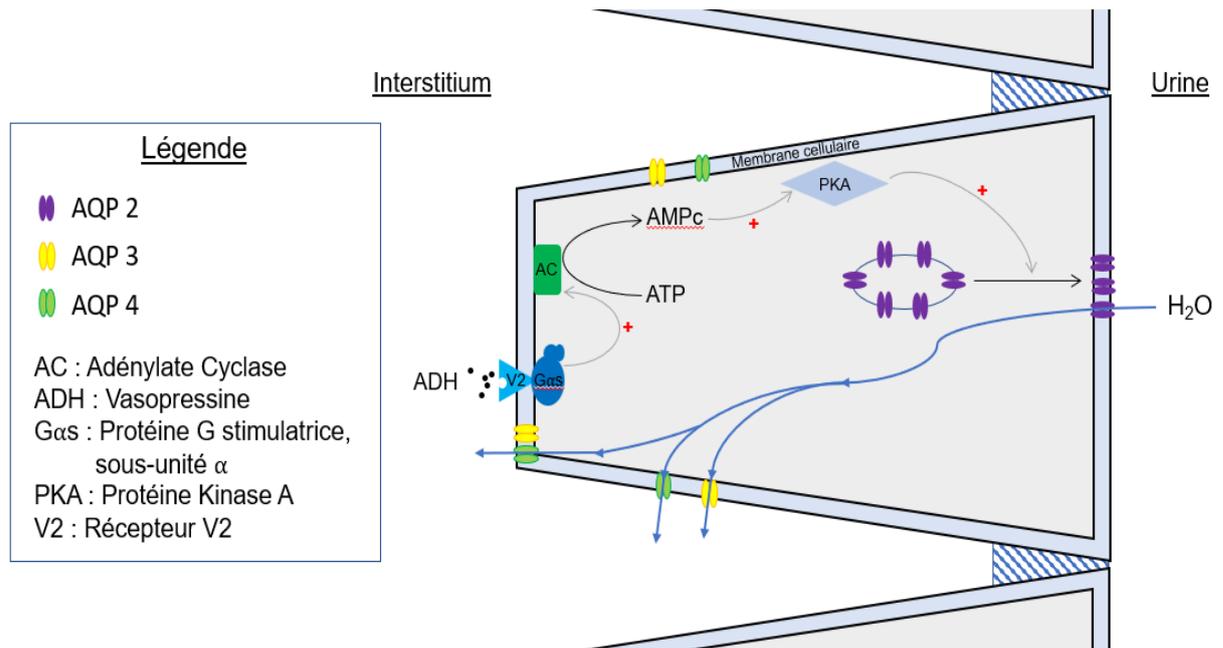
Les récepteurs transmembranaires V s'intègrent dans des voies de signalisation intracellulaire, par un couplage à des protéines G. Ces dernières sont à activité phospholipase C dans le cas des récepteurs V1a et V1b, alors que les récepteurs V2 modulent l'enzyme adénylcyclase. Détaillons le mécanisme cellulaire de ces récepteurs (Birnbaumer, 2000).

La fixation de l'ADH sur les récepteurs V1a et V1b entraîne la dissociation d'une protéine $G_{q/11}$ en sous-unité $\alpha_{q/11}$ d'une part, $\beta\gamma$ d'autre part. La sous-unité α active la phospholipase C β (PLC β) clivant le phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP2) en diacylglycérol (DAG) et inositol (1,4,5) -triphosphate (IP $_3$). La sous-unité $\beta\gamma$ stimule l'activité de la PLC β . Le IP $_3$ augmente la concentration calcique intracellulaire par libération des stocks réticulo-endoplasmique, le calcium étant un second messager qui intervient dans de nombreuses voies biologiques.

Le récepteur V2 est associé à une protéine G_s dont la sous-unité α active l'adénylcyclase. L'augmentation de la concentration intracellulaire en AMP $_c$ qui en découle stimule l'activité de la protéine kinase A (PKA) (Nelson, 2014). La sous-unité $\beta\gamma$ de la protéine G_s occupe la même fonction que celle de la protéine $G_{q/11}$, stimulant la PLC β (Birnbaumer, 2000). Dans les cellules du tube collecteur, la PKA entraîne la migration puis l'insertion des agrégophores, vésicules contenant des AQP-2, dans la membrane cellulaire apicale. L'eau diffuse, selon le gradient médullaire, de la lumière du tube collecteur vers l'interstitium hypertonique à travers les AQP-2 au pôle apical, puis à travers les AQP-3 et AQP-4 des pôles basolatéraux. Les *vasa recta* drainent l'eau vers la circulation systémique afin de maintenir la tonicité de l'interstitium. Lors d'une stimulation longue d'au moins 24 heures, l'ADH stimule l'expression et la traduction des AQP-2 et d'AQP-3 par la cellule (Thompson et Verbalis, 2020).

La Figure 4 illustre l'action de l'ADH sur les cellules du tube collecteur.

Figure 4 : Action de l'ADH dans les cellules du tube collecteur (Robben *et al.*, 2006)



La dissociation de l'ADH s'accompagne d'une diminution de la concentration intracellulaire en AMP_c : les AQP-2 sont réinternalisées dans les agrégophores grâce à des protéines clathrines (Shiel, 2017a).

c. Le rôle de l'ADH dans l'homéostasie de l'eau

L'homéostasie hydrique est tributaire de la balance entre les apports en eau, contrôlés par la sensation de soif, et les pertes, principalement urinaires, digestives, respiratoires et par évaporation dans une moindre mesure. Par son action sur les pertes hydriques urinaires, l'ADH est l'hormone clé du maintien de l'homéostasie hydrique et de l'osmolarité.

- **La place de l'eau dans la physiologie rénale**

Le tube urinaire est l'unité fonctionnelle du rein, il se compose d'un néphron et d'un tube collecteur. Un néphron est subdivisé en glomérule, tube contourné proximal, anse de Henlé et tube contourné distal (Verlander, 2012b). La production d'urine se déroule en trois étapes : la filtration, la réabsorption et la sécrétion.

- **La filtration rénale**

La filtration correspond au passage du sang à travers la membrane glomérulaire vers la lumière du tube contourné proximal. Elle aboutit à la formation d'urine primitive dont la composition chimique est proche de celle du plasma. La quantité de plasma filtré est fonction de la pression nette de filtration, résultante de la pression hydrostatique glomérulaire, la pression osmotique glomérulaire et la pression hydrostatique capsulaire. Le débit de filtration glomérulaire est défini comme le volume d'urine primitive produit par les reins par unité de temps. Il est égal à la pression nette de filtration multipliée par le coefficient d'ultrafiltration (Verlander, 2012b).

□ La réabsorption rénale, une nécessité physiologique

La réabsorption hydrique rénale est une nécessité pour le maintien de l'homéostasie hydrique. A titre d'exemple, un chien de 10 kg forme environ 50 L d'urine primitive par jour. Chez un individu sain, près de 99% de l'eau et du sodium filtré sont réabsorbés (Verlander, 2012c). Ainsi, le chien de 10 kg produit moins de 500 mL d'urine par jour, soit environ 50 mL/kg par jour.

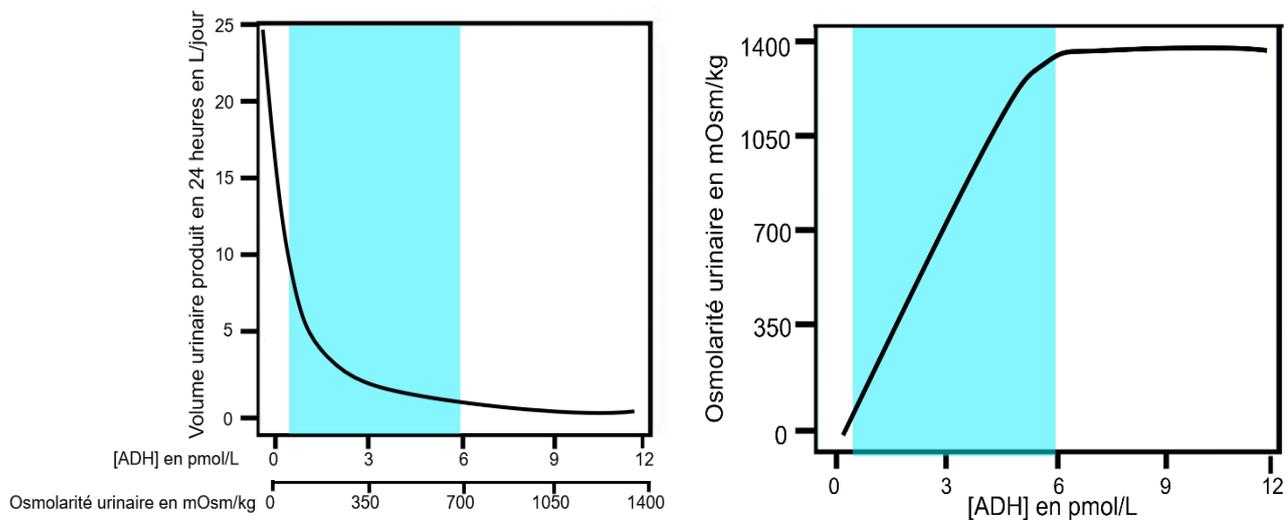
Le tubule contourné proximal est le segment majeur de la réabsorption, environ 60% des molécules y sont réabsorbées. La réabsorption met en jeu des phénomènes de diffusion passive et active, grâce à de nombreux transporteurs moléculaires. Nous aborderons principalement les mécanismes intervenant dans la réabsorption de l'eau.

La diffusion de l'eau d'un milieu biologique à un autre à travers une membrane cellulaire est appelée osmose. L'osmose se réalise selon le gradient d'osmolarité. Il s'agit d'un mécanisme strictement passif c'est à dire qu'il n'existe pas de diffusion dans le sens contraire du gradient. La diffusion de l'eau peut être simple, c'est-à-dire sans intervention d'un transporteur, ou facilitée par les AQP. Les AQP sont des protéines transmembranaires de petite taille, environ 30 kDA, constituées de 6 hélices alpha transmembranaires formant un pore à travers les membranes (Verkman et Mitra, 2000). Elles interviennent dans le transport de fluides. Chez les mammifères, les AQP 1, 2, 4 et 5 sont hautement sélectives de l'eau. Les AQP 3 et 8 interviennent dans le passage du glycérol (Verkman et Mitra, 2000).

La réabsorption met en jeu un système d'échange « à contre-courant » entre l'urine du tube rénal et le plasma présent dans les capillaires sanguins du néphron, les *vasa recta*. Le liquide interstitiel est l'intermédiaire entre les deux compartiments cités, son osmolarité oriente les flux hydriques et ioniques. Le débit sanguin est faible dans les *vasa recta*, ce qui permet des échanges avec le liquide interstitiel. On distingue deux composantes dans la réabsorption hydrique :

- Une réabsorption indépendante de l'ADH, dite « obligatoire ». Elle représente 60 à 80% de la réabsorption hydrique totale. Elle a lieu dans la partie descendante du néphron principalement dans le tube contourné proximal, segment perméable à l'eau. Ce dernier dispose d'AQP-1 assurant la réabsorption hydrique. Dans le cortex rénal, c'est-à-dire en regard du tube contourné distal, l'urine et le plasma sont iso-osmotiques (Verlander, 2012a). La réabsorption d'eau et d'électrolytes entraîne une élévation de l'osmolarité de l'urine à mesure que la profondeur dans la médulla augmente.
- Une réabsorption dépendante de l'ADH, dite « facultative ». En l'absence d'ADH, le tube collecteur est très peu perméable à l'eau, l'eau n'est pas réabsorbée et de grandes quantités d'urines diluées sont produites. Comme expliqué précédemment, l'ADH entraîne l'insertion d'AQP-2 dans la membrane apicale du tube collecteur, augmentant fortement sa perméabilité à l'eau. On estime que la réabsorption facultative compte pour 20 à 30% de la réabsorption hydrique totale. La Figure 5 illustre l'effet de la concentration sanguine en ADH sur la réabsorption facultative, l'étendue de concentration physiologique d'ADH est représentée en bleu. En dessous du seuil minimal physiologique de la concentration d'ADH, le volume urinaire produit augmente très fortement, cette situation pathologique se nomme diabète insipide (Verlander, 2012a). D'autre part, l'osmolarité urinaire augmente proportionnellement à la concentration en ADH puis atteint un plateau correspondant à la concentration urinaire maximale. Notons que l'aldostérone participe à la réabsorption facultative d'eau, elle cause une rétention sodée entraînant une osmose vers le liquide interstitiel (Shiel, 2017a).

Figure 5 : Action de l'ADH sur le volume urinaire (gauche) et sur l'osmolarité urinaire (droite), d'après (Shiel, 2017a)



La réabsorption est donc un phénomène d'osmose depuis le tubule rénal vers le milieu interstitiel : elle est donc tributaire de la formation et de la conservation d'un gradient osmotique entre ces deux milieux. La portion ascendante du tubule rénal est imperméable à l'eau mais perméable aux ions grâce aux co-transporteurs $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$: les ions quittent la lumière du tube rénal pour le milieu interstitiel tandis que l'eau reste confinée. Le long de la branche ascendante du néphron, l'osmolarité de l'interstitium augmente tandis que celle de l'urine diminue. Arrivant au niveau du tube collecteur, l'urine est hypoconcentrée (Verlander, 2012a ; Nelson, 2014). La réabsorption d'eau par la partie descendante du néphron est dépendante des échanges ioniques de la partie ascendante du néphron. Les diurétiques de l'anse, tel que le furosémide, sont des inhibiteurs des cotransporteurs sodium-potassium-chlore. Au niveau du tube collecteur, l'ADH stimule l'activité des transporteurs d'urée UT-A1 et UT-A3, participant également à la formation du gradient osmotique (Verlander, 2012c).

L'eau et les solutés du milieu interstitiel sont drainés par les *vasa-recta*, cela assure le maintien de l'hypertonie du milieu interstitiel et donc du gradient osmotique. Le contrôle de l'osmolarité médullaire et de la sécrétion d'ADH permet donc d'adapter l'osmolarité et le volume urinaire aux besoins physiologiques de l'organisme.

- *Physiologie de la soif*

En conditions physiologiques, la production d'urine et a fortiori les pertes hydriques ne sont jamais nulles. Un apport hydrique oral est donc nécessaire, c'est la soif qui dicte la prise de boisson. Les stimulus qui contrôlent la soif sont similaires à ceux responsables de la sécrétion d'ADH (cf. paragraphe I.1.c.a). Les osmorécepteurs antéhypophysaires participent à la régulation de la soif, en médecine humaine, une hausse de 2 à 3% de l'osmolarité sanguine est retenue comme seuil pour le déclenchement de la soif (Nelson, 2014). Chez l'Homme, la relation entre le score de soif et l'osmolarité sanguine est linéaire (Thompson et Verbalis, 2020). Les barorécepteurs thoraciques et l'angiotensine II interviennent également dans l'apparition de la soif.

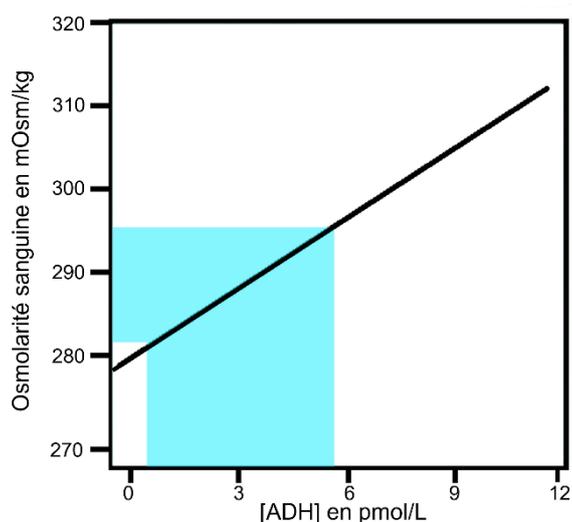
C. Régulation de l'action de l'ADH

a. Stimulus physiologiques de la sécrétion d'ADH

Le stimulus majeur de la sécrétion d'ADH est l'augmentation de l'osmolarité sanguine. Les osmorécepteurs sont localisés dans le toit du troisième ventricule, plus précisément dans l'organe subfornical et l'organe vasculaire de la lame terminale. Ces organes, dits circumventriculaires, possèdent des capillaires fenestrés : la barrière hémato-encéphalique y est davantage perméable, permettant aux osmorécepteurs de détecter les variations sanguines (Nelson, 2014). Chez le chien, le seuil d'osmolarité pour la libération d'ADH est d'environ 280 mOsm/kg ; en dessous de cette valeur, la sécrétion est nulle (DiBartola, 2011). Il s'agit d'une régulation très sensible : une variation de 1% de l'osmolarité modifie la sécrétion d'ADH. La concentration plasmatique en ADH est proportionnelle à l'osmolarité sanguine (Greco et Stabenfeldt, 2012). Les neurones magnocellulaires sont par ailleurs sensibles à la natrémie (Shiel, 2017a).

La Figure 6 témoigne de la relation étroite entre l'osmolarité sanguine et la concentration plasmatique en ADH.

Figure 6 : Relation entre la concentration plasmatique d'ADH et l'osmolarité sanguine (Shiel, 2017a)



La volémie, mesurée par les volorécepteurs de l'atrium gauche, et la pression artérielle, mesurée par les barorécepteurs du sinus carotidien et de la crosse aortique, inhibent la libération d'ADH. Ces stimulus sont transmis à l'hypothalamus par les nerfs crâniens IX et X (Shiel, 2017a). Une diminution de la pression sanguine lève donc cette inhibition, stimulant la sécrétion d'ADH. Cette régulation est moins sensible que l'osmolarité, une variation de 5 à 10% de la pression sanguine étant nécessaire pour affecter la sécrétion d'ADH. Une telle baisse de pression sanguine augmente la sensibilité de la régulation par l'osmolarité et abaisse le seuil osmotique de sécrétion de l'ADH (DiBartola, 2011). La déshydratation est donc un stimulus double puisqu'elle s'accompagne d'une augmentation de l'osmolarité et d'une baisse de la pression artérielle.

Dans l'hypothalamus, l'acétylcholine, le neuropeptide Y, le glutamate, la sérotonine et l'histamine sont des neurotransmetteurs qui stimulent la sécrétion d'ADH. A l'inverse, l'acide gamma-aminobutyrique l'inhibe (Szczepanska-Sadowska *et al.*, 2018).

D'autres stimulus excitateurs ont été identifiés chez l'Homme : la nausée, le stress, la douleur, l'activité musculaire (Malven, 1993; Verbalis, 2020)

b. Inter-régulation de l'ADH et du système endocrine

- *Relation entre l'axe corticotrope et l'ADH*

L'ADH stimule la sécrétion d'ACTH, et a fortiori de cortisol, en se fixant sur les récepteurs V1b hypothalamiques (Nelson, 2014). Chez l'Homme et les rongeurs, les récepteurs V1a stimulent la libération de cortisol par la corticosurrénale (Nakamura *et al.*, 2017).

Un syndrome polyuro-polydipsique est fréquent lors d'hypercorticisme ; cela laisse supposer un effet inhibiteur du cortisol sur l'ADH. Une étude (Biewenga *et al.*, 1991) rapporte une augmentation du seuil osmotique de sécrétion de l'ADH chez des chiens souffrant d'hypercorticisme, ainsi qu'une sensibilité de réponse à l'hyperosmolarité altérée. Dans la même étude, aucune différence significative n'est identifiée entre la forme hypophysaire et surrénalienne de l'hypercorticisme quant à la sensibilité de l'ADH. Deux études rapportent cette inhibition de la sécrétion d'ADH et l'attribuent à un mécanisme direct non génomique (Papanek et Raff, 1994 ; Papanek *et al.*, 1997). De plus, l'hypercorticisme entraîne une résistance à l'effet rénal de l'ADH (Teshima *et al.*, 2011).

- *Relation entre le Système Rénine Angiotensine Aldostérone (SRAA) et ADH*

D'après Szczepanska-Sadowska *et al* (2018), la présence de récepteurs à la rénine et à l'angiotensine II (AT-1 et AT-2) dans les neurones magnocellulaires des noyaux paraventriculaires et supraoptiques témoigne de l'implication du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) dans la régulation de l'ADH. A l'échelle cellulaire, le SRAA active le canal ionique TRPV4 qui stimule la sécrétion d'ADH (Szczepanska-Sadowska *et al.*, 2018).

L'ADH stimule la libération de rénine et d'aldostérone par l'intermédiaire des récepteurs V1a et V2. De plus, la présence de l'ADH est nécessaire pour que l'effet de l'aldostérone soit maximal dans les tubules rénaux et tube collecteurs (Aoyagi *et al.*, 2008; Szczepanska-Sadowska *et al.*, 2018)

En résumé, le SRAA stimule la sécrétion d'ADH qui à son tour stimule le SRAA : il s'agit en théorie d'un phénomène d'auto-amplification. En réalité, les barorécepteurs compensent cette boucle de rétroaction lorsque la pression systémique augmente. Il existe de nombreuses interactions entre le SRAA et l'ADH dans la régulation de la volémie, de l'homéostasie hydrosodée et la pression sanguine (Szczepanska-Sadowska *et al.*, 2018).

- *Relation entre le système adrénergique et l'ADH*

Une étude (Song *et al.*, 2010) montre que l'injection de $\alpha 1$ -agoniste et d'ATP sur des extrait d'hypothalamus de souris s'accompagne d'une augmentation de l'ADH circulant. Ce résultat est en contradiction avec une étude plus ancienne (Berl *et al.*, 1974) qui indique que l'effet presseur catécholamines inhibe la sécrétion d'ADH par activation des barorécepteurs.

Les récepteurs V1b ont une action pro-sécrétoire d'adrénaline sur les cellules chromaffines de la médullosurrénale (Nakamura *et al.*, 2017).

- *Relation entre prostaglandines et ADH*

Dans les reins, l'ADH se fixe sur les récepteurs V1a et V2, activant la COX-2. Il en résulte une production de prostaglandine, dont la prostaglandine E2, et de prostacyclines. Ce sont des molécules vasodilatatrices de l'artère rénale efférente, leur action s'oppose donc à l'action vasoconstrictrice de l'ADH, ce qui permet de préserver la perfusion rénale et modérer l'effet anti-diurétique (DiBartola, 2011).

- *L'apéline, antagoniste de l'ADH*

Découvert dans les années 1990, l'apéline est un peptide lié à une protéine G, elle intervient dans la fonction cardiovasculaire et dans l'homéostasie hydrique. Au niveau rénal, elle limite la migration des AQP-2 vers la membrane apicale et diminue la traduction des ARNm associés : son effet est antagoniste de celui de l'ADH (Boulkeroua *et al.*, 2019). Des expériences d'immunohistochimie montrent que des récepteurs de l'apéline sont exprimés dans les neurones magnocellulaires et exercent un effet inhibiteur sur la sécrétion d'ADH (Flahault *et al.*, 2017; Szczepanska-Sadowska *et al.*, 2018).

c. Altérations du système de l'ADH

De nombreuses affections pathologiques et médicaments peuvent altérer les effets biologiques de l'ADH. Nous pouvons distinguer deux mécanismes :

- Action centrale c'est-à-dire une altération de la sécrétion d'ADH, à l'origine d'un DIC
- Action périphérique par interférence avec l'action de l'ADH, à l'origine d'un DIN.

- *Modulation de la sécrétion de l'ADH*

Les barbituriques, les bêta-agonistes, la carbamazépine, le chlorpropamide, le clofibrate, les narcotiques, l'apomorphine, le monoxyde d'azote, la vincristine et les antidépresseurs tricycliques augmente la sécrétion d'ADH (DiBartola, 2011; Shiel, 2012)

A l'inverse, les glucocorticoïdes, l'éthanol et la phénytoïne inhibent la sécrétion d'ADH (Shiel, 2012).

- *Modulation de la fixation et de l'effet de l'ADH*

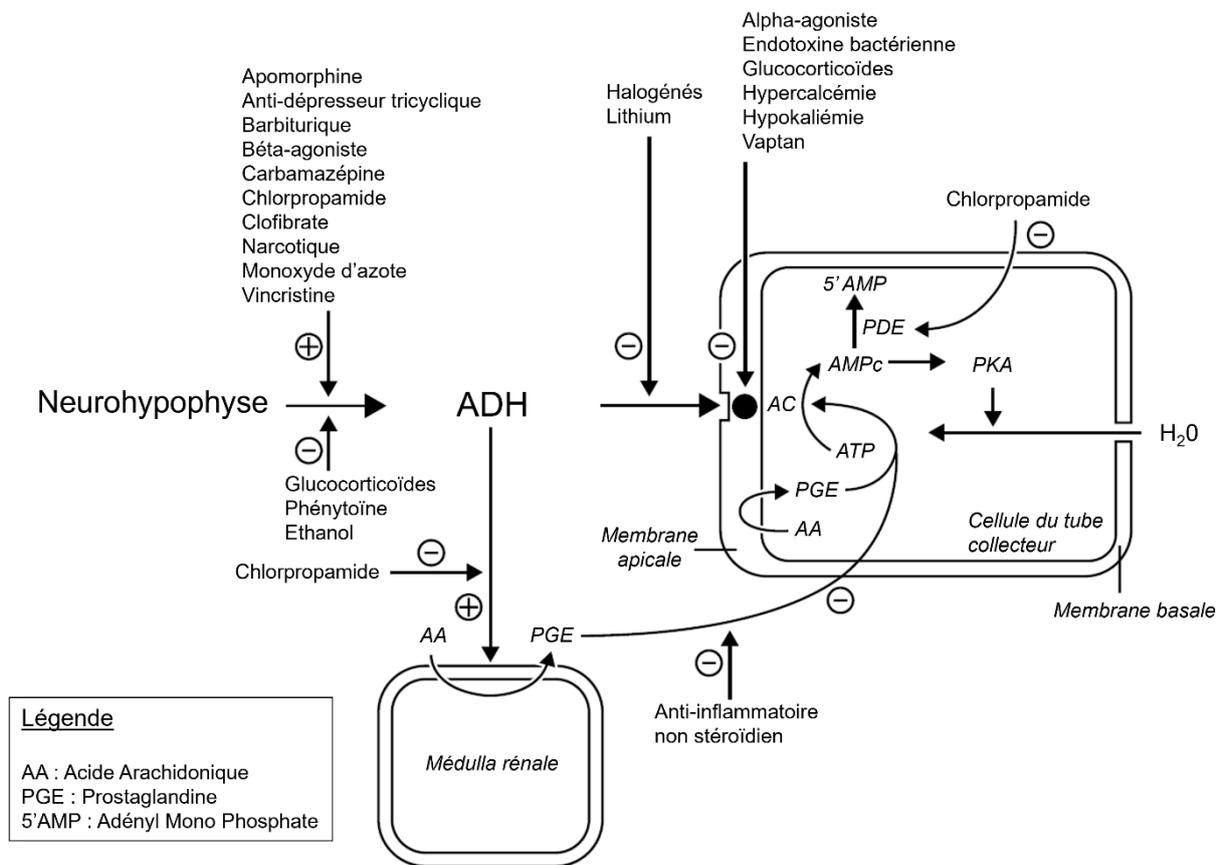
Les endotoxines bactériennes agissent comme des antagonistes du récepteur V2, limitant la fixation de l'ADH sur son récepteur (Nelson, 2014). Les alpha-agonistes, les glucocorticoïdes, les désordres électrolytiques dont hypercalcémie et hypokaliémie diminuent l'activité de l'adénylcyclase et interfèrent donc avec l'action cellulaire de l'ADH sur les cellules du tube collecteur (DiBartola, 2011).

La famille pharmacologique des « vaptans » constitue des antagonistes spécifiques des récepteurs V1a et V2, le tolvaptan et le conivaptan en sont les chefs de file. Utilisés uniquement en médecine humaine, ils sont indiqués lors de situations d'hyponatrémie hypervolémique et de maladie polykystique rénale (Aditya et Rattan, 2012).

Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens inhibent les COX et lèvent la modulation des prostaglandines sur l'effet de l'ADH (DiBartola, 2011). Le chlorpropamide potentialise l'action rénale de l'ADH, le mécanisme d'action n'est pas clairement établi mais il augmenterait l'activité de l'adénylcyclase (Nelson, 2014).

La Figure 7 résume les interactions pathologiques et iatrogènes avec l'axe de l'ADH.

Figure 7 : Altérations iatrogènes et pathologiques de l'axe de l'ADH, traduit de (DiBartola, 2011; Nelson, 2014)



2. Le diabète insipide en médecine vétérinaire

Il existe deux types d'affections impliquant une sécrétion inadaptée d'ADH

- Une sécrétion exagérée d'ADH, désignée par Syndrome de Sécrétion Inappropriée en ADH (SIADH), affection exceptionnelle en médecine vétérinaire.
- Un déficit de sécrétion ou de réponse à l'ADH, le diabète insipide (DI).

Le DI regroupe deux sous-types, dits central (DIC) ou néphrogénique (DIN), qui s'expriment par une polyuro-polydipsie (PUPD), le paragraphe 1.2.a.a revient sur la définition de ce terme. Le DIC se définit comme un déficit, partiel ou total, de la sécrétion d'ADH par la neurohypophyse. Le DIN correspond à un déficit de réponse du néphron à l'ADH.

Dans la suite de ce manuscrit nous nous intéresserons uniquement au DI et nous n'aborderons pas le SIADH.

A. Définition et importance du diabète insipide dans le diagnostic différentiel de la PUPD

a. Définition de la PUPD

La PUPD est un motif d'appel courant en médecine vétérinaire. Il s'agit d'une augmentation conjointe de la prise de boisson et de l'émission d'urine, l'augmentation de l'une entraînant une élévation de l'autre par conservation de l'homéostasie hydrique. On considère qu'une prise de boisson inférieure à 80 mL par kilogramme par jour est physiologique chez les chiens (Nelson et Maggiore, 2020). Une valeur comprise entre 80 et 100 mL/kg/j doit faire suspecter une polydipsie mais peut s'observer chez certains individus sains. Une prise de boisson supérieure à 100 mL/kg/j confirme la polydipsie. Selon les auteurs, la valeur seuil d'une polydipsie chez le chat est soit identique à celle du chien (Nelson, 2014), soit de 50 mL/kg/j (Shiel, 2017b). Ces valeurs sont à interpréter selon le contexte de vie de l'animal : un exercice intense ou une température élevée induisant une augmentation de la prise de boisson.

En général, l'évaluation du volume émis lors des mictions est plus problématique pour les propriétaires. La littérature retient comme valeur seuil de la polyurie 50 mL/kg/j (Shiel, 2017b).

Face à ce motif de consultation, il sera fondamental de différencier la véritable polyurie, d'une pollakiurie ou d'une incontinence urinaire. La démarche pour distinguer ces signes cliniques ne sera pas détaillée dans ce manuscrit.

b. Physiopathogénie et diagnostic différentiel de la PUPD

La première étape dans le diagnostic différentiel de la PUPD est l'identification du mécanisme primaire : est-ce l'augmentation de la prise de boisson qui cause l'augmentation de la miction (polydipsie primaire) ou l'augmentation de la miction qui cause l'augmentation de la prise de boisson (polyurie primaire) ? Il est souvent difficile pour le propriétaire de réaliser cette distinction.

La polydipsie primaire est attribuable à une lésion hypothalamique du centre de la soif ou à un déficit psychogène (polydipsie psychogène, PP). La PP reconnaît des causes purement comportementales (potomanie) ou pathologiques comme une hyperthyroïdie, une hyperthermie fébrile ou une encéphalose hépatique (Shiel, 2017b).

La polyurie primaire s'articule autour de trois grands mécanismes : la diurèse osmotique, l'hypotonie médullaire et le diabète insipide dont les causes seront détaillées dans les parties suivantes.

La diurèse osmotique correspond à la présence de molécules osmotiques, comme le glucose ou le mannitol, qui altèrent le gradient osmotique et entravent la bonne réabsorption de l'eau par le néphron (Verlander, 2012a). Le diabète sucré, la maladie rénale chronique, les glycosuries sans hyperglycémie comme le syndrome de Fanconi et la glycosurie primaire sont à l'origine d'une diurèse osmotique.

Au niveau du tube collecteur, la réabsorption d'eau est tributaire du gradient corticomédullaire comme détaillé dans la partie I.1.b.c. Un gradient diminué ou absent cause une PUPD par hypotonie médullaire. Les composantes majeures de la tonicité interstitielle sont la concentration en urée et en sodium. L'hyponatrémie et l'hypourémie sont donc des causes fréquentes d'hypotonie médullaire. L'augmentation du débit de filtration glomérulaire, lors de fluidothérapie par exemple, dilue le milieu interstitiel : on parle de lavage médullaire. Outre sa composante psychogène, Nelson (2017) envisage que la PUPD lors d'hyperthyroïdie soit également secondaire à l'augmentation du débit de filtration glomérulaire et de la vitesse du flux tubulaire.

B. Diabète insipide central : étiologie, épidémiologie et examen clinique

a. Etiologie

Lors de DIC, le déficit de sécrétion d'ADH par les neurones magnocellulaires peut être partiel ou total. La prévalence des formes partielles n'est pas bien identifiée, dans une étude (Harb *et al.*, 1996) menée sur vingt chiens atteints de DIC, 65% présentaient une forme partielle.

Le déficit de sécrétion d'ADH est secondaire soit à un déficit de production d'ADH par destruction des noyaux paraventriculaires et supraoptiques, soit par une incapacité à libérer l'ADH dans le sang lors de lésion des axones. La neurohypophyse possède une réserve fonctionnelle, par conséquent, une destruction de 80 à 90% des cellules magnocellulaires est nécessaire pour qu'un individu développe un DIC (Fenske et Allolio, 2012).

- *Diabète insipide central primaire*

Le plus souvent, la cause du DIC n'est pas identifiée lors des examens complémentaires ou lors de l'autopsie, on parle alors de DI idiopathique ou primaire (Nielsen *et al.*, 2008 ; Nelson, 2014).

- *Diabète insipide central secondaire*

Le DIC secondaire admet de nombreuses causes, tout dommage grave de l'hypothalamus ou de la neurohypophyse pouvant causer un DI. Les néoplasies, les traumatismes, les malformations congénitales, des causes iatrogènes, inflammatoires ou infectieuses sont des causes de DIC rapportées dans la littérature.

- Origine traumatique

L'origine traumatique est la première cause de DIC chez le chat, il s'agit aussi d'une cause majeure chez l'espèce canine (Nelson, 2014). Les causes traumatiques désignent les causes iatrogènes notamment chirurgicales, et les causes accidentelles souvent à la suite d'un accident de voie publique ou d'une défenestration (Campbell et Bredhauer, 2008).

L'apparition du DI peut être immédiate après le traumatisme (Campbell et Bredhauer, 2008; Croton *et al.*, 2019) ou retardée de plusieurs jours, en moyenne deux jours (Nelson, 2014). Une étude (Oliveira *et al.*, 2013) rapporte l'apparition de signes cliniques compatibles avec un DI trente jours après l'événement traumatique.

Le DIC traumatique est le plus souvent transitoire, avec des signes cliniques s'étendant durant une à trois semaines (Nelson, 2014). Rarement, la PUPD est permanente, et réapparaît rapidement après arrêt du traitement (Campbell et Bredhauer, 2008). L'étendue et la localisation des lésions des noyaux paraventriculaires et supraoptiques déterminent la durée des symptômes. Plus la lésion est proche de l'éminence médiane, plus la symptomatologie est durable (Nelson, 2014). L'apparition d'un DIC secondaire à un traumatisme est considéré comme un facteur pronostique négatif en médecine humaine, cela n'est pas prouvé en médecine vétérinaire (Croton *et al.*, 2019).

Un DIC est courant lors d'hypophysectomie transsphénoïdale dans le cadre du traitement d'un hypercorticisme hypophysaire. Plusieurs études rapportent l'incidence d'apparition du DI à la suite de cette procédure. Une étude rétrospective menée par Hanson *et al.* (2005) sur 150 chiens indique que sur les 127 chiens présentant une rémission de leur hypercorticisme, 53% développèrent un DIC. Dans cette étude, 42% des DIC étaient permanents. La durée médiane des DI transitoires était 133 jours (min = 28 jours, max = 1329 jours). Une deuxième étude (Meij *et al.*, 1998) réalisée sur 52 chiens ayant subi aussi une procédure similaire, rapporte une incidence inférieure de DIC : 33% des 43 chiens en rémission de leur hypercorticisme développèrent un DIC. En revanche, la proportion de DI transitoire était proche : 65% des DIC étaient transitoires et une rémission était notée après une durée médiane de 4 mois (min = 1,5 mois ; max = 11 mois). Teshima *et al.* (2011) supposent que l'apparition d'un DIC permanent à la suite d'une hypophysectomie est davantage attribuable à l'atteinte des neurones magnocellulaires par la néoplasie que par l'intervention chirurgicale. Par ailleurs, dans l'étude précédemment citée, 100% des chiens ayant subi une hypophysectomie développèrent un DIC. En conclusion, l'incidence d'un DIC post hypophysectomie semble très variable d'une étude à une autre.

Dans l'espèce féline, l'hypophysectomie constitue le traitement de choix lors d'hypersomatotropisme. Dans l'étude rétrospective menée par Fenn *et al.* (2021), 53 des 68 chats étudiés (78 %) après hypophysectomie ont nécessité une administration conjonctivale de desmopressine. Parmi eux seuls 28% ont développé un DIC transitoire, d'une durée médiane de 60 jours, les autres ayant développé un DIC permanent. Dans une étude similaire menée sur 19 chats hypophysectomisés (van Bokhorst *et al.*, 2021), 58 % d'entre eux ont nécessité une administration de desmopressine durant l'intégralité du suivi à la suite de l'opération. Le DIC apparaît donc comme une complication fréquente de l'hypophysectomie. Cependant, dans une étude plus ancienne portant sur l'hypophysectomie lors d'hypercorticisme hypophysaire (Meij *et al.*, 2001), aucun des sept chats de la cohorte n'avait développé de DIC permanent, la supplémentation en desmopressine ayant été interrompue deux semaines après la chirurgie. L'impact de la nature tumorale sur l'incidence de DIC post-opératoire n'a pas été étudié dans la littérature.

Hara *et al.* (2003) suggèrent d'administrer au préalable de la desmopressine pour prévenir l'apparition d'un DIC à la suite d'une hypophysectomie. Durant les quatre premiers jours post chirurgie, les chiens ayant reçu 4 µg de desmopressine deux fois par jour présentaient une émission d'urine et une prise de boisson significativement inférieures au groupe témoin, ainsi qu'une densité urinaire significativement supérieure au groupe témoin. Sept jours après la chirurgie, l'émission d'urine et la prise de boisson des deux groupes étaient comparables. Remarquablement, après arrêt de l'administration de desmopressine, le groupe traité a développé transitoirement des signes

cliniques compatibles avec un DI. Les auteurs supposent que l'administration prolongée de desmopressine a entraîné une diminution de l'expression des récepteurs V2.

□ Origine tumorale

Les néoplasies sont une cause majeure de DIC chez les carnivores domestiques et notamment dans l'espèce canine, chez qui elles sont la première cause de DIC (Shiel, 2012). Dans cette perspective, une équipe (Harb *et al.*, 1996) rapporte, à l'examen nécropsique, la présence d'une tumeur hypophysaire chez 60% des dix chiens atteints de DIC. Nous distinguerons les tumeurs primaires intracrâniennes, des métastases intracrâniennes rapportées uniquement chez le chien.

Les tumeurs intracrâniennes primitives à l'origine d'un DIC sont principalement des craniopharyngiomes, des méningiomes, des adénomes et adénocarcinomes chromophobes (Shiel, 2012; Nelson, 2014; Nelson et Maggiore, 2020). Le défaut de sécrétion d'ADH est secondaire à une compression par effet de masse ou à une destruction des neurones magnocellulaires par infiltration cancéreuse. Le DI reste rare lors de masse hypophysaire : dans une étude réalisée sur 96 chiens présentant une masse hypophysaire, seuls 3% développèrent un DI (Menchetti *et al.*, 2019). Les tumeurs hypophysaires sont régulièrement des adénomes sécrétants : corticotropes chez le chien, somatotropes ou corticotropes chez le chat (Sanders *et al.*, 2021). Par conséquent, il n'est pas rare de constater une dysendocrinie concomitante au DIC. L'hypercorticisme semble être la dysendocrinie concomitante la plus souvent rapportée dans la littérature (Dunbar et Ward, 1983; Barr, 1985; Goossens *et al.*, 1995; Menchetti *et al.*, 2019). Un cas de DIC secondaire à une tumeur sécrétant de la pro-opiomélanocortine est rapporté par Goossens *et al.* (1995) chez un Schnauzer géant de 9 ans. Une hypothyroïdie concomitante au DIC est rapportée dans au moins deux cas de tumeurs hypophysaires (Dunbar et Ward, 1983 ; Barr, 1985)

Une équipe rapporte un cas de lymphome B hypothalamique focal chez un chien Bouvier Bernois femelle de 6 ans souffrant de DI (Nielsen *et al.*, 2008). Un cas de lymphome B hypophysaire est également rapporté chez un chat mâle Shorthair âgé de 6 ans ; ce dernier présentait une cécité, ainsi qu'une polydipsie répondant positivement à l'administration de desmopressine confirmant le DIC (Simpson *et al.*, 2011). L'autopsie révélait une compression du chiasma optique, des noyaux paraventriculaires et supraoptiques par la tumeur.

Dans la littérature, plusieurs cas de DI secondaire à des métastases intracrâniennes sont rapportés. Dettwiler *et al.* (2019) décrivent un ostéosarcome chondroblastique du tibia avec métastase thalamique chez un jeune chien Barzoï. Un cas de carcinome pancréatique avec métastase de la *pars intermedia* et de la *pars nervosa* est rapporté (Davenport *et al.*, 1986). Finalement, de nombreuses natures tumorales peuvent entraîner un DIC par métastase : Nelson (2014) mentionne également les carcinomes mammaires et les mélanomes. Aucun cas de DIC d'origine métastatique n'a été décrit chez le chat.

Rarement un phéochromocytome cause une PUPD, le mécanisme en cause pourrait être une inhibition de la sécrétion de l'ADH par l'effet presseur des catécholamines ou par l'action d'autres peptides. Une origine néphrogénique est également suspectée (Reusch, 2014; Galac, 2017).

□ Cause inflammatoire

La présence d'une masse hypophysaire lors de DIC n'est pas totalement spécifique d'une néoplasie : l'histologie d'une masse comprimant l'hypothalamus chez un chien atteint de DIC est

revenue en faveur d'une infiltration inflammatoire lymphocytaire (Meij *et al.*, 2012). D'après l'auteur une hypophysite « peut imiter un adénome non sécrétant » aux examens d'imagerie.

□ Cause infectieuse

La littérature fait part d'au moins deux cas de DIC associé à une migration larvaire, un à localisation hypothalamique imputé à *Toxocara canis* (Barron et Saunders, 1966) et un à localisation neurohypophysaire (Perrin *et al.*, 1986).

□ Cause congénitale

L'origine congénitale est une cause fréquente de DIC, les malformations hypothalamo-hypophysaire en constituent l'une des entités majeures. La formation d'un kyste comprimant la neurohypophyse est rapportée lors d'hypoplasie hypophysaire et lors d'anomalies dans la différenciation de la poche de Rathke (Degregori *et al.*, 2020; Duperrier *et al.*, 2020). Plusieurs individus d'une même portée sont parfois atteints de DIC, une équipe rapporte le cas de DIC chez deux lévriers afghans présentant tout deux des lésions hypothalamiques de vacuolisation (Post *et al.*, 1989). Nelson (2014) fait part de deux autres portées atteintes de DIC, une composante familiale est donc envisageable. Cependant, aucune étude n'a réalisé de croisement entre sujets atteints de DIC congénital dans l'objectif de mettre en évidence une composante héréditaire.

□ Cause ischémique

Une composante vasculaire ischémique a été envisagée pour un chien ayant développé un DIC à la suite d'un arrêt cardio-respiratoire (Bellis *et al.*, 2015).

b. Epidémiologie

D'après Nelson (2014), il n'y a pas de prédisposition liée au sexe ou à la race. Sur 60 chiens atteints de DIC, 45% étaient des males. Dans la même étude, 25 races étaient représentées dont le Labrador Retriever (13%), le Boxer (8%) et le Berger Allemand (8%). L'auteur tire les mêmes conclusions pour les chats en s'appuyant sur une cohorte de 16 individus : les chats européens étaient les plus représentés (82%), les femelles étaient aussi représentées que les males.

Une PUPD d'apparition aigue dans les 48 heures suivant un traumatisme doit faire envisager un DIC d'origine traumatique.

Par définition, le DI secondaire est attribuable à une cause sous-jacente. De fait, l'épidémiologie en faveur est celle de l'affection en cause. Ainsi, les DIC secondaires à une néoplasie sont plus fréquents chez des animaux d'âge moyen à avancé (Goossens *et al.*, 1995). A l'inverse, les DI secondaires à des malformations de l'encéphale sont plus favorablement rencontrés chez des animaux jeunes. Dans l'étude menée par Harb *et al.* (1996) l'âge médian des chiens atteints de DIC était de sept ans.

c. Signalement et examen clinique

Les animaux atteints de DIC idiopathique sont présentés en consultation pour PUPD intense évoluant le plus souvent depuis un à six mois (Nelson, 2014). Les propriétaires peuvent rapporter une soif insatiable. L'anamnèse rapporte une augmentation du volume d'urine émis : périurie, nocturie, incontinence, malpropreté ou la nécessité de changer plus fréquemment les litières sont rapportées par les propriétaires (Nelson, 2014). Dans l'étude de Harb *et al.* (1996) une incontinence était rapportée chez 55% des cas de DIC.

Les animaux atteints de DIC présentent un état général conservé et une absence d'intolérance à l'exercice. L'examen clinique est souvent sans anomalie, hormis la PUPD rapportée par les propriétaires. Une étude (Harb et al., 1996), réalisée sur 20 cas, montre que la PUPD est présente dans 100% des cas. L'intensité de la PUPD est variable selon la forme de DI. Lors de DIC complet, la PUPD est le plus souvent marquée et est supérieure à 200 mL/kg/j (Nelson, 2014). Les signes cliniques sont moins marqués lors de DIC partiel.

Une perte de poids est parfois rapportée, les animaux privilégiant la satisfaction de leur soif au détriment de la prise alimentaire (Lunn *et al.*, 2013; Nelson et Maggiore, 2020). Harb *et al.* (1996) constatent que 10% des chiens atteints de DIC étaient minces, cependant, il n'est pas indiqué si cela peut être attribué à un amaigrissement pathologique.

D'autres anomalies cliniques sont parfois présentes. Une déshydratation est envisageable lorsque le propriétaire restreint l'eau, volontairement ou non. Les signes cliniques peuvent alors inclure une persistance du pli de peau, une xérostomie, une enophtalmie. Lorsque l'accès à l'eau est limité, une hypernatrémie se développe et peut être aussi source de troubles neurologiques et comportementaux dont une irritabilité, une faiblesse ou une ataxie (Nelson, 2014).

Des vomissements sont occasionnellement rapportés lors de prise de boisson excessive après restriction hydrique (Shiel, 2012).

Des signes neurologiques tels que ataxie, stupeur, trouble de l'appétit, convulsions, circumambulation sont parfois présents en raison de l'effet masse exercé par une néoplasie (Harb *et al.* 1996). Les signes neurologiques apparaissent plus tardivement dans l'évolution de la maladie, bien que parfois présents lors de la consultation initiale (Nelson, 2014).

C. Diabète insipide néphrogénique : étiologie, épidémiologie et examen clinique

a. Étiologie

Le DIN consiste en une diminution de l'efficacité biologique de l'ADH. Plusieurs mécanismes sont à considérer : une diminution de l'affinité du ligand pour son récepteur, une diminution de la réponse cellulaire après stimulation par l'ADH.

- ***Diabète insipide néphrogénique primaire***

Le DIN primaire, dit congénital, est un trouble exceptionnel en médecine vétérinaire et découle d'une mutation du récepteur V2. Seuls quelques cas sont rapportés dont celui d'un Shiba-Inu de 2 ans présenté pour PUPD évoluant depuis l'adoption (Takemura, 1998). Trois autres cas de chiens sont mentionnés par Nelson (2014).

Une forme héréditaire liée à l'X, dite familiale, a été décrite en 1993 chez une lignée de Husky (Luzius *et al.*, 1992). La mère, porteuse de l'allèle muté, a une portée composée de quatre mâles, dont trois atteints de DIN primaire, et deux femelles, dont une porteuse de l'allèle muté. La mutation engendre une conformation anormale du récepteur, d'où une affinité du récepteur V2 pour l'ADH dix fois plus faible que chez un individu sain. Par conséquent, la réponse cellulaire face à l'ADH est faible voire inexistante.

- *Diabète insipide néphrogénique secondaire dit « acquis »*

- Origine endotoxinique

Les endotoxines bactériennes, notamment celles produites par les colibacilles, jouent un rôle d'antagoniste spécifique de l'ADH en se fixant sur les récepteurs V2, entraînant une insensibilité à l'ADH. Le pyomètre est l'affection la plus souvent associée à une PUPD, d'après Hagman (2018), la polyurie est présente chez 34 à 74% des chiennes atteintes, et la polydipsie entre 28 à 89%. La PUPD est d'ailleurs le deuxième signe clinique le plus présent lors de pyomètre, devant la douleur abdominale et les vomissements (Maddens *et al.*, 2010).

Lors d'une étude réalisée sur 47 chiens atteints de pyélonéphrite (Bouillon *et al.*, 2018), 17% des individus présentaient une PUPD. Plus généralement, une PUPD est envisageable sur toute affection uro-génitale bactérienne (abcès prostatique, cystite...), voire lors de bactériémie.

D'autres familles de bactéries peuvent être à l'origine d'un DIN. Un cas de DIN secondaire à une infection à leptospirose chez Cairn Terrier présenté pour vomissement et PUPD est rapporté par une équipe irlandaise (Etish *et al.*, 2014).

- Origine électrolytique

La PUPD est un signe précoce d'hypercalcémie ; cette PUPD s'explique par une diminution de la tonicité interstitielle par inhibition du cotransporteur Na⁺/K⁺/Cl⁻ et par un DIN secondaire. Plusieurs mécanismes concourent à l'établissement d'un DIN lors d'hypercalcémie. Précocement, l'hypercalcémie engendre une autophagocytose des AQP-2 (Khositseth *et al.*, 2017). Plus tardivement, le calcium, en diminuant la production d'AMP_c, s'oppose à la traduction du gène codant pour les AQP-2, ainsi qu'à l'exocytose des vésicules d'AQP-2 vers la membrane apicale (Goldfarb et Agus, 1984). Enfin, la calciurie active le récepteur calcique extracellulaire (CaSR) qui diminue l'affinité du récepteur V2 pour son ligand. Biologiquement, le DIN lors d'hypercalcémie assure le maintien du flux urinaire et constitue un mécanisme salvateur contre la formation de lithiases, notamment d'oxalates de calcium (Robben *et al.*, 2006).

Les mécanismes qui conduisent à une PUPD lors d'hypokaliémie sont similaires à ceux de l'hypercalcémie. Lors d'hypokaliémie, la PUPD résulte d'une hypotonie médullaire par interaction avec les transporteurs d'urée, d'une diminution de la sécrétion d'ADH et d'une diminution de la sensibilité des récepteurs à l'ADH (Nelson, 2014). L'hypokaliémie cause dans un premier temps une redistribution des AQP-2 depuis la membrane apicale puis leur phagocytose (Khositseth *et al.*, 2015). Dans un second temps, la faible kaliémie entraîne une diminution de la production d'AMP_c, et une production de PGE2 à l'origine d'une moindre expression et sensibilité des AQP-2 (Robben *et al.*, 2006).

- Origine néoplasique

Cohen et Post (1999) décrivent le cas d'un DIN chez un chien atteint d'un léiomyosarcome intestinal. La résolution de la PUPD à la suite de l'exérèse de la néoplasie est en faveur d'une origine paranéoplasique.

Plusieurs cas de PUPD lors de polycythémie sont rapportés dans la littérature. L'augmentation de la viscosité sanguine stimulerait la libération de facteur natriurétique atrial entraînant une diminution de la sécrétion d'ADH et de la réponse rénale à l'ADH (Ilse K. van Vonderen *et al.*, 1997).

□ Dysendocrinies

Les dysendocrinies sont une cause majeure de PUPD chez les carnivores domestiques. La PUPD s'explique alors par plusieurs mécanismes pathologiques (DI et diurèse osmotique par exemple).

Le DI lors d'hypercorticisme n'est pas totalement compris mais il est probable qu'il possède une composante centrale et une composante néphrogénique (Nelson, 2014). Les glucocorticoïdes engendrent une résistance à l'effet rénal de l'ADH et altèrent la sécrétion de l'ADH. Les actions des glucocorticoïdes sur l'ADH ont été détaillées dans le paragraphe I.1.c.b. Lors de macro-adénome hypophysaire, la néoplasie peut également comprimer la neurohypophyse participant au DIC. De plus, les glucocorticoïdes augmente le débit de filtration glomérulaire, cela participant à la PUPD (Nelson, 2014).

Lors d'hypocorticisme, la PUPD n'est pas le principal motif d'appel de l'hypocorticisme. Cependant, l'hyponatrémie secondaire au déficit en minéralocorticoïdes entraîne une hypotonie médullaire, à l'origine d'une PUPD. Un découplage entre l'adénylcyclase et le récepteur V2 a été identifié chez des rats adrénalectomisés, paradoxalement une injection de dexaméthasone corrigeait la PUPD (Nelson, 2014). Enfin, une hypercalcémie est retrouvée chez certains patients et participe au DIN.

Certains auteurs incluent le phéochromocytome, l'hypersomatotropisme, l'hyperthyroïdie, l'hyperaldostéronisme dans les causes du DIN (DiBartola, 2011; Reusch, 2014; Shiel, 2017b)

□ Origine iatrogène

En théorie, de nombreuses molécules citées dans le paragraphe I.1.c.c et interférant avec l'action de l'ADH pourraient provoquer un DIN, de gravité variable. Di Bartola (2011) retient principalement les halogénés et les glucocorticoïdes.

Une augmentation de la prise de boisson et des mictions sont régulièrement rapportées chez les animaux traités par glucocorticoïdes. Les mécanismes en jeu sont similaires à ceux lors d'hypercorticisme.

b. Epidémiologie

Le DIN primaire est uniquement décrit chez le chien. La littérature ne rapporte pas de prédisposition de race, de sexe pour les cas isolés. A notre connaissance, la forme familiale est en revanche uniquement décrite chez le Siberian Husky. La transmission étant liée à l'X, les mâles sont sur-représentés. Les animaux amenés en consultation sont en général jeunes et présentent une PUPD évoluant depuis les 2 à 3 mois d'âge, souvent depuis l'adoption (Luzius *et al.*, 1992; Nelson, 2014).

L'épidémiologie lors de DIN secondaire est variable. A notre connaissance, la littérature ne rapporte pas de prédisposition sexuelle ou raciale au DIN secondaire. Nous supposons que les femelles sont plus représentées lors de causes bactériennes puisqu'elles sont plus couramment affectées par les infections du tractus génito-urinaire notamment par les pyomètres, les cystites et les pyélonéphrites (Bouillon *et al.*, 2018).

c. Signalement et examen clinique

A l'instar du DIC, l'anamnèse rapporte une augmentation du volume d'urine émis : périurie, nycturie, incontinence ou la nécessité de changer plus fréquemment les litières sont rapportées par les propriétaires (Nelson, 2014).

Lors de DIN primaire, la PUPD est intense et le volume bu est souvent bien supérieur à la limite de 100mL/kg/j. L'intensité de la PUPD lors de DIN secondaire est dépendante de la cause primaire (Lunn *et al.*, 2013).

Le tableau clinique des DIN secondaire est polymorphe et dépend de la cause initiale. Dans certains cas, notamment l'hypercalcémie, la PUPD peut être l'unique signe clinique lors de la consultation (Lunn *et al.*, 2013).

Les anomalies cliniques en lien avec la PUPD sont similaires à celles décrites pour le DIC dans le paragraphe 1.2.b.c. Une perte de poids est envisageable chez ces animaux, la prise alimentaire diminuant au profit de l'abreuvement (Lunn *et al.*, 2013; Nelson et Maggiore, 2020). Lors d'accès à l'eau insuffisant, une déshydratation survient.

D. Diagnostic du diabète insipide

a. La démarche diagnostique à adopter lors de diabète insipide

Lors d'une consultation pour PUPD, la première étape consiste à confirmer la PUPD. McGrotty et Randell (2019) mettent en garde quant à l'importance de s'assurer que la polyurie rapportée par le propriétaire n'est pas en réalité de la malpropreté urinaire ou de l'incontinence.

Il s'agit ensuite d'écarter les causes majeures de PUPD par des examens complémentaires de première intention. En absence de résultats conclusifs, les hypothèses diagnostiques sont à ce stade un DIC, un DIN primaire et une PP. Le clinicien emploie alors à des examens plus spécifiques pour trancher.

Les parties suivantes détaillent les étapes mentionnées.

- ***Confirmer la PUPD***

Il peut être compliqué de quantifier le volume d'eau ingéré par un animal, et il s'agit alors de se fier aux observations des propriétaires quant à une modification de la prise de boisson. Il est donc important d'éduquer les propriétaires sur l'observation de la quantité d'eau bue quotidiennement par leur animal. Lors d'indécision, la mesure du volume bue doit être effectuée par le propriétaire. En revanche, la mesure du volume d'urine par le propriétaire est le plus souvent irréalisable.

Face à une PUPD, il est crucial de récupérer des urines afin de réaliser des analyses urinaires comprenant densité urinaire, cytologie urinaire, bandelette urinaire. Idéalement, le prélèvement se fait par cystocentèse dans l'optique de réaliser une bactériologie urinaire.

La densité urinaire est un argument de poids pour établir un diagnostic de PUPD. Cependant, la densité et l'osmolarité urinaire varient grandement d'un chien à un autre d'une part, mais aussi pour un même individu au sein d'une journée. Une étude réalisée sur 89 chiens sains (I. K. van Vonderen *et al.*, 1997), rapporte des densités urinaires comprises entre 1,006 et à plus de 1,050. Une telle étude n'a pas été réalisée chez le chat (Nelson, 2014). Par conséquent, une mesure isolée n'autorise pas une grande certitude, c'est pourquoi la répétition des mesures de densité urinaire est

nécessaire pour une meilleure certitude. Si la multiplication des mesures n'est pas possible, la littérature recommande de prélever la première urine de la journée, dont la densité et l'osmolarité sont significativement plus basses que celles du soir (van Vonderen *et al.*, 1997 ; Nelson, 2014). Plusieurs mesures de densité inférieure à 1,020 (Nelson, 2014) à 1,030 (Nichols, 2001) chez le chien, 1,035 chez le chat (Shiel, 2012) sont en faveur d'une PUPD.

Finalement, la densité urinaire est un indice du mécanisme pathologique à l'origine de la PUPD. Dans un contexte de PUPD, des urines concentrées sont davantage en faveur d'une origine osmotique, ou de polydipsie primaire, si l'animal a été restreint en eau. Des urines isosthénuriques orientent vers une hypotonie médullaire ou une insuffisance rénale. Enfin, des urines hyposthénuriques orientent vers un DI.

- ***Exclure les causes fréquentes de PUPD***

Il convient d'exclure les causes courantes de PUPD selon les espèces. Chez le chien, ce sont la maladie rénale chronique, le diabète sucré, l'hypercorticisme, l'insuffisance hépatique et l'hypercalcémie. Chez le chat, il s'agit de la maladie rénale chronique, le diabète sucré et l'hyperthyroïdie. Dans un premier temps, l'anamnèse puis l'examen clinique permettent de discriminer certaines hypothèses du diagnostic différentiel. Ainsi il est peu probable que la PUPD chez un jeune chat soit secondaire à une hyperthyroïdie (Shiel, 2017b).

La mesure de la densité urinaire donne une idée de l'affection à l'origine de la PUPD. Il conviendra cependant d'être précautionneux et de ne pas exclure certaines causes simplement pour une densité urinaire. En effet, une urine isosthénurique à modérément concentrée n'exclut pas un DI en particulier un DIC partiel. A l'inverse, des urines hyposthénuriques ne sont pas pathognomoniques d'un DI. Un hypercorticisme, une insuffisance hépatique, une hyperthyroïdie ou une PP peuvent s'accompagner de densités urinaires inférieures à 1,006 (Shiel, 2012). Cependant, la présence d'urines hyposthénuriques chez un animal déshydraté suggère un DI (Lunn *et al.*, 2013)

C'est dans la perspective d'exclure les causes courantes de PUPD que sont utiles les examens complémentaires de première intention, le DI ne s'accompagnant pas d'anomalies paracliniques majeures (Lunn *et al.*, 2013).

Les examens complémentaires indiqués lors de PUPD sont la numération formule, un panel biochimique complet comprenant la réalisation d'ionogramme, une mesure de la glycémie, les différents marqueurs hépatiques et rénaux, une exploration échographique abdominale et le dosage de la thyroïdémie totale chez le chat.

En l'absence d'anomalie clinique et paraclinique majeure, les principales hypothèses sont le DIC, le DIN primaire et la PP. Nelson (2014) appelle à la prudence, une maladie rénale sans azotémie, une insuffisance hépatique ou un hypocorticisme débutant ne s'accompagnant pas systématiquement d'anomalies paracliniques. C'est pourquoi la littérature recommande dans un second temps, le dosage des acides biliaires pré et post prandiaux, un rapport cortisol-créatinine urinaire, un rapport protéine-créatinine urinaire, un test de stimulation de la cortisolémie par l'ACTH ainsi qu'une sérologie pour la leptospirose (Lunn *et al.*, 2013).

b. Modifications paracliniques attendues lors de diabète insipide

Une fois les maladies sus-citées exclues, les hypothèses restantes sont un DIC, un DIN primaire ou une PP.

Lors de DI, la littérature s'accorde sur le fait que les examens paracliniques de première intention, dont l'examen biochimique et la numération formule, sont faiblement modifiés voire dans les normes de l'espèce lorsque l'accès à l'eau est *ad libitum* (Lunn *et al.*, 2013; Nelson, 2014). En effet, le SRAA étant intact, la perte exacerbée d'eau est compensée par la polydipsie secondaire. Lors de DI secondaire central ou néphrogénique, la modification du tableau paraclinique est à relier avec la cause initiale. Par exemple lors d'hypercorticisme, il est possible de trouver un leucogramme de stress, une augmentation de l'activité des phosphatases alcaline (PAL) et des gamma-glutamyl-transpeptidases (GGT), une hypernatrémie discrète ainsi qu'une hypokaliémie discrète (Gilor et Graves, 2011).

La numération formule est le plus souvent dans les normes de l'espèce bien qu'une augmentation de l'hématocrite soit parfois présente, signant une déshydratation visible ou non à l'examen clinique (Nelson, 2014).

Concernant l'examen biochimique, une diminution de l'urée plasmatique est retrouvée dans 25% des cas de DI (Harb *et al.*, 1996). Deux mécanismes concourent à l'hypourémie. D'une part, l'augmentation du flux urinaire entraîne un lavage médullaire majorant les pertes d'urée. D'autre part, la réabsorption de l'urée par les transporteurs UT-1 et UT-3 du tube collecteur est tributaire de la présence d'ADH (cf. 1.B.a), et par conséquent amoindrie lors de DI. Une hyponatrémie et une hypokaliémie discrètes sont présentes dans 20% des DI canins par perte urinaire ionique (Harb *et al.*, 1996 ; Nelson, 2014). Harb *et al.* (1996) rapportent une hypercholestérolémie chez 25% des chiens atteints de DIC, sans qu'une maladie intercurrente ne soit mise en évidence. A notre connaissance, il s'agit de la seule étude qui rapporte une telle altération biochimique, et les auteurs envisagent que certains prélèvements sanguins aient été réalisés en période post-prandiale, expliquant l'hypercholestérolémie.

L'analyse d'urine s'accompagne d'anomalies constantes. Les urines sont hyposthénuriques, la densité urinaire est généralement très faible avec des valeurs comprises entre 1,001 et 1,006 lors de DIC complet et lors de DIN primaire. Chez 49 chiens atteints de DIC, 41% avaient une densité urinaire de 1,001 ou 1,002. 84% avaient une densité inférieure à 1,006 (Harb *et al.*, 1996). Dans des formes moins graves, des urines isosthénuriques peuvent être observées : dans la même étude 16% des individus avaient une densité urinaire comprise entre 1,008 et 1,012. Une étude réalisée sur cinq chats souffrant de DIC (Aroch *et al.*, 2005), 100% des individus avaient une densité urinaire comprise entre 1,003 et 1,006. Néanmoins, il est possible d'observer des urines modérément concentrées, en particulier lors de DI partiel notamment si l'animal est déshydraté, ces animaux possédant une capacité résiduelle de concentration des urines. La dilution de l'urine s'exprime par une osmolarité urinaire faible avec des valeurs inférieures à 300 mOsm/L, les normes d'espèces étant [290 - 310] mOsm/L chez le chien et [290 – 330] mOsm/L chez le chat (Nelson, 2014). Une infection concomitante du tractus urinaire est fréquente, 25% des cas de DIC présentaient une bactériologie positive sur de l'urine récoltée par cystocentèse (Harb *et al.*, 1996).

Lorsque l'accès à l'eau n'est pas à volonté, les pertes d'eau urinaire excèdent les apports. La perte de fluide hypotonique provoque une déshydratation hyperosmolaire, à l'origine d'une majoration de l'osmolarité sanguine. La différence osmolaire entre l'intracellulaire et l'extracellulaire cause un flux d'eau depuis le milieu intracellulaire vers l'extracellulaire, et permet le rétablissement de la volémie. Ainsi, même lors de restriction hydrique, les signes cliniques de déshydratation ne sont pas systématiquement présents (Shiel, 2012). En revanche, les examens paracliniques sont caractéristiques d'une déshydratation. Il est alors fréquent de retrouver une polyglobulie relative liée à une hémococoncentration, ainsi qu'une augmentation de la concentration en protéines totales.

L'ionogramme témoigne d'une hypernatrémie par perte rénale de fluide hypotonique, ainsi qu'une hyperkaliémie. De telles altérations du ionogramme ont été retrouvées chez 15% des chiens de la cohorte décrite par Nelson (2014). La natrémie étant l'un des composants majeurs de l'osmolarité sanguine, une hyperosmolarité est associée à l'hypernatrémie. Enfin, la déshydratation s'accompagne d'une diminution de la pression hydrostatique capillaire glomérulaire, d'où une diminution du débit de filtration glomérulaire : une azotémie pré-rénale est donc possible.

Pour conclure, les examens complémentaires de routine ne constituent pas une preuve suffisante pour établir le diagnostic de DI. Le test de référence pour confirmer l'hypothèse de DI est le test de restriction hydrique (TRH). Également, le TRH constitue le test de référence pour différencier le DIC, DIN et PP. La partie suivante s'attache à décrire ce test.

c. Le test de restriction hydrique

Le TRH s'articule autour de quatre étapes : restriction relative, privation hydrique, administration de desmopressine et réintroduction de l'eau.

- *Précaution à adopter avant la réalisation du test de restriction hydrique*

Avant de réaliser le TRH, il est fondamental d'exclure les autres causes de PUPD. En effet, plusieurs affections et notamment l'hypercorticisme, peuvent se comporter comme le DIC partiel ou une PP, au risque d'induire le praticien en erreur. De plus, effectuer un TRH chez un animal atteint de maladie rénale chronique risque d'entraîner une insuffisance rénale aiguë. De même, restreindre la prise hydrique d'un animal souffrant de leptospirose est strictement contre-indiqué (McGrotty et Randell, 2019).

- *Protocole du test de restriction hydrique*

- Première étape : Restriction hydrique relative

Lors de PUPD persistante, l'augmentation du débit tubulaire et du flux médullaire provoque une perte urinaire de sodium, de chlore et d'urée et par conséquent une diminution de la tonicité médullaire. Or, comme vu précédemment, une hypotonie médullaire entretient l'incapacité de réabsorption de la solution tubulaire même en présence d'ADH et de récepteurs V2 fonctionnels (McGrotty et Randell, 2019). Sans rétablissement du gradient médullaire, l'interprétation des résultats du TRH est faussée.

La restauration de la tonicité médullaire passe par une diminution progressive de l'apport en eau lors des trois jours précédents la restriction hydrique. La littérature recommande de donner par apport fractionné 120 à 150 ml/kg le premier jour, 80 à 100 ml/kg le lendemain et enfin 60 à 80 ml/kg le troisième jour (Shiel, 2012 ; McGrotty et Randell, 2019). La restriction hydrique relative est réalisable chez le propriétaire mais elle implique une surveillance accrue, un abattement et des troubles du comportement pouvant survenir (Shiel, 2012).

- Deuxième étape : Privation hydrique

L'objectif de cette étape est de confronter l'organisme à une déshydratation afin de majorer la sécrétion d'ADH et d'en observer son action sur les reins. Il convient d'hospitaliser l'animal, puis de retirer l'accès à l'eau, une sonde urinaire est mise en place posée afin de vidanger la vessie et mesurer la diurèse au cours du test. D'après Shiel (2012), la sonde urinaire ne présente pas de risque infectieux car elle sera retirée au bout de quelques heures. L'auteur reconnaît cependant que

les urines diluées majorent la probabilité de développement d'une infection urinaire. Le recours à un antibiotique est envisageable mais seulement après le retrait de la sonde pour éviter le développement de résistance par la formation de biofilms. Une fois la vidange vésicale effectuée, le clinicien pèse l'animal.

Il convient de suivre l'évolution de l'animal face à la privation hydrique : cela s'articule autour de la surveillance clinique de l'animal et du monitoring de son poids. Des mesures de l'osmolarité urinaire, de l'urée, du sodium sont réalisées à raison d'une fois toutes les une à deux heures. L'osmolarité urinaire est un marqueur direct de la concentration urinaire et est par conséquent plus précis et sensible que la densité urinaire, bien que moins disponible en pratique vétérinaire. En général, l'osmolarité et la densité urinaire suivent des variations comparables, sauf lors de protéinurie : l'osmolarité augmentant alors plus nettement que la densité urinaire (McGrotty et Randell, 2019).

La privation hydrique se poursuit jusqu'à ce que l'animal ait perdu 3% à 5 de son poids initial (Nelson, 2014; McGrotty et Randell, 2019). Cette étape dure quelques heures à une journée selon l'affection. Par conséquent, il est conseillé de débiter la privation hydrique le matin afin de limiter le suivi clinique et paraclinique du patient durant la nuit. Si la densité urinaire de l'animal excède 1,025 à 1,030 la privation hydrique est arrêtée (Nelson, 2014; McGrotty et Randell, 2019). Parfois la perte de 3-5% de poids n'est pas atteinte, il est alors possible d'achever la restriction hydrique lorsque la variation entre trois valeurs d'osmolarité urinaire est inférieure à 5% ou 30 mOsm/kg. En effet, lorsque la réponse face à la restriction hydrique est maximale, l'osmolarité urinaire stagne. Si Lunn *et al.* (2013) considèrent que ce critère d'arrêt est transposable à la densité urinaire. Nelson (2014) déconseille de se fier à la densité urinaire comme critère d'arrêt de la privation hydrique.

La privation hydrique n'est pas sans danger pour un animal souffrant de PUPD marquée, de fait, il est crucial d'y mettre un terme si le patient présente un abattement, des signes neurologiques tels qu'une diminution de la vigilance, une ataxie ou des convulsions. La présence d'une hyperosmolarité sanguine, d'une natrémie supérieure, à 165 mmol/L ou d'une urémie supérieure à 0,65 g/L doit motiver l'arrêt de la restriction hydrique (Nelson, 2014; Shiel, 2017b).

□ Troisième étape : Administration d'analogue de l'ADH

Après obtention d'une perte de 3 à 5 % du poids initial et si la densité urinaire est inférieure à 1,025, le praticien administre de la desmopressine afin d'évaluer la réponse de l'organisme à de l'ADH exogène. Un suivi de la densité ou de l'osmolarité urinaire est réalisé durant cette étape. L'effet maximal de la desmopressine est observé entre 4 et 8 heures le plus souvent (Nelson, 2014).

La voie d'administration est variable selon la préférence des auteurs, elle conditionne la fréquence de mesure de la densité urinaire. McGrotty et Randell (2019) privilégient une administration intranasale à la dose 10 à 20 µg/kg, associée à des mesures de densité urinaire toutes les deux heures pendant 10 heures après inoculation. Nelson (2014) recommande une administration intramusculaire à la dose 0,2 à 0,4 UI/kg, ou sous-cutanée à la dose de 5 µg. L'analyse urinaire se fait à 2 et 4 heures post injection. Enfin, une injection intra-veineuse est décrite (Dettwiler *et al.*, 2019), la surveillance est entreprise toutes les 30 minutes pendant 2 heures, puis toutes les heures pendant 6 heures. La littérature ne présente pas d'étude comparative entre les différentes voies d'administration.

□ Quatrième étape : Réintroduction progressive de l'eau

Pour finir, il convient de proposer à l'animal de l'eau, la réintroduction de l'eau doit être progressive. En effet, sans surveillance, l'animal risque de boire de grands volumes au risque de vomir. Dans des cas extrêmes, une intoxication à l'eau est envisageable, la diminution brutale de l'osmolarité sanguine provoque alors un œdème cérébral.

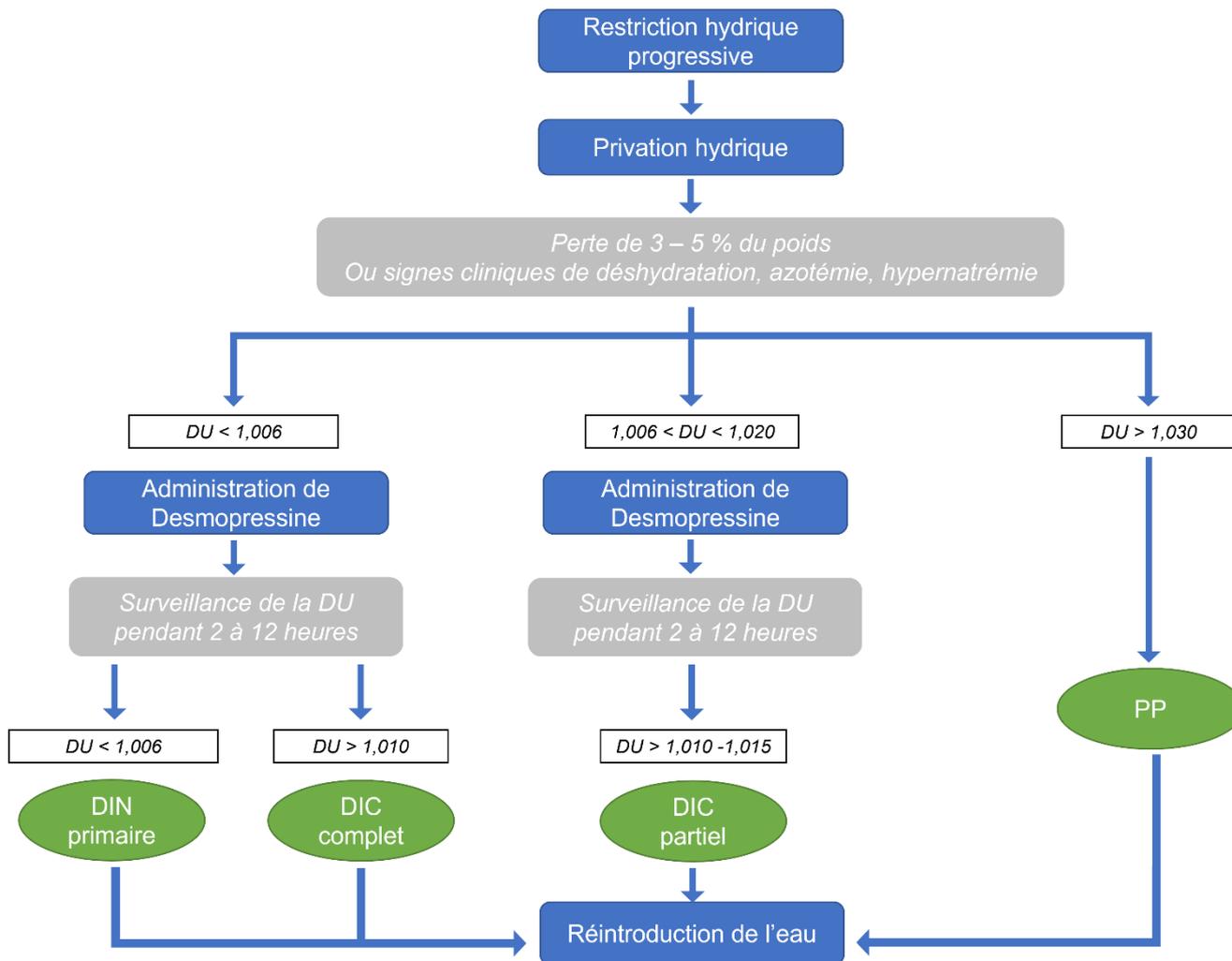
• *Interprétation du test de restriction hydrique*

La durée de privation hydrique pour atteindre la perte de 3% de masse corporelle est indicatrice de l'affection. En moyenne, le seuil de 3% est atteint au bout de 3 à 10 heures chez les animaux atteints de DIC complet ou de DIN, en plus de 10 heures pour les DIC partiel et en plus de 24 heures et jusqu'à 4 jours pour les animaux sains ou ceux atteints de PP (Nelson, 2014 ; McGrotty et Randell, 2019)

A la suite de la privation hydrique, une concentration urinaire, c'est-à-dire densité urinaire supérieure à 1,030 est indicatrice d'une PP. Des urines faiblement concentrées sont en faveur d'une DI. En particulier, une densité urinaire comprise entre 1,008 et 1,020 est plus courante lors de DIC partiel, ces animaux possèdent une capacité résiduelle de sécrétion d'ADH, donc de réabsorption hydrique rénale. Enfin, une densité urinaire inférieure à 1,008 indique un DIC complet ou un DIN primaire (les causes de DIN secondaire étant exclues à ce stade).

Le diagnostic définitif se base sur la réponse à la desmopressine. Lors de DIN, de l'ADH est déjà sécrétée par la neurohypophyse, l'administration d'un analogue n'a donc aucun effet : les urines demeurent hyposthénuriques. Lors de PP, l'ADH exogène ne permet pas une concentration plus forte des urines puisque les néphrons sont déjà sous influence de l'ADH endogène : la densité urinaire est inchangée. Lors de DIC, la densité urinaire augmente à la suite de l'administration de desmopressine. La réponse est plus marquée lors de DIC complet que lors des formes partielles, la valeur seuil de positivité à la desmopressine est 1,010 (Nelson, 2014). La Figure 8 reprend l'algorithme décisionnel à adopter lors de la réalisation de TRH.

Figure 8 : Interprétation du test de restriction hydrique, valeurs seuil d'après (Nelson, 2014)



- *Limites du test de restriction hydrique*

Le TRH n'est pas sans risque pour le patient puisqu'il s'agit de provoquer une déshydratation marquée dans un contexte de pertes hydriques accrues, d'où l'importance d'orchestrer une surveillance clinique et paraclinique rigoureuse et fréquente. Par conséquent, il s'agit d'un test chronophage lors de la journée d'un praticien, mais il peut en plus se poursuivre durant la nuit. Il peut s'avérer dangereux si réalisé sur un animal atteint de maladie rénale chronique, leptospirose, hypocorticisme, pyélonéphrite et insuffisance hépatique (Lunn *et al.*, 2013). Enfin, une hospitalisation est obligatoire, a minima lors de l'étape de privation hydrique, et impose donc une contrainte logistique pour le vétérinaire.

Des contre-indications existent pour les animaux présentant une hyperglycémie, une hypercalcémie, une azotémie, une déshydratation ou un état général dégradé (McGroddy et Randell, 2019)

En théorie, le TRH permet de trancher entre DIC, DIN et PP. Cependant, la différenciation entre la polydipsie primaire et le DIC partiel est complexe. Lors de DIC partiel, la sensibilité des récepteurs V2 à l'ADH est accrue, ce qui explique l'augmentation de l'osmolarité urinaire lors de la

restriction hydrique. La sécrétion de l'ADH n'étant pas nulle, l'augmentation de la densité urinaire après injection de desmopressine est moins marquée que pour un DIC complet. Ainsi, la PP et le DI partiel présentent un comportement similaire lors du TRH : d'une part, une concentration des urines à lieu lors de la restriction hydrique, d'autre part, l'administration de desmopressine a peu ou pas d'effet (Lunn *et al.*, 2013).

Le TRH ne permet pas de différencier un DIN primaire d'un DIN secondaire, bien qu'en théorie, le DIN secondaire soit exclu à ce stade (Lunn *et al.*, 2013).

Pour conclure, les résultats obtenus sont souvent moins caricaturaux, en pratique, il peut être nécessaire de coupler le TRH à d'autres examens (voir paragraphes suivants).

d. Alternatives diagnostiques

Compte tenu des contraintes de temps et d'hospitalisation qu'impose le TRH, il n'est pas toujours envisageable pour le clinicien d'y recourir. Des alternatives existent, les plus fréquemment employées sont l'épreuve thérapeutique et la stimulation par infusion hypertonique.

- *Test à l'épreuve de desmopressine*

Ce test consiste à évaluer la réponse de la concentration des urines à une stimulation à l'ADH exogène. Avant de réaliser ce test, il convient de mesurer la prise de boisson du patient pendant 3 jours. Pour les mêmes raisons que pour le TRH, une restriction hydrique progressive est réalisée chez le propriétaire sur trois jours afin de rétablir le gradient médullaire. Le propriétaire administre de la desmopressine (par voie orale ou intraoculaire) pendant cinq à sept jours. Au bout de cette durée, une prise de boisson réduite de plus de moitié par rapport à la valeur initiale est en faveur d'un DIC. Dans le cas contraire, il faut suspecter une PP ou un DIN (Shiel, 2012).

Ce test présente l'avantage d'être réalisable en totalité chez les propriétaires, il faut cependant les sensibiliser aux éventuels risques encourus ainsi qu'aux signes cliniques à surveiller. Ce test est donc plus simple à mettre en œuvre que le TRH, cependant, son apport diagnostique est plus limité. Il ne permet pas de différencier un DIN d'une PP d'une part, ni le DIC complet du DIC partiel d'autre part (Nelson, 2014).

Si ce test n'est pas envisageable, il est recommandé de réaliser un TRH (McGroty et Randell, 2019)

- *Stimulation par infusion hypertonique*

Le test de stimulation à l'infusion hypertonique consiste en l'administration par voie intraveineuse d'une solution de NaCl à 20% au débit 0,03 ml/kg pendant 2 heures. Des mesures de l'osmolarité plasmatique et urinaire et de la concentration en ADH sont effectuées toutes les vingt minutes. Une réponse augmentée de la sécrétion de l'ADH associée à des urines diluées est en faveur d'un DIN. Une augmentation marquée de la concentration d'ADH couplée à des urines concentrées témoigne d'une PP. Enfin, une augmentation faible ou absente de l'absence d'ADH est en faveur d'un DIC (Shiel, 2012).

Les osmomètres sont peu disponibles en médecine vétérinaire ce qui rend l'application de ce test difficile en pratique courante. L'utilisation de la densité urinaire plutôt que l'osmolarité urinaire n'est pas décrite.

e. Différencier diabète insipide central, diabète insipide néphrogénique et polydipsie psychogène

Lorsque le diagnostic de DI est établi, il convient d'en préciser l'origine centrale ou néphrogénique. Comme vu précédemment, le TRH, l'épreuve thérapeutique et la stimulation par infusion hypertonique permettent d'établir le diagnostic de DI et par la même occasion de différencier avec plus ou moins de certitude DIC, DIN et PP. La prise en charge thérapeutique étant différente pour ces trois entités, il est crucial de poursuivre la démarche diagnostique.

Par conséquent, le clinicien peut avoir recours à des examens additionnels. Ce paragraphe décrit donc des outils diagnostiques qui ne permettent pas d'établir le diagnostic de DI mais qui permettent de différencier DIC, DIN et PP.

- *Des examens de première intentions peu indicatifs*

Lors de DI, la polyurie primaire s'accompagne occasionnellement d'une augmentation de la concentration sérique en sodium. A l'opposé, une PP s'accompagne plus volontiers d'une hyponatrémie (Shiel, 2012).

Les chiens souffrant de DIC partiel peuvent produire des urines isosthénuriques lors de déshydratation et présentent des signes cliniques moins marqués que lors de DIC complet ou DIN primaire.

La PP s'intègre parfois dans de plus larges troubles comportementaux (Nelson, 2014).

- *Mesure de l'osmolarité sanguine*

La mesure de l'osmolarité sanguine nécessite un osmomètre, mais cette méthode est peu disponible en médecine vétérinaire. Cependant, il est possible d'approximer sa valeur à partir des principaux agents de l'osmolarité : la natrémie, la glycémie et l'urémie. Une approximation retrouvée dans la littérature est (DiBartola, 2011; Shiel, 2012) :

$$\text{Osmolarité plasmatique calculée} = 2 \times \text{Na} + \frac{\text{Urémie} \times 1\,000}{60} + \frac{\text{Glycémie} \times 1\,000}{180}$$

L'osmolarité plasmatique est exprimée en mOsm/L, la natrémie en mmol/L, l'urémie et la glycémie en g/L. Les dénominateurs des deux fractions correspondent aux masses molaires, exprimées en g/mol, respectivement pour l'urée et pour le glucose.

L'osmolarité sanguine permet de caractériser le mécanisme primaire de la PUPD, c'est-à-dire s'il s'agit d'une polydipsie primaire ou d'une polyurie primaire. Par conséquent, ce test oriente vers une PP versus un DI. Le prélèvement doit être réalisé alors que l'accès à l'eau n'est pas restreint (Nelson, 2014).

Lors de DI, la perte de fluide hypotonique par les reins provoque une diminution de la volémie, d'où une augmentation de l'osmolarité plasmatique. L'augmentation de la prise de boisson est réactionnelle. Les patients atteints de DI présentent une osmolarité proche de la limite haute de l'intervalle de référence, voire une hyperosmolarité. Pour rappel, les intervalles de référence de l'osmolarité sont [290 - 310] mOsm/L chez le chien et [290 - 330] mOsm/L chez le chat. A l'inverse, la polydipsie lors de PP s'accompagne d'une augmentation de la volémie, et par conséquent, une dilution du plasma s'exprimant par une hypoosmolarité (Nelson, 2014).

En pratique, les résultats sont rarement aussi concluants, les valeurs d'osmolarité chez les animaux souffrant de PP et de DI se recoupent. Le même auteur rapporte des valeurs d'osmolarité comprises entre 281 et 339 mOsm/L lors de DIC, entre 283 et 340 mOsm/L lors de DIN et entre 274 et 304 mOsm/L lors de PP. Nelson (2014) explique qu'une osmolarité inférieure à 280 mOsm/L est en faveur d'une PP, tandis qu'une valeur supérieure à 280 mOsm/L n'est pas concluante.

- *Excrétion urinaire des aquaporines 2*

Près de 3% des AQP-2 sont éliminées par voie urinaire. Van Vonderen *et al.* (2004) montrent que l'excrétion urinaire des AQP-2 reflète les variations attendues de la concentration en ADH lors d'infusion à la solution hypertonique ou lors d'hypervolémie. L'excrétion urinaire est supposément corrélée au niveau de réponse du néphron à l'ADH, elle pourrait constituer un marqueur pour préciser l'origine central ou néphrogénique du DI. Une publication en médecine humaine rapporte son utilisation pour différencier DIC et PP (Saito *et al.*, 1999). Il s'agit d'un dosage qui demeure très peu accessible en médecine vétérinaire, expliquant le faible nombre de publications à ce sujet.

- *Imagerie par résonance magnétique*

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) de la selle turcique permet d'évaluer la présence d'ADH. Une zone hyperintense en séquence T1 dans la région de l'hypophyse est présente chez 80% des patients en médecine humaine, mais absente en cas de DIC. La zone hyperintense correspond au stockage de l'ADH (Shiel, 2012).

En médecine vétérinaire, Teshima *et al.* (2008) montrent qu'une corrélation existe entre la concentration plasmatique en ADH et l'intensité du signal en regard de l'hypophyse : en coupe axiale le coefficient de corrélation est de 0,570. Dans une étude plus récente, les mêmes auteurs (Teshima *et al.*, 2011) décrivent une différence significative d'intensité de signal et de concentration sérique en ADH entre un groupe de 21 chiens souffrant de DIC à la suite d'une hypophysectomie dans le cadre du traitement de leur hypercorticisme et le groupe témoin. Cette étude ne montre pas de différence significative d'intensité de signal lors de DIC partiel contre le DIC complet.

- *Mesure de l'ADH*

La mesure directe de l'ADH circulant est un outil de choix dans le diagnostic d'un DI. Lors de DIC, la sécrétion d'ADH est déficiente : la concentration d'ADH plasmatique est faible. Cette dernière est normale à élevée lors de DIN. Il est envisageable de mesurer la concentration basale ou à la suite d'un test stimulant la sécrétion d'ADH tels que la stimulation par infusion hypertonique ou le TRH. Les valeurs de référence dans l'espèce canine sont [1 – 6] pg/mL d'après (van Vonderen *et al.*, 1999). La littérature ne mentionne pas de référence pour l'espèce féline.

Le dosage de l'ADH plasmatique n'est pourtant pas le test de référence pour caractériser le DI. Premièrement, les conditions pré-analytiques sont très contraignantes : l'hormone est sensible à la protéolyse et sa demi-vie est courte (Shiel, 2012). Par conséquent, le prélèvement doit être réfrigéré puis analysé rapidement. Le protocole décrit dans l'étude de van Vonderen *et al.* (2004) consiste en l'extraction par ajout d'éthanol à 96° au plasma puis la centrifugation à 5000 tour minutes pendant 30 minutes à une température de 4°C, le dosage était alors réalisé par une radio-immunologie. Le dosage s'est amélioré depuis grâce à la méthode ELISA, même si la petite taille de l'ADH complique la fixation des anticorps, d'où la nécessité d'une incubation longue, parfois supérieure à 24 heures (Wallis, 2012). Enfin, le dosage demeure peu accessible (Nelson, 2014).

Van Vonderen *et al.* (1999) observent un manque de sensibilité du dosage de l'ADH lors du diagnostic de PP. Lors d'une stimulation par infusion hypertonique, l'intégralité des chiens de la cohorte présentaient une réponse absente ou diminuée. Ce déficit est imputable à une altération de la sensibilité de sécrétion d'ADH à cause de l'hypervolémie. De telles constatations sont aussi décrites en médecine humaine (Moses et Clayton, 1993).

Une étude (Biewenga *et al.*, 1987) rapporte une faible corrélation entre la concentration d'ADH et l'osmolarité sanguine chez 25 chiens sains ($r^2 = 0,505$). Dans cette étude, la corrélation entre ADH et osmolarité sanguine est encore plus faible après stimulation à l'hypertonique ($r^2 = 0,336$) et lors de test de restriction hydrique ($r^2 = 0,283$). D'autre part ; lors d'une stimulation par perfusion de solution hypertonique, 61% des 18 chiens recrutés présentaient une sécrétion d'ADH non linéaire en fonction de l'osmolarité sanguine (van Vonderen *et al.*, 2004), les auteurs attribuent cela à la sécrétion pulsatile de l'ADH. Cette caractéristique entraîne une grande variabilité entre individus du seuil osmotique de sécrétion et de l'intensité de réponse à l'ADH. C'est pourquoi l'interprétation d'une concentration ponctuelle en ADH est difficile en pratique. Finalement, dans cette étude, le dosage de l'ADH n'avait permis pas de distinguer DIC, DIN et PP.

f. Déterminer la cause du diabète insipide

Une fois l'origine centrale ou néphrogénique établie, il convient de préciser l'affection causale.

- *Etiologie du diabète insipide néphrogénique primaire*

Par définition, le DIN primaire est congénital. Cependant, il pourrait être intéressant de mener une étude auprès des individus de la même portée afin d'identifier une potentielle forme familiale.

- *Etiologie du diabète insipide centrale*

Comme mentionné précédemment, le DIC est majoritairement idiopathique (Nelson, 2014).

L'épidémiologie, notamment l'âge de l'animal, oriente le clinicien dans l'origine du DI. Les individus âgés sont plus sujets à développer des néoplasies, tandis que les anomalies congénitale et acquises idiopathiques sont plus fréquentes chez le jeune animal (Harb *et al.*, 1996).

Lors de DIC secondaire, les affections causales affectent la structure de la neurohypophyse. Des examens d'imagerie avancés comme l'examen tomodensitométrique ou l'IRM sont donc indiqués. L'examen tomodensitométrique permet un diagnostic étiologique lors d'affection du parenchyme hypothalamo-hypophysaire. Harb *et al.* (1996) indiquent que sur dix chiens âgés atteints de DIC, six présentaient une néoplasie hypophysaire. On suppose que la tomodensitométrie révélerait de même des images caractéristiques lors de kystes, de traumatisme ou toute autre cause lésionnelle de DIC. L'IRM pourrait également identifier une cause au DIC bien qu'à notre connaissance, il n'existe pas d'étude rétrospective portant sur l'intérêt de l'IRM lors de DI. En théorie, l'IRM serait plus sensible pour détecter des anomalies structurelles de l'hypophyse et l'hypothalamus.

E. Traitement du diabète insipide

Le DI et la PUPD qui en découle ne nécessitent pas obligatoirement une prise en charge médicale. Si les propriétaires ne souhaitent pas de prise en charge médicale, il est crucial que le patient ait un accès permanent et à volonté à l'eau. Dans le cas contraire, une déshydratation

hyperosmolaire apparaît rapidement, s'accompagnant de signes neurologiques. Outre la polydipsie, la polyurie est contraignante, aussi, la plupart des animaux non traités ont un accès libre à l'extérieur. Les propriétaires souhaitent le plus souvent une prise en charge médicale car l'intense PUPD dégrade la qualité de vie des animaux et de leurs propriétaires. (Nelson, 2014)

a. Traitement du diabète insipide central

- *La desmopressine, analogue de l'ADH*

L'analogue synthétique de l'ADH, la desmopressine, est le traitement standard du DIC. Cette molécule a un effet antidiurétique trois fois supérieure à celle de l'ADH, son action sur les récepteurs V1a est presque nulle : l'activité vasopresseur est donc négligeable (Nelson, 2014). Son action libératrice de facteur de Von Willebrand et du facteur VIII justifie son emploi dans la prise en charge de la maladie de Von Willebrand et l'hémophilie (Rhett et Peterson, 2013).

L'effet anti-diurétique s'observe dans les deux heures après l'administration de la desmopressine, et persiste entre 8 à 16 heures. Une diminution de la prise de boisson s'observe dans les cinq à sept jours après initiation du traitement (Duperrier *et al.*, 2020).

- Une posologie dépendante du choix de la forme galénique

Plusieurs formes galéniques sont disponibles : intranasal, comprimé et injectable.

Le spray intranasal a une concentration de 100 unités/ml, une pression délivrant 10 µg. Rhett et Peterson (2013) déconseillent cette voie d'administration car elle est mal tolérée par l'animal qui risque de bouger lors de l'administration. Il y a un risque de non-respect de la dose prescrite et éventuellement un surdosage si le propriétaire s'y reprend à plusieurs fois. Pour cette raison, il est possible de reconditionner le spray pour une administration intraoculaire, à administrer dans le sac conjonctival. Une goutte contient 1,5 à 4 µg de principe actif (Nelson, 2014). Chez le chien, la dose moyenne pour le traitement du DIC est d'une à deux gouttes dans chaque œil une à deux fois par jour. La posologie pour un grand chien peut être augmentée jusqu'à quatre à cinq gouttes dans les deux yeux, deux fois par jour. L'intégralité des chiens traités dans l'étude de Harb *et al.* (1996) à la dose d'une à deux gouttes toutes les 12 à 24 heures, ont présenté une diminution significative de la PUPD en 72h. Une goutte toutes les douze heures est suffisante chez le chat (Degregori *et al.*, 2020). Le produit étant acide, une irritation conjonctivale ou oculaire est possible bien que rare : Aroch *et al.*, (2005) rapporte un tel cas chez un chat.

Une forme injectable à la dose de 4µg/ml est décrite dans littérature, cependant son prix prohibitif (7 à 15 fois celui du traitement topique) rend son utilisation inenvisageable. En revanche, il est possible d'injecter par voie sous cutanée la forme intranasale, après traitement par un filtre bactériostatique : cette formulation présente la même efficacité que la formulation injectable du commerce (Rhett et Peterson, 2013). En médecine humaine, la voie parentérale a une biodisponibilité 5 à 20 fois supérieure à la voie topique, autorisant des doses plus faibles et donc un prix inférieur. La littérature recommande une à deux injections par jour à la dose de 1 à 5 µg (Shiel, 2012). D'après Rhett et Peterson (2013) cette voie est mieux supportée à long terme que l'inoculation conjonctivale, en particulier par les chats. L'effet antidiurétique est plus persistant que celui de la voie topique.

La voie orale présente une biodisponibilité inférieure à la voie topique, nécessitant donc d'administrer des doses plus fortes : Nelson (2014) recommande une administration biquotidienne à la dose 0,05 mg pour les chats et les chiens de moins de 5 kg, 0,1 mg pour les chiens entre 5 et

20 kg, 0,2 mg pour les chiens de plus de 20 kg. Des comprimés sont disponibles à la dose de 0,1 mg et 0,2 mg. Cette voie d'administration est plus onéreuse, d'un facteur 2,5 par rapport aux topiques et d'un facteur 6 par rapport à la voie sous-cutanée. Cependant, l'observance du traitement est plus aisée et permet donc un meilleur suivi à long terme. Cette voie d'administration est préférée par les propriétaires de chats : l'intégralité des propriétaires dans l'étude publiée par Aroch *et al.* (2005) préféreraient l'administration orale.

□ La nécessité d'adapter le traitement à chaque individu

La littérature rapporte de grandes variations interindividuelles, il est conseillé d'initier le traitement aux doses citées précédemment puis d'ajuster la dose selon la réponse au traitement. Si la durée effective est insuffisante, l'administration toutes les 8 heures est envisageable. L'augmentation de la dose entraîne également une augmentation de la durée d'action (Aroch *et al.*, 2005; Rhett et Peterson, 2013). Shiel (2012) recommande d'attendre la réapparition de la polydipsie entre deux administrations de sorte à éviter les surdosages.

Il est intéressant de réaliser un suivi biochimique régulier de la kaliémie et de la magnésémie dans un contexte de PUPD qui exacerbe les pertes urinaires ioniques (Lunn *et al.*, 2013).

En absence d'amélioration de la PUPD malgré une dose élevée de desmopressine, plusieurs hypothèses sont envisageables. Premièrement, il faut interroger l'observance du traitement : une méthode d'inoculation inadaptée, une dose insuffisante ou un flacon périmé sont des causes d'échec thérapeutique. Il s'agit de faire reproduire les gestes par le propriétaire pour l'éduquer. La coexistence d'une maladie intercurrente peut expliquer la persistance de la PUPD. Enfin, un diagnostic initial erroné est à considérer, l'hypercorticisme est alors l'hypothèse principale (Nelson, 2014).

□ Effets secondaires et limites du traitement par la desmopressine

La desmopressine est une molécule sûre d'emploi, son indice thérapeutique est élevé. L'effet secondaire principal, bien que rare, est l'hyponatrémie. L'hyponatrémie s'observe plus fréquemment lors d'administration par voie parentérale (Nelson, 2014). Un surdosage mime un SIADH, s'exprimant par une adipsie et une anurie et un abattement, un ptyalisme, des trémulations, une ataxie voire une crise convulsive ou un coma. Le risque d'intoxication à l'eau est majoré lors de la période de latence après administration de desmopressine : l'animal boit de grandes quantités d'eau qui ne sont pas éliminées par la suite lorsque la desmopressine fait effet. De fait, il est conseillé de ne pas fournir de l'eau à volonté dans les deux heures suivant l'administration de la desmopressine (Rhett et Peterson, 2013).

Le coût est un motif majeur d'interruption du traitement. Harb *et al.* (1996) rapportent trois arrêts de traitement parmi les 18 chiens pris en charge, l'eau étant donnée *ad libitum* chez ces patients, aucune complication n'a été décrite.

• *Diurétiques thiazidiques*

Les thiazides sont des inhibiteurs du co-transporteur Na^+/Cl^- localisé dans la branche ascendante de Henlé, ils ont une action diurétique, en particulier natriurétique et kalidiurétique (Nadal *et al.*, 2018). L'utilisation de diurétiques dans la prise en charge d'une PUPD semble contre-intuitive. La perte exacerbée de sodium entraîne une diminution de la natrémie donc une prise de boisson amoindrie par inhibition du centre de la soif. Finalement, la volémie et le DFG diminuent,

permettant une meilleure absorption d'eau dans le tube contourné proximal et donc une baisse de la diurèse et une hausse de la densité urinaire.

Les thiazides sont indiqués lors de DIC partiel, la posologie est de 20 à 40 mg/kg deux fois par jour pour le chlorothiazide et 2,5 à 5 mg/kg pour l'hydrochlorothiazide (DiBartola, 2011).

L'efficacité des diurétiques thiazidiques chez le chien est variable, selon les études, une réduction du volume d'urine de 20 à 50% est observée (DiBartola, 2011). D'après Duperrier *et al.* (2020), aucune publication ne fait part de l'efficacité de ce traitement chez le chat.

Les effets secondaires sont des déséquilibres ioniques : hyponatrémie, hypokaliémie, hypercalcémie principalement et parfois une hyperglycémie secondaire à l'hypokaliémie. Un suivi biochimique est conseillé pour devancer l'apparition de ces troubles (Nelson, 2014 ; Nadal *et al.*, 2018).

- *Chlorpropamide*

Le chlorpropamide est un sulfonyleuré, c'est-à-dire un sulfamide hypoglycémiant, indiqué lors de DIC partiel. Son mécanisme d'action n'est pas entièrement connu, on sait cependant que cette molécule potentialise l'action de l'ADH par augmentation de la concentration intracellulaire en AMP_c. Par conséquent, une sécrétion résiduelle d'ADH est nécessaire pour assurer l'efficacité du chlorpropamide : cette molécule est donc inefficace lors de DIC complet. La diminution de la diurèse s'observe au bout de une à deux semaines (Nelson, 2014)

L'efficacité du chlorpropamide est variable selon les cas rapportés avec une réduction du volume mictionnel jusqu'à 50% (DiBartola, 2011). Une étude (Rogers *et al.*, 1977) rapporte une diminution du volume urinaire de 94 ml/kg/j à 20 ml/kg/j chez un chat atteint de DIC partiel par un traitement à 40mg/kg de chlorpropamide. La posologie n'est pas bien établie, Hardy (1982) propose une dose de 10 à 40 mg/kg par jour par voie orale. La plupart des publications ayant recours au chlorpropamide datent des années 1980, cette molécule semble moins utilisée de nos jours (Hardy, 1982).

Le principal effet secondaire attendu est une hypoglycémie par stimulation de la sécrétion d'insuline (Nelson, 2014).

- *Alimentation hyposodée*

Un apport alimentaire réduit en sodium, c'est-à-dire moins d'un gramme de sel pour 1000 kilocalories, augmente le volume d'urine primitive réabsorbée dans le tubule proximal, réduisant la diurèse. Il s'agit d'une thérapie adjuvante qui peut être mise en place en parallèle d'un traitement médical, notamment avec les diurétiques thiazidiques, pour la prise en charge d'un diabète insipide central ou néphrogénique (Takemura, 1998 ; Nelson, 2014).

b. Traitement du diabète insipide néphrogénique

Lors de DIN secondaire, il convient avant tout de traiter l'affection responsable. Un accès à volonté à l'eau est donné lorsque l'état clinique de l'animal l'autorise.

- *La desmopressine, inefficace pour le traitement du diabète insipide néphrogénique*

Lors de la forme familiale de DIN primaire, le récepteur V2 possède une affinité nettement diminuée pour l'ADH, il reste cependant fonctionnel. Dans cette perspective, Luzius *et al.* (1992)

décrivent l'effet de l'administration d'une dose très élevée de desmopressine par voie intramusculaire trois par jour à la dose 0,33 UI/kg. Deux heures post-administration, une augmentation de l'osmolarité urinaire était notée chez les deux individus traités : l'osmolarité urinaire médiane était de 73 mOsm/L initialement et 510 mOsm/L deux heures après traitement. Une nette diminution de la prise de boisson était constatée au bout de neuf jours : 182 ml/kg par jour en moyenne initialement contre 58 ml/kg après traitement. La quantité bue à neuf jours était comparable à celle d'individus sains. Cependant, un traitement à de telles doses serait extrêmement onéreux donc inenvisageable à long terme pour la grande majorité des propriétaires.

- *Thiazides*

Comme expliqué dans la partie I.2.e.a, les thiazides sont des salidiurétiques et entraînent à long terme une hausse de la réabsorption d'eau par diminution du DFG. Également, les diurétiques thiazidiques augmentent l'expression des AQP-2 dans le tubule rénal. Les diurétiques thiazidiques sont le traitement de choix lors de DIN primaire (Shiel, 2012). L'administration de 2 mg/kg deux fois par jour d'hydrochlorothiazide, conjointement à un régime hyposodée, chez un chien atteint de DIN congénital a permis une amélioration de la PUPD après deux semaines de traitement sans qu'aucune complication ne soit rapportée par la suite (Takemura, 1998). L'auteur insiste sur l'importance d'adapter la posologie au patient : une diminution de la dose administrée à 1 mg/kg deux fois par jour s'accompagnerait d'une augmentation de la prise de boisson.

- *Chlorpropamide*

A la différence des thiazides, cette molécule n'est pas indiquée pour la prise en charge du DIN.

- *Alimentation hyposodée*

Comme mentionné précédemment, la mise en place d'une alimentation hyposodée, en parallèle ou non d'un traitement médical, permet une diminution de la diurèse lors de DIN.

F. Pronostic lors de diabète insipide

Le pronostic associé au DI est bon même en absence de traitement, pour peu que l'accès à l'eau soit à volonté. Les complications hydroélectriques sont rares et peu cliniques. En revanche, les différentes causes du DI s'accompagnent de pronostics variables. Dans toutes les formes de DI, le cout du traitement ainsi la gêne occasionnée par la PUPD de l'animal sont des motifs d'euthanasie précoce.

Le pronostic lors de DIC dépend de l'âge du patient et de la cause lors de forme secondaire. Harb *et al.* (1996) montrent que le pronostic est bon chez les jeunes individus, chez qui les causes majeures sont les malformations congénitales et la forme idiopathique. Chez les individus âgés, la forte prévalence de l'origine tumorale assombrit le pronostic : seuls 15% des individus de plus de 6 ans étaient en vie lors de la publication de l'étude, contre 83% pour les moins de trois ans. Dans cette étude, 58% des animaux furent euthanasiés dans les mois suivants le diagnostic du DI, avec une médiane de deux mois, à la suite de l'apparition de signes neurologiques (ataxie, crise convulsive). Ces troubles sont à relier avec l'envahissement du parenchyme nerveux par la tumeur. L'intégralité des autopsies réalisées sur quatre chiens ayant présenté des signes neurologiques révélait une masse hypophysaire. A notre connaissance, il n'existe pas d'étude quant à la différence de pronostic entre le DIC complet et le DIC partiel.

Lors de forme primaire de DIN, le risque accru de déshydratation, hypernatrémie, d'azotémie ainsi qu'une réponse au traitement souvent mauvaise s'accompagnent un pronostic réservé voire sombre (Lunn *et al.*, 2013; Nelson, 2014).

Le pronostic associé aux formes secondaires de DIN dépend de l'affection initiale.

3. Le diabète insipide en médecine humaine

Cette partie aborde succinctement les principaux points d'intérêt du DI en médecine humaine en insistant plus largement sur les points divergents avec la médecine vétérinaire.

A. Etiologie du diabète insipide en médecine humaine

Le DI est une affection peu courante en médecine humaine, sa prévalence est estimée à une personne parmi 25 000 (Levy *et al.*, 2019). La littérature ne rapporte pas de prédisposition liée au sexe et les cas de DI sont rapportés chez des enfants comme chez des adultes. A l'instar de la classification vétérinaire, on distingue une origine centrale d'une origine néphrogénique. La classification détaillée par la suite reprend celle de (Fenske et Allolio, 2012)

a. Diabète insipide central

- *Diabète insipide central congénital*

Les mutations à l'origine de DIC congénitaux sont bien identifiées, il s'agit majoritairement de mutations autosomales dominantes, et dans une moindre mesure autosomales récessives ou liées à l'X. Les mutations affectent les précurseurs de l'ADH, provoquant l'accumulation d'une protéine anormale dans les neurones, puis leur apoptose. Les individus développent une PUPD dans leurs premiers mois à années de vie (Fenske et Allolio, 2012).

- *Diabète insipide central secondaire*

Chez l'Homme, les cas de DIC sont majoritairement secondaires. Les causes sont similaires à celles du DIC chez l'animal, la littérature rapporte des origines traumatiques, néoplasiques, granulomateuses, inflammatoires, infectieuses, médicamenteuses, vasculaires. Les symptômes sont secondaires à une destruction étendue des neurones magnocellulaires (Verbalis, 2020).

L'atteinte des osmorécepteurs engendre une forme particulière de diabète insipide dite diabète adipsique qui s'exprime par une hypernatrémie marquée, une déshydratation et une absence de soif. Les causes du diabète adipsique sont identiques à celles du DIC, cependant la localisation des lésions est plus rostrale, à proximité des osmorécepteurs (Verbalis, 2020).

L'origine traumatique désigne une origine accidentelle ou chirurgicale. Les traumatismes crâniens-cérébraux causent le plus souvent un épisode polyuro-polydipsique seulement transitoire (Chou *et al.*, 2011). La prévalence du DIC comme complication d'une chirurgie varie fortement selon la procédure employée et a fortiori de la nature de la néoplasie motivant l'opération. Lors de chirurgie transsphénoïdale, 20 à 30% des patients développent un DI, généralement transitoire (Finken *et al.*, 2011 ; Fenske et Allolio, 2012). Lors d'intervention sur un adénome hypophysaire, la complication survient dans 1% des cas, une incidence bien plus faible qu'en médecine vétérinaire. En effet, en médecine vétérinaire, un adénome hypophysaire motive une hypophysectomie tandis qu'en médecine humaine une exérèse stricte de l'adénome est réalisée. L'étendue des lésions iatrogène est bien plus importante dans le premier cas. Chez 5 à 15% des cas adultes, l'apparition du DIC suit un motif stéréotypé : on parle de pattern triphasique. Un jour après le traumatisme, la lésion neuronale empêche la libération d'ADH : cette phase polyurique initiale perdure jusqu'à cinq jours. Une phase antidiurétique survient entre le 6 et 11^e jour, elle correspond à la libération incontrôlée de l'ADH par les neurones endommagés. Enfin, l'épuisement des réserves d'ADH amène à un

diabète insipide permanent (Chou *et al.*, 2011; Finken *et al.*, 2011). Ce motif triphasique est aussi présent chez les enfants.

Les adénomes hypophysaires causent rarement un DIC, tandis que les craniopharyngiomes en sont une cause majeure chez l'enfant (Fenske et Allolio, 2012).

- *Diabète insipide primaire*

En absence d'antécédents ou de lésions à l'IRM, le DIC est jugé idiopathique. Cela concerne jusqu'à 25% des cas de DIC chez l'adulte et 50% chez l'enfant (Fenske et Allolio, 2012; Verbalis, 2020). Une origine auto-immune est en réalité suspectée dans de nombreux cas jugés idiopathiques, l'examen histologique après prélèvement nécropsique mettant en évidence des infiltrations lymphoplasmocytaires de l'hypophyse (Verbalis, 2020).

- *Diabète insipide gestationnel*

Au cours du deuxième ou troisième trimestre de grossesse, un DI peut se développer chez la femme, on parle alors de DI gestationnel. Le déficit en ADH est secondaire à une augmentation de sa dégradation par une hormone placentaire, la cystéine aminopeptidase. Les signes cliniques se résolvent spontanément dans les semaines qui suivent l'accouchement (Fenske et Allolio, 2012). La littérature ne classe pas le DI gestationnel dans les causes de DIC secondaire, probablement car le mécanisme ici n'est pas une lésion des tissus hormonosécrétants.

b. Diabète insipide néphrogénique

- *Diabète insipide néphrogénique primaire*

Le DIN primaire est bien mieux caractérisé en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire. On distingue trois grandes catégories selon la mutation en cause (Robben *et al.*, 2006) :

- Liée à l'X : une mutation du gène codant pour le récepteur V2 entraîne une insensibilité à l'ADH. Une sous classification en 5 familles intègre le mécanisme impliqué. La forme liée à l'X représente 90% des DIN primaires.
- Récessive, identifiée chez 10% des DIN primaires. Les signes cliniques sont présents dès la naissance et sont plus marqués que dans la forme liée à l'X.
- Autosomale dominante, la plus rare, identifiée dans 7 familles.

- *Diabète insipide néphrogénique secondaire*

On retrouve des causes similaires à celles citées chez les carnivores domestiques.

Le lithium, employé dans le traitement des troubles bipolaires, est la première cause de DIN chez l'homme. Une PUPD marquée est présente chez 15% des individus traité au lithium. Chez des rats, le lithium provoque une diminution du débit de filtration glomérulaire, une diminution de l'expression des AQP-2. Ces effets secondaires expliquent l'intervalle thérapeutique étroit du médicament (Robben *et al.*, 2006).

La littérature mentionne également la polykystose rénale, des affections vasculaires, la sarcoïdose, l'amyloïdose rénale, causes non rapportées en médecine vétérinaire à notre connaissance (Verbalis, 2020).

B. Signes cliniques lors de diabète insipide

Chez l'Homme, le DI s'exprime également par une PUPD intense. Les patients rapportent une sensation de soif intense, une prise de boisson augmentée y compris durant la nuit, des urines pâles (Levy *et al.*, 2019). Les enfants peuvent présenter une incontinence durant le sommeil, un retard de croissance. Une forte déshydratation s'accompagne de nausées, vomissements, constipation, céphalée.

Une fatigue chronique, une galactorrhée ou une cyclicité menstruelle irrégulière indiquent une atteinte hypophysaire, orientant le diagnostic vers une origine centrale (Levy *et al.*, 2019).

La polydipsie primaire se rencontre plus volontiers chez des individus souffrant de troubles psychiatriques ou comportementaux (Levy *et al.*, 2019).

C. Diagnostic du diabète insipide en médecine humaine

La démarche diagnostique est similaire à celle employée en médecine vétérinaire, il s'agit d'abord de confirmer une polyurie hypotonique, puis d'écartier les causes courantes par des examens accessibles (examens hémato-biochimiques, imagerie). Enfin des tests plus spécifiques permettent de confirmer puis de caractériser le DI.

a. Confirmation de la PUPD et examens de première intention

Dans un premier temps, le clinicien demande au patient de collecter ses urines sur 24 heures, un volume urinaire supérieur à 50 ml/kg/j confirme la polyurie chez un adulte. Une urine hypotonique possède une osmolarité inférieure à 300 mOsm/kg. Une osmolarité urinaire supérieure à 800 mOsm/kg exclut un DI.

Par sa forte prévalence dans la population, le diabète sucré est l'une des premières causes à exclure par le clinicien.

Nous ne détaillerons pas le reste des examens d'orientation qui sont très similaires à la démarche réalisée en médecine vétérinaire.

b. Caractérisation du diabète insipide

Comme en médecine vétérinaire, l'étape la plus difficile est de distinguer entre DIC, DIN et PP.

- ***Test indirects : restriction hydrique et infusion saline hypertonique***

Le test le plus largement employé est le test de restriction hydrique. Il constitue, avec le test d'infusion saline hypertonique, la catégorie des tests indirects, par opposition au dosage « direct » de l'ADH. Le protocole de restriction hydrique est proche de celui réalisé chez les carnivores domestiques. La phase de restriction hydrique progressive n'est pas décrite en médecine humaine. Cependant, plusieurs conditions pré-protocole doivent être remplies : arrêt des traitements en cours au moins 24 heures avant et correction des troubles électrolytiques préexistants. La phase de restriction hydrique dure en moyenne 8 heures, une surveillance du poids, de la fréquence cardiaque et de la pression sanguine est réalisée toutes les heures. En parallèle, des mesures de l'osmolarité urinaire et sanguine, de la natrémie sont effectuées toutes les deux heures. Plusieurs critères d'interruption du protocole sont à prendre en compte : une perte de poids supérieure à 3 %, une natrémie excédant 150 mmol/L, apparition de signes cliniques... Une administration IV ou IM de

desmopressine conclut le protocole (Gubbi *et al.*, 2000). L'interprétation est similaire à celle détaillée dans la partie I.2.d.c. La notion de DIN partiel, absent en médecine vétérinaire, est définie comme l'augmentation relative de la densité urinaire durant la restriction hydrique et l'absence d'augmentation de la densité urinaire après injection de desmopressine.

Le protocole d'infusion saline hypertonique est proche de celui détaillé dans la partie 2. D. e, la différence majeure étant le débit de perfusion à 0,15 ml/kg/min.

La qualité diagnostique des tests indirects est dégradée lors des situations intermédiaires comme un DIN partiel, un DIC partiel ou une PP chronique (Gubbi *et al.*, 2000). Dans une étude réalisée sur 50 patients, le protocole de restriction hydrique conduit au diagnostic chez 70% des patients (Fenske *et al.*, 2011).

Des tests de stimulation fondés sur des stimulus non osmotiques, comme la nicotine, la nausée ou l'hypotension, ont été envisagés mais leur emploi reste anecdotique en pratique (Fenske et Allolio, 2012).

- *Test direct : dosage de l'ADH plasmatique*

Le dosage de l'ADH, après stimulus osmotique ou non, présente les mêmes limites qu'en médecine vétérinaire : la sécrétion pulsatile de l'hormone et les conditions pré-analytiques contraignantes rendent ardue l'interprétation du dosage. L'interprétation est plus difficile face à une DIC partiel, un DIN partiel ou une PP chronique. Parmi 50 patients, le diagnostic correct a été attribué pour 46% des cas (Fenske et Allolio, 2012).

Enfin, des avis récents soutiennent que la relation entre la concentration plasmatique en ADH et l'osmolarité sanguine est moins linéaire que ce qui était supposé par le passé (W. Fenske *et al.*, 2018).

- *Intérêt du dosage de la copeptine*

- Physiologie de la copeptine

Une alternative prometteuse aux tests précédemment cités prend de l'importance depuis quelques années en médecine humaine : le dosage de la copeptine. La copeptine est le glycopeptide C-terminal de la pré-pro-vasopressine, elle est composée de 39 acides aminés fortement conservés parmi les mammifères (cf. I.1.a.b). La copeptine interviendrait dans le repliement protéique et la maturation de la vasopressine (Szinnai *et al.*, 2007).

Une étude réalisée sur 359 individus sains rapporte une concentration moyenne de 4,2 pmol/L et un intervalle de confiance à 95% de [4,0 ; 4,4] pmol/L (Morgenthaler *et al.*, 2006). Une différence de concentration basale entre hommes et femmes est notée dans cette étude. Une étude ultérieure confirme cette observation, la concentration chez les hommes (5,2 pmol/L) étant significativement plus élevée que chez les femmes (3,7 pmol/L), sans influence du cycle menstruel (Bhandari *et al.*, 2009). Cette différence ne s'observe plus après stimulation osmotique. Dans la même étude, la concentration en copeptine est par ailleurs corrélée au débit de filtration glomérulaire.

- La copeptine comme marqueur de l'ADH

En théorie, la copeptine et l'ADH sont libérées en proportion équimolaire, point conforté par Balanescu *et al.* (2011) et W. K. Fenske *et al.* (2018) qui trouvent une corrélation importante entre

la concentration basale en ADH et celle en copeptine ($r^2 > 0,80$ dans les deux études). De plus, la copeptine observe des variations comparables à celles de l'ADH lors de variations de l'osmolarité sanguine : la concentration en copeptine est significativement augmentée lors d'hyperosmolarité, et diminuée lors d'hypoosmolarité (Szinnai *et al.*, 2007 ; Balanescu *et al.*, 2011). Balanescu *et al.* (2011) rapportent une corrélation plus élevée entre la concentration en copeptine et l'osmolarité sanguine que celle entre concentration en ADH et osmolarité sanguine ($r_s = 0,77$ pour la copeptine contre $r_s = 0,49$ pour l'ADH). La copeptine apparait donc comme un bon marqueur de la concentration en ADH en situation physiologique et pathologique.

L'idée d'employer la copeptine comme marqueur de l'ADH est confortée par ses conditions pré-analytiques moins contraignantes. Sa demi-vie *in vivo* est de 26 minutes, deux fois plus longue que celle de l'ADH : Fenske *et al.* (2018) attribuent cette variation à la différence de taille des deux molécules, à savoir 39 acides aminés pour la copeptine contre 8 pour l'ADH, expliquant une vitesse de dégradation inférieure pour la copeptine. Par ailleurs, la copeptine est stable plusieurs jours *ex vivo* à température ambiante (Szinnai *et al.*, 2007).

□ La copeptine dans le diagnostic du diabète insipide

L'intérêt de la copeptine est de trancher entre DIC, néphrogénique et PP. La mesure de la concentration en copeptine peut se faire avec ou sans stimulation osmotique préalable.

Dans une étude réalisée sur 55 patients (Timper *et al.*, 2015), la concentration basale de copeptine chez des individus atteints de DIN s'étale de 21,4 pmol/L à 26,6 pmol/L pour les cas partiels, de 38,7 à 117,0 pmol/L pour les cas complets. Les auteurs proposent donc 21,4 pmol/L comme valeur seuil prédictive d'un DIN. La sensibilité et la spécificité de cette valeur seuil sont de 100% dans cette étude. Les concentrations basales de copeptine pour les DIC complets, partiels et PP sont respectivement : 0,7 – 3,4 pmol/L ; 0,9 – 5,1 pmol/L ; 0,9 – 13,5 pmol/L. La valeur seuil proposée pour le DIC est 2,9 pmol/L, la sensibilité et la spécificité sont respectivement de 82% et 78%.

Après stimulus osmotique (dans cette étude un protocole de restriction hydrique), la valeur seuil de 4,9 pmol/L permet de différencier le DIC (partiel et complet) d'une PP avec une sensibilité de 94% et une spécificité de 96%.

En reprenant les valeurs seuils précédemment citées, Refardt *et al.* (2019) proposent une démarche diagnostique reposant sur le dosage de la copeptine. Il convient dans un premier temps de doser la concentration basale en copeptine afin d'identifier ou d'exclure un DIN, puis réaliser le même dosage après stimulus hyperosmolaire. Ce protocole permet de différencier DIC, DIN et PP avec 96% de justesse, contre 80% lorsque l'ADH est dosée. En particulier, le dosage de la copeptine attribue le diagnostic de PP avec 100% de justesse contre 44% pour le dosage de l'ADH (Timper *et al.*, 2015).

Fenske *et al.*, (2018) étudient l'influence du stimulus osmotique, c'est-à-dire la restriction hydrique ou l'infusion saline hypertonique, sur la justesse du diagnostic. Il apparait que l'emploi de l'infusion saline hypertonique s'accompagne d'une justesse diagnostique supérieure à celle de la restriction hydrique, respectivement 96.5% et 76.6% de diagnostic correct ($P < 0,001$).

□ Autres applications de la copeptine

A la différence de son utilisation pour le diagnostic du DI, la valeur ajoutée du dosage de la copeptine lors de SIADH est faible : les concentrations en copeptine chez les patients atteints de SIADH se recoupent avec celles des autres causes d'hyponatrémies (Refardt *et al.*, 2019).

La copeptine est employée comme facteur pronostique lors d'insuffisance cardiaque (Balling et Gustafsson, 2014). En combinaison avec la troponine C, son dosage permet d'exclure un infarctus du myocarde lors d'admission aux urgences (Mueller *et al.*, 2018).

D. Traitement du diabète insipide en médecine humaine

a. Traitement du diabète insipide central

Comme en médecine vétérinaire, l'axe central de la prise en charge d'un DIC repose sur l'administration d'un analogue de l'ADH. Différentes formes galéniques sont accessibles mais la voie la plus souvent retenue est l'administration intranasale par pulvérisation. La dose est de 10 à 40 µg par jour. Lorsque la voie nasale n'est pas envisageable, par exemple lors d'affection nasopharyngée, l'administration peut se faire par collyre oculaire ou par injection sous-cutanée. En médecine humaine, l'administration orale est aussi peu prévisible d'un patient à l'autre. L'ajustement de la dose prescrite et du nombre d'administration doit se faire au cas par cas. L'effet secondaire majeur de la desmopressine est l'hyponatrémie, un tel épisode survient chez moins de 5% des patients (Oiso *et al.*, 2013).

Par ailleurs, des médicaments non hormonaux sont envisageables dans le traitement du DIC dont (Carmichael, 2021) :

- Les diurétiques, notamment les thiazidiques, qui permettent une réduction du volume urinaire de 25 à 50%.
- Certaines molécules stimulent la sécrétion d'ADH. La littérature mentionne le chlorpropamide, le clofibrate et la carbamazépine. Le recours à ces molécules permet de s'affranchir de la desmopressine dans certains cas de DIC partiel.
- Les inhibiteurs de la voie des prostaglandines, dont l'indométacine qui appartient à la famille des AINS.

Enfin, un régime pauvre en sel et protéines participe au contrôle de la PUPD.

b. Traitement du diabète insipide néphrogénique

Le traitement du DIN secondaire passe avant tout par la résolution de l'affection initiale.

La prise en charge du DIN primaire est avant tout alimentaire, le patient devant suivre un régime pauvre en protéines et en sel. En absence d'amélioration, un traitement médical à base de diurétiques thiazidiques à la dose 25 mg/kg une à deux fois par jour est mis en place. Le clinicien peut adjoindre à cela un AINS ou de l'amiloride. Le chlorpropamide, le clofibrate et la carbamazépine sont inefficaces lors de DIN (Carmichael, 2021; Hechanova, 2022).

Deuxième partie : étude rétrospective

1. Contexte de l'étude

Comme évoqué dans la partie précédente, le DI regroupe deux sous-types : le DIC et le DIN.

Le DIC est une affection peu fréquente voire rare en médecine vétérinaire. Peu d'études rétrospectives sont disponibles dans la littérature, à notre connaissance l'étude ayant inclus la plus grande cohorte fut menée à l'université de Californie sur 60 chiens (Nelson, 2014). Une unique étude rétrospective porte sur le DIC chez les chats, cinq individus étaient inclus dans l'étude (Aroch *et al.*, 2005). Le plus souvent, aucune cause n'est clairement identifiée et l'on parle de DIC primaire. Les causes de DIC secondaires les plus fréquemment identifiées sont traumatiques, chirurgicales, néoplasiques et congénitales (Nelson, 2014).

Le DIN primaire est une entité exceptionnelle en médecine vétérinaire et se limite à quelques descriptions isolées dans l'espèce canine (Nelson, 2014) et n'est pas rapporté dans l'espèce féline. La connaissance en médecine vétérinaire du DIN est donc limitée. Le DIN secondaire correspond à l'altération de l'action rénale de l'ADH par une affection concomitante. Les causes envisageables sont nombreuses : infections du tractus uro-génital, dysendocrinies, désordres électrolytiques, néoplasie, iatrogène (Shiel, 2017a).

Le diagnostic du DI demeure un enjeu bien que la démarche soit bien établie. Il repose historiquement sur le TRH.

L'objectif de cette étude est de confronter les cas de DI rencontrés au Centre Hospitalier Universitaire d'Alfort (CHUVA) entre 2003 et 2022 par rapport à la littérature en nous intéressant particulièrement aux signes cliniques, aux modalités diagnostiques et aux traitements mis en place. Les hypothèses sont qu'entre 2003 et 2023 :

- L'étiologie traumatique ou chirurgicale est peu fréquente au CHUVA
- Les présentations cliniques et paracliniques sont similaires à celles rapportées dans la littérature et décrites dans la partie précédente.
- Le recours au TRH afin de s'établir le diagnostic de DI est moins fréquent depuis les années 2010.

2. Matériel et méthode

A. Population d'étude et critères d'inclusion

Compte tenu de la grande diversité des cas de DIN secondaire, cette étude rétrospective porte uniquement les cas de DIC et de DIN primaire présentés en première ou seconde intention. Nous avons étudié séparément les cas de DI canins et félins vu au CHUVA entre le 1^{er} janvier 2003 et le 31 décembre 2022.

Les individus ont été sélectionnés à l'aide du logiciel informatique médical Clovis ®. Une recherche des termes « diabète insipide » a été faite dans les conclusions des compte-rendus de consultation. Les critères d'inclusion étaient :

- Les autres causes envisageables de PUPD devaient être exclues. Il s'agit des causes de diurèse osmotique, d'hypotonie médullaire ou de DIN secondaire. A cet égard, les examens complémentaires devaient inclure un examen biochimique sanguin, un ionogramme et une analyse d'urine. Pour les individus âgés (définition explicité au I.2.b.a) une attention particulière était portée à l'exclusion de l'hypercorticisme et de l'hyperthyroïdie, respectivement pour les chiens et les chats.
- Le diagnostic de DI devait être établi à la suite d'un test de restriction hydrique ou d'une épreuve thérapeutique.
- Un traitement devait être mis en place à la suite du diagnostic, et dans l'idéal une consultation de suivi devait être réalisée afin d'évaluer la réponse au traitement.

Les cas de DI diagnostiqués par un vétérinaire extérieur au CHUVA puis référés ont été inclus à condition que la démarche diagnostique remplisse les critères d'inclusions mentionnés précédemment. Ainsi, deux cas de DI diagnostiqués puis référés au CHUVA pour confirmation du diagnostic ont été inclus dans l'étude.

Les critères d'exclusion étaient :

- L'absence de suivi à la suite du diagnostic
- L'établissement d'un autre diagnostic au cours du suivi
- Le manque de données disponible lors de l'analyse du dossier.

B. Recueil des données

a. Données épidémiologiques et anamnestiques

Le sexe, le statut reproducteur (stérilisé ou non), l'âge, le poids, la race et la présence d'affection intercurrente connue au moment du diagnostic du diabète insipide ont été répertoriés. Les affections intercurrentes étaient classées selon la spécialité médicale correspondante : cardiologie, endocrinologie, gastro-entérologie, oncologie, ophtalmologie, orthopédie, neurologie, urologie.

Au cours de ce travail, nous référons à la consultation initiale comme étant la première consultation motivée par l'exploration de la PUPD.

Trois catégories d'âge ont été définies : les individus « jeunes » dont l'âge est inférieur à deux ans, les individus « adultes » âgés de deux à sept ans, et les individus « séniors » âgés de plus de sept ans.

La présence de PUPD et son intensité, la quantification de la quantité bue et sa durée d'évolution était répertoriés si l'information était disponible.

La présence d'éventuelles maladies concomitantes, de signes cliniques décrits par les propriétaires étaient rapportés.

b. Données cliniques

Les données cliniques répertoriées comprenaient la note d'état corporel, l'examen cardiorespiratoire, la palpation abdominale, la présence éventuelle de troubles digestifs dont vomissements et diarrhées, la température rectale et l'état d'hydratation. L'hyperthermie était définie comme une température corporelle mesurée supérieure à 39,5°C.

c. Données paracliniques : examen hémato-biochimique, analyse d'urine, test de confirmation du diabète insipide

Parmi les résultats des examens sanguins réalisés, seule une partie a été répertoriée dans l'étude. Les intervalles de référence indiqués dans l'étude sont ceux renseignés sur le logiciel Clovis®, ils sont spécifiques d'espèces.

L'analyse d'urine était réalisée sur prélèvement par cystocentèse. La densité urinaire était mesurée par réfractométrie. Une urine hyposthénurique était définie par une densité urinaire inférieure à 1,008, une urine isosthénurique était définie par une densité urinaire comprise entre 1,008 et 1,012, une urine hypersthénurique était définie par une densité urinaire supérieure à 1,012. Les résultats de l'examen cytologique du culot urinaire, de la bandelette urinaire et de l'examen bactériologique étaient récoltés lorsqu'ils étaient disponibles.

Les examens d'imagerie dont radiographie, échographie, tomodensitométrie et imagerie par résonance magnétique étaient répertoriés.

Le diagnostic du DIC reposait sur un TRH ou un test à l'épreuve thérapeutique. Concernant le TRH, les densités urinaires avant restriction, après restriction hydrique puis après privation hydrique et après stimulation à la desmopressine étaient répertoriées. Également, la durée de la privation hydrique était répertoriée si renseignée. Concernant le test à l'épreuve thérapeutique, les densités urinaires avant et après restriction hydrique relative, la réponse à la desmopressine ainsi que la forme galénique de la desmopressine étaient répertoriées.

d. Traitement, délai diagnostique et durée de suivi

La durée avant diagnostic a été définie comme la durée entre la consultation initiale et la consultation au cours de laquelle le diagnostic de DI a été établi. Concernant, le traitement, la forme galénique et la posologie étaient répertoriées.

La durée de suivi a été définie comme la durée entre la consultation ayant établi le diagnostic de DI et la dernière consultation du dossier Clovis ® de l'animal.

Un animal était « perdu de vue » quand la dernière consultation indiquée par Clovis ® ne mentionnait ni un décès ni une décision de fin de vie.

e. Statistiques

Nous avons décidé de décrire séparément les chiens et les chats recrutés. Compte tenu du faible effectif de ces deux cohortes et de l'hétérogénéité des cas recrutés, nous avons produit uniquement une étude descriptive. Les données quantitatives sont représentées par la médiane et les valeurs extrêmes.

3. Résultats

Vingt-sept animaux ont été initialement inclus dans l'étude. Six cas de forte suspicion de DIC ont été exclus de l'étude car ils ont été perdus de vue avant la réalisation d'un test de confirmation. Une suspicion de DIN primaire a été exclue pour le même motif. Un cas ne détaille ni le déroulement du TRH, ni la conclusion et ne permet donc pas d'être confiant quant au diagnostic de DI. Un cas de DI a été exclu en raison d'un diagnostic alternatif établi par la suite.

Finalement, 18 cas de DIC ont été inclus dans l'étude dont dix chiens et huit chats. Aucun cas de DIN primaire n'a été inclus dans l'étude

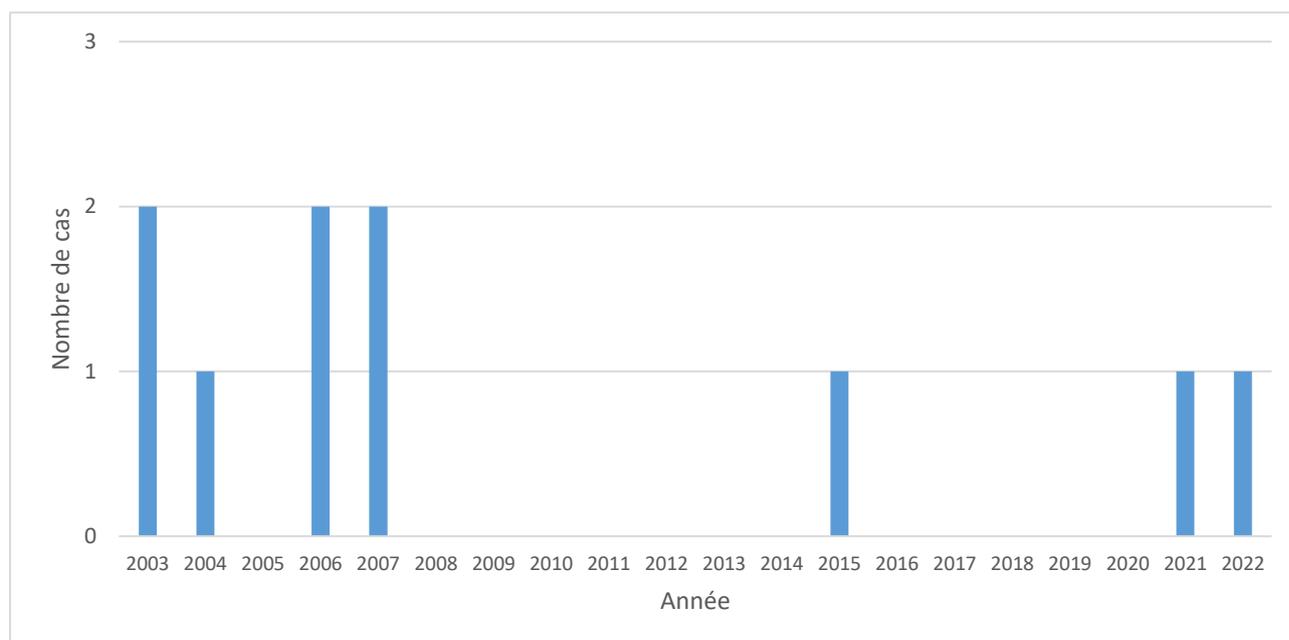
A. Cas de diabète insipide chez le chien

a. Epidémiologie

- *Prévalence*

Dix chiens répondaient aux critères d'inclusion de l'étude. La Figure 9 détaille le nombre de cas de DIC diagnostiqué chaque année au CHUVA.

Figure 9 : Effectifs des chiens diagnostiqués de diabète insipide central par année au CHUVA



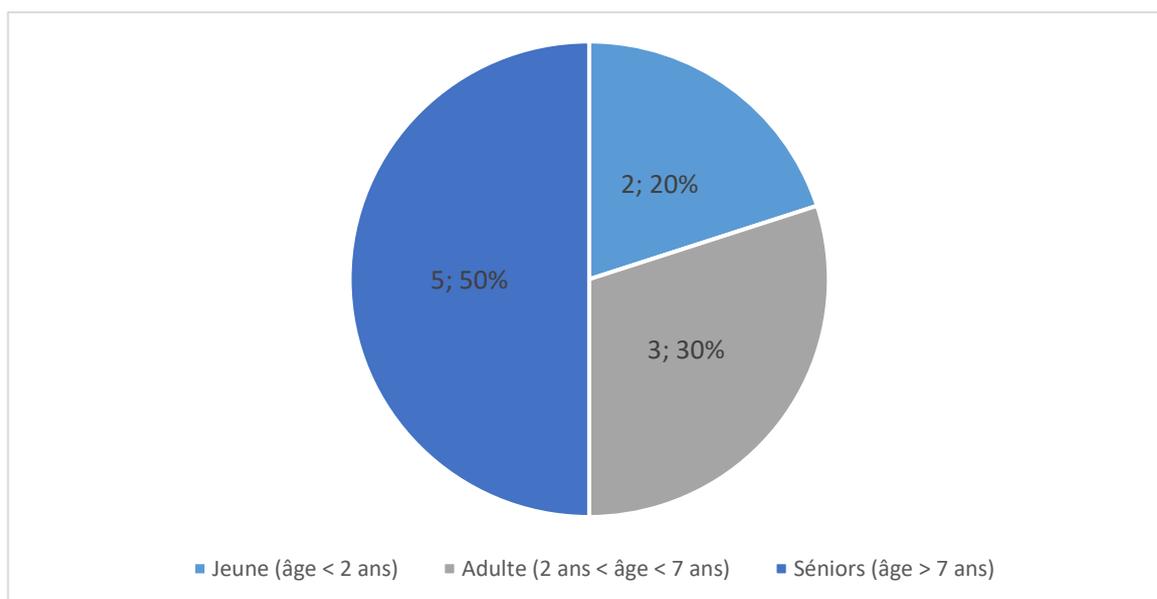
- *Sexe et statut reproducteur*

Six femelles et quatre mâles ont été inclus dans l'étude. Parmi les femelles, trois étaient stérilisées, une était entière. Le statut de stérilisation était non rapporté chez deux individus femelles. Parmi les mâles, un était stérilisé, deux étaient entiers. Le statut de stérilisation était inconnu pour un individu.

- *Âge*

L'âge médian des chiens était de 8 ans, avec des animaux âgés de 9 mois à 13 ans. La répartition des individus selon l'âge à la première consultation est représentée sur la Figure 10. On comptait cinq individus séniors, deux individus jeunes et trois individus adultes.

Figure 10 : Répartition des chiens de l'étude selon l'âge lors de la première consultation (nombre d'individus, %)

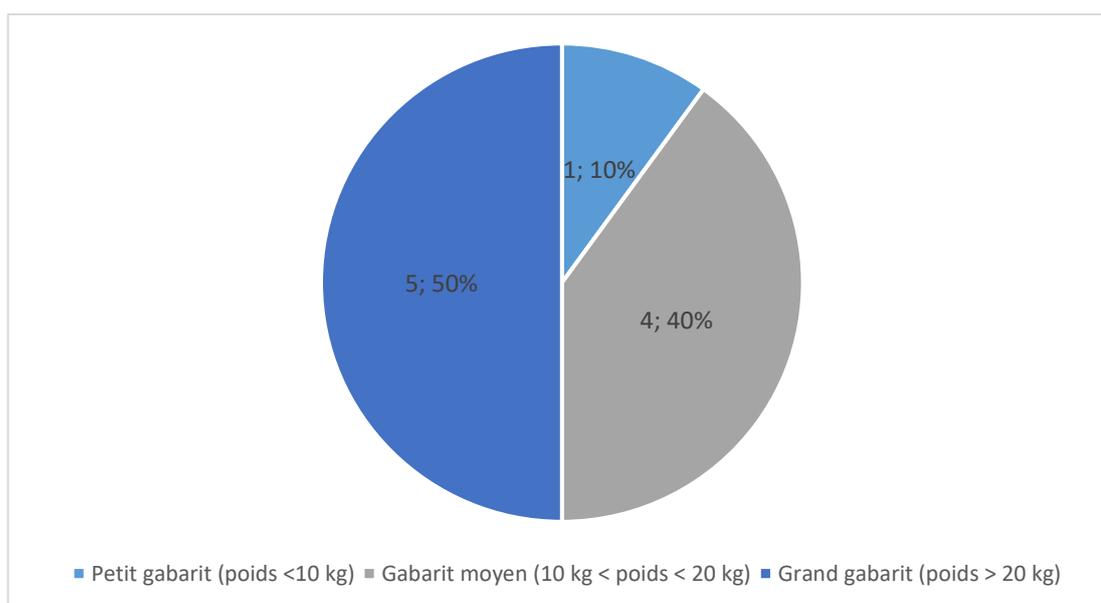


- *Race et gabarit*

La cohorte était composée d'un chien de race croisée, un Boxer, un Scottish Terrier, un Berger Allemand, un Berger de Beauce, un Labrador, un Berger des Pyrénées, un Braque de Weimar, un Epagneul Breton et un Setter Anglais.

Lors de la première consultation, le poids médian des chiens était de 20,5 kg avec des valeurs comprises entre 9 et 37 kg. La cohorte comportait un chien de moins de 10 kg, quatre chiens dont le poids était compris entre 10 et 20 kg, cinq chiens de plus de 20 kg. La Figure 11 décrit la répartition des chiens selon leur poids lors de la première consultation.

Figure 11 : Répartition des chiens de l'étude selon le poids lors de la première consultation (nombre d'individus, %)



b. Anamnèse et commémoratifs

- *Caractérisation de la PUPD*

Une PUPD marquée était rapportée chez l'intégralité des chiens de l'étude et constituait systématiquement le motif de consultation (n = 10).

Une quantification de l'abreuvement était disponible pour neuf individus. La quantité médiane bue quotidiennement rapportée au poids était 216 ml/kg/j, avec des valeurs comprises entre 120 ml/kg/j à 325 ml/kg/j, donc toutes compatibles avec une PUPD. L'accès à l'eau était restreint par le propriétaire chez trois individus, et notamment chez l'individu dont la prise de boisson s'élevait à 120 mL/kg/j. L'intensité de la polydipsie était donc sous-estimée chez ces trois chiens.

La PUPD était observée depuis une durée très variable d'une semaine à un an et six mois (médiane = 6 mois). Chez les individus jeunes (n = 2), la PUPD était observée depuis l'adoption.

- *Anamnèse*

Outre la PUPD, l'anamnèse faisait part d'autres anomalies chez neuf individus. Des vomissements étaient rapportés chez trois individus, en particulier à la suite d'abreuvements en grande quantité chez deux individus. Un changement de comportement récent était rapporté chez trois individus, les propriétaires décrivaient une baisse de l'activité (n = 2) ou un tempérament nouvellement anxieux (n = 1). Un amaigrissement était rapporté chez deux individus. Des épisodes de diarrhées étaient rapportés chez un chiot (n = 1). Enfin, des épisodes épileptiformes non caractérisés étaient observés lors de phase d'abreuvement en excès chez un individu.

- *Maladie intercurrente*

Une maladie concomitante était présente chez cinq individus lors du diagnostic. Le Tableau 1 détaille ces maladies concomitantes.

Tableau 1 : Maladies intercurrentes déjà diagnostiquées chez les chiens atteints de diabète insipide lors du diagnostic

<u>Spécialité médicale</u>	<u>Maladie intercurrente</u>	<u>Effectif</u>
Anomalie congénitale	Association d'une agénésie rénale, dents déciduales persistantes, dédoublement de la veine cave	10% (n = 1)
Cardiologie	Maladie valvulaire dégénérative	10% (n = 1)
	Souffle rapporté par le passé mais non exploré	10% (n = 1)
	Bruit de galop intermittent non exploré	10% (n = 1)
Endocrinologie	Hypercorticisme	10% (n = 1) *
Oncologie	Tumeur mammaire non caractérisé histologiquement	20% (n = 2)
Ophthalmologie	Cataracte unilatérale	10% (n = 1)
Orthopédie	Séquelle d'accident de voie publique	10% (n = 1)
	Arthrose	20% (n = 2)
Urologie	Incompétence sphinctérienne	10% (n = 1)

* Un chien était présenté en consultation pour réapparition d'une PUPD dans un contexte d'hypercorticisme pris en charge par l'administration de 250 mg de mitotane deux fois par semaine. Les résultats du test de stimulation à l'ACTH étaient alors en faveur d'un contrôle satisfaisant de l'hypercorticisme, ce qui a motivé la recherche d'une autre affection expliquant la PUPD.

c. Signes cliniques

L'examen clinique était sans anomalie clinique dans plus de la moitié des cas (n = 6, 60%). L'anomalie clinique la plus fréquemment relevée était une déshydratation (n = 3), le score de déshydratation était compris en 5% et 8%. Une restriction de l'accès à l'eau était rapportée chez deux chiens présentant une déshydratation clinique, dont le chien dont la déshydratation était estimée à 8%.

La note d'état corporel était inférieure à 5/9 chez 30% des chiens (n = 3), la note d'état corporel la plus faible était de 2/9. Une amyotrophie était également rapportée chez un de ces individus.

Deux chiens présentaient également une hyperthermie lors de la première consultation. De plus, de l'abattement était objectivé chez un chien hypertherme.

Le chien atteint d'hypercorticisme présentait par ailleurs une hépatomégalie attendue dans cette affection. Aucun signe cutané n'était rapporté.

d. Exploration et confirmation du diabète insipide

- *Bilan sanguin standard : numération formule et examen biochimique*

- Numération formule sanguine

Trois chiens de l'étude ont eu une numération formule sanguine (soit 30% des chiens). Aucun cas ne présentait une modification du nombre de globules rouges (nombre de globules rouges compris entre 5,2 et 7,9 millions de globules rouges par mm³ d'après les valeurs de référence du laboratoire). Un hématoците était calculé chez quatre individus soit (soit 40% des chiens). Les valeurs d'hématoците étaient toutes dans l'intervalle de référence (hématoците de référence compris entre 35 et 52% d'après les valeurs de référence du laboratoire), avec des valeurs comprises entre 47 et 51% (médiane = 48,5%). Notons que ces valeurs sont proches de la limite supérieure de l'intervalle de référence, à relier possiblement avec une hémococentration.

Un chien présentait une éosinophilie discrète (avec 1 900 polynucléaires éosinophiles par mm³) sans leucocytose associée.

- Examen biochimique standard

Le Tableau 2 détaille les valeurs minimales, médianes et maximales de chaque analyse effectuée lors de l'examen biochimique. Les intervalles de référence sont ceux actuellement employés par le laboratoire du BioPole.

Tableau 2 : Médiane et extremum des analyses biochimiques effectuées

Examen biochimique (effectif sur lequel a été dosé le paramètre, proportion associée)	Intervalle de référence	Unité	Valeur médiane mesurée [minimum – maximum]
Glycémie (n = 6, 60%)	0,8 – 1,2	g/L	1,02 [0,7 – 1,3]
Urémie (n = 9, 90%)	0,2 – 0,6	g/L	0,23 [0,15 – 0,41]
Créatininémie (n = 9, 90%)	4,1 – 12	mg/L	10 [6 – 16]
PAL (n = 9, 90%)	15 – 125	UI/L	65,5 [26 – 140]
ALAT (n = 9, 90%)	50 – 110	UI/L	153 [22 – 1900]
Protidémie totale (n = 7, 70%)	60 – 81	g/L	60 [59 – 66]
Albuminémie (n = 6, 60%)	32 – 47	g/L	30 [28 – 36]
Cholestérolémie (n = 2, 20%)	1 – 3	g/L	3,25 [2,8 – 3,7]

Dans ce paragraphe, nous reprenons les anomalies majeures du Tableau 2. La glycémie était discrètement augmentée chez un chien sans qu'elle puisse entraîner de glycosurie (glycémie = 1,3 g/L) à l'origine d'une PUPD. Deux chiens présentaient une activité des PAL significativement augmentée avec des valeurs mesurées à 600 et 1 900 UI/L, l'un d'entre eux étant le chien atteint d'hypercorticisme. L'urémie a été mesurée chez neuf des dix chiens de la cohorte, une hypourémie était présente chez 33% des chiens (n = 3), l'urémie de deux autres individus était proche de la limite inférieure de l'intervalle de référence (0,22 et 0,23 g/L). Parmi les chiens de l'étude, un seul présentait une hypercréatininémie (valeur = 16 mg/L).

La cholestérolémie a été mesurée chez deux chiens, un chien présentait une hypercholestérolémie discrète (3,7 g/L) sans que cela puisse être relié à une dysendocrinie, hypercorticisme ou hypothyroïdie. Nous n'avons cependant pas d'information quant à un potentiel prélèvement en période post-prandiale.

Dans le cadre de l'exploration d'une PUPD par insuffisance hépatique, la fonction hépatique a été explorée chez 4 chiens par le dosage des acides biliaires préprandiaux et post-prandiaux (n = 3) ou de l'ammoniémie (n = 1). Tous ces examens étaient dans les normes de l'espèce.

□ Ionogramme

Un dosage des électrolytes sanguins a été effectué chez l'intégralité des individus de la cohorte. Des données chiffrées étaient cependant disponibles seulement pour neuf d'entre eux. Le ionogramme du chien dont nous ne disposons pas des données chiffrées était décrit comme sans anomalie dans le compte-rendu. Le Tableau 3 détaille les valeurs minimales, médianes et maximales de chaque analyse effectuée lors du ionogramme. Les intervalles de référence sont ceux employés actuellement par le laboratoire du BioPole.

Tableau 3 : Médiane et extremum des concentrations en ions

Electrolyte analysé (effectif sur lequel a été dosé le paramètre, proportion associée)	Intervalle de référence	Unité	Valeur médiane mesurée [minimum – maximum]
Natrémie (n = 8)	140 – 155	mmol/L	151 [146 – 179]
Kaliémie (n = 8)	3,6 – 5,8	mmol/L	4,4 [3,2 – 5,2]
Chlorémie (n = 5)	93 – 113	mmol/L	126 [110 – 138]
Magnésémie (n = 3)	0,26 – 0,41	mmol/L	0,38 [0,37 – 0,47]
Calcémie ionisée (n = 5)	1,12 – 1,42	mmol/L	1,24 [1,16 – 1,32]

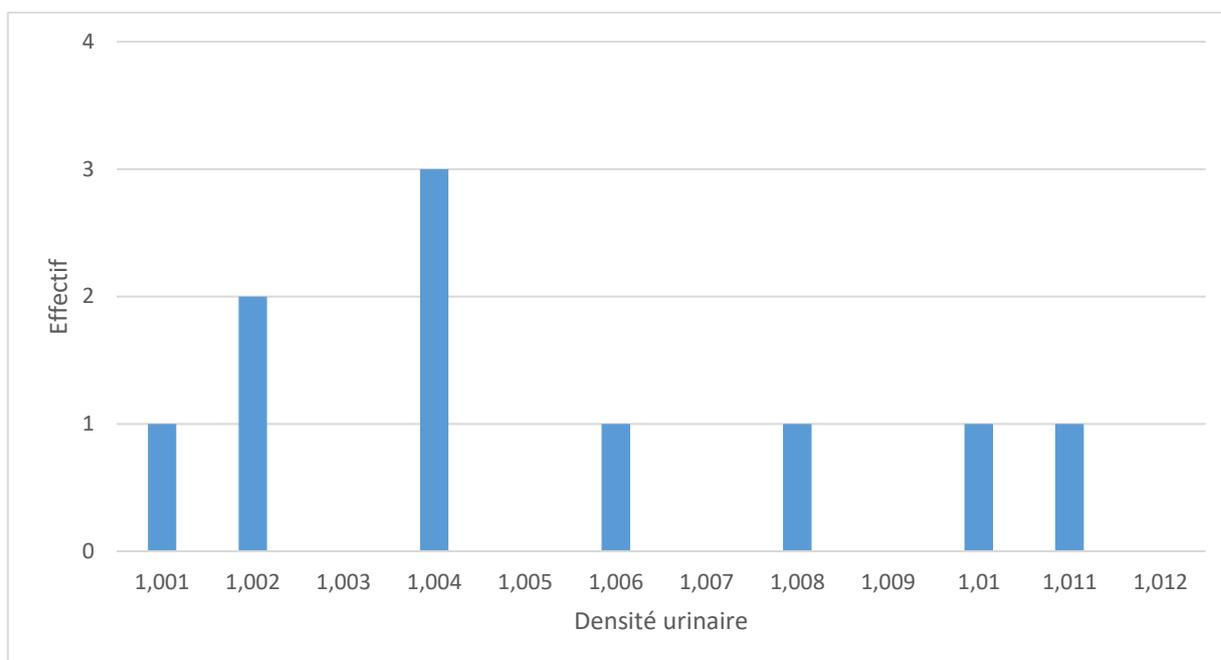
Une hypernatrémie était présente chez 33% des individus (n = 3), les natrémies correspondantes étaient 160 mmol/L, 161 mmol/L et 179 mmol/L. Le chien dont la natrémie était de 179 mmol/L présentait une déshydratation à l'examen clinique estimée à 8%. Un chien, soit 11% de l'échantillon, était discrètement hypokaliémique. 80% des chiens chez qui la chlorémie était mesurée présentaient une hyperchlorémie (n = 4) : les valeurs de chlorémie étaient 119, 126, 135 et 138 mmol/L. Les deux chiens dont l'hyperchlorémie était la plus sévère présentaient une déshydratation

à l'examen clinique. La magnésémie a été mesurée chez trois individus, un chien était hypermagnésémique.

- *Analyse d'urine*

Une analyse d'urine a été effectuée sur les 10 chiens de l'étude, la Figure 12 représente la répartition des chiens de l'étude selon leur densité urinaire.

Figure 12 : Répartition des effectifs de l'étude selon la densité urinaire à l'admission



Les densités urinaires étaient comprises entre 1,001 et 1,011, avec une densité urinaire médiane de 1,004. 80% des chiens possédaient des urines hyposthénuriques. Deux urines étaient isosthénuriques, les chiens correspondants étaient cliniquement déshydratés.

Une bandelette urinaire était réalisée chez 60% des chiens de l'étude (n = 6). Cinq des bandelettes urinaires étaient sans anomalie. Une bandelette urinaire avait une plage peroxydase faiblement positive, l'hématurie fut attribuée au prélèvement de l'urine par cystocentèse.

La réalisation d'une culture bactérienne était clairement spécifiée chez 40% des individus (n = 4), chez ces chiens, toutes les cultures bactériennes étaient négatives.

Le pH urinaire médian était de 7,5 (minimum = 5 ; maximum = 8).

- *Examens additionnels*

Une échographie abdominale a été réalisée chez 50% des chiens de l'étude (n = 5). Un examen échographique avait mis en évidence des anomalies attendues lors d'hypercorticisme, dont une hépatomégalie et une adrénomégalie bilatérale. Le reste des examens échographiques était sans anomalie.

Un test afin d'explorer l'hypothèse d'hypercorticisme a été réalisé chez 100% des chiens séniors (n = 6). Les tests réalisés ont permis d'exclure un hypercorticisme chez ces six chiens. Les tests réalisés étaient un rapport cortisol-créatinine urinaire (n = 3), un test de stimulation de la cortisolémie par l'ACTH (n = 2) ou un test de freinage à dose faible (n = 3). Lors du suivi du chien

atteint d'hypercorticisme, plusieurs tests de stimulation à l'ACTH ont été réalisés lors des explorations, tous sont revenus en faveur d'un hypercorticisme bien contrôlé et n'expliquant donc pas la persistance de la PUPD.

Également un test de stimulation à l'ACTH a été réalisé chez un jeune chien qui présentait des troubles digestifs. Les résultats ont permis d'exclure un hypocorticisme dans ce cas.

- *Confirmation du diabète insipide*

Après réalisation des examens complémentaires détaillés précédemment, des tests d'exploration du DI ont été réalisés chez les 10 chiens de l'étude, les résultats étaient en faveur d'un DIC chez les 10 chiens. Le test de restriction a été réalisé chez quatre chiens, un test à l'épreuve thérapeutique a été réalisé chez six chiens.

- Test de restriction hydrique

Le Tableau 4 détaille le déroulement des quatre tests de restriction hydrique effectués sur les chiens. Tous les TRH réalisés sur des chiens datent d'avant 2010.

Une phase de restriction hydrique relative a été réalisée lors de 75% des TRH (n = 3). A la suite de cette phase, 100% des chiens (n = 3) ont vu leur densité urinaire augmenter à l'issue de cette phase.

Les trois chiens dont nous disposons de données de restriction hydrique ont présenté une augmentation de la densité urinaire entre le début et la fin de la privation hydrique. La densité urinaire médiane initiale était de 1,008 (minimum = 1,008 ; maximum = 1,008). La densité urinaire médiane après privation hydrique était de 1,013 (minimum = 1,012 ; maximum = 1,018). La durée de la phase de privation hydrique était comprise entre 6 heures et 24 heures.

Après administration de la desmopressine, une augmentation cliniquement significative de la densité urinaire a été constatée chez l'intégralité des chiens. La densité urinaire médiane après stimulation à la desmopressine était de 1,028 (minimum = 1,026 ; maximum = 1,030). La durée entre l'administration de la desmopressine et l'augmentation de la densité urinaire était précisée chez trois chiens, la durée médiane était d'une heure (minimum = 30 minutes ; maximum = 2 heures). La forme galénique de la desmopressine administrée n'était pas précisée.

Compte tenu de la densité urinaire supérieure à 1,006 et de la capacité résiduelle à concentrer les urines face à une déshydratation, un diagnostic de DIC partiel a été établi pour trois des quatre chiens. Nous ne disposons pas de donnée chiffrée pour le TRH réalisé en 2003, cependant il est mentionné que la concentration urinaire était inchangée après privation hydrique, d'une durée inconnue par ailleurs. L'augmentation nette de la densité après administration de la desmopressine chez ce chien est évocatrice un DIC complet bien que la densité urinaire à l'admission soit en faveur d'un DIC partiel.

Chez un chien, deux épisodes paroxystiques s'exprimant par des convulsions, de l'ataxie et un déficit proprioceptif ont été observés à la suite de la réintroduction de l'eau après le TRH. Ils n'ont pas été rattachés à un effet indésirable du THR.

Tableau 4 : Déroulé des tests de restriction hydrique

Signalement	Année	Consultation initiale	Phase de restriction hydrique relative	Phase de privation hydrique			Phase de stimulation à la desmopressine	Diagnostic
				Début de la privation	Fin de la privation	Durée de la privation hydrique		
Chien Femelle stérilisée 3 ans Croisé	2003	DU = 1,011	Absence	DU = 1,004	Absence de concentration urinaire (DU exacte non mentionnée)	Absence d'information	DU = 1,030	DI central
Chien Femelle stérilisée 8 ans Berger des Pyrénées	2004	DU = 1,002	Diminution de 50% de la prise de boisson en 15 jours.	DU = 1,008	DU = 1,012	6 heures	DU = 1,030	DI central partiel
Chien Femelle entière 13 ans Berger Allemand	2006	DU = 1,004	Diminution de 30% de la prise de boisson en 3 jours.	DU = 1,008	DU = 1,020	24 heures	DU = 1,026	DI central partiel
Chien Mâle entier 13 ans Setter Anglais	2007	DU = 1,004	Diminution de 30% la prise de boisson en 2 jours	DU = 1,008	DU = 1,013	7 heures	DU = 1,026	DI central partiel

□ Test à l'épreuve thérapeutique

Le Tableau 5 détaille le déroulement des six tests à l'épreuve thérapeutique effectués sur les chiens.

Tableau 5 : Déroulement des tests à l'épreuve thérapeutique

Signalement	Année	Début de la privation hydrique	Phase de restriction hydrique relative	Phase de stimulation à la desmopressine	Forme galénique de la desmopressine administrée	Interprétation
Chien Mâle 5 ans Épagneul	2003	DU = 1,002	Réalisée sur 48 heures Quantité d'eau disponible non précisée	Nette diminution de l'abreuvement DU = 1,024	Intra-oculaire Deux gouttes deux fois par jour	DI central
Chien Femelle 9 ans Scottish Terrier	2006	DU = 1,006	Réalisée sur 24 heures Diminution de 50% de la quantité d'eau	Nette diminution de l'abreuvement, estimé à 40 mL/kg/j DU = 1,030	Per-os Comprimé 0,1 mg trois fois par jour	DI central
Chien Mâle entier 7 ans Boxer	2007	DU = 1,001	Réalisée sur 48 heures Diminution de 50% de la quantité d'eau	Nette diminution de l'abreuvement DU non précisée	Intra-oculaire Posologie non précisée	DI central
Chien Femelle stérilisée 11 ans Berger de Beauce	2015	DU = 1,008	Réalisé sur une semaine Diminution de 30% de la quantité d'eau	Nette diminution de l'abreuvement, estimé à entre 40 et 60 mL/kg/j DU = 1,025	Intra-oculaire Deux gouttes deux fois par jour	DI central
Chien Mâle castré 1 ans Labrador	2021	DU = 1,008	Non précisé	Nette diminution de l'abreuvement, estimé entre 60 et 80 mL/kg/j DU = 1,020	Per-os Comprimé 0,1 mg deux fois par jour	DI central
Chien Femelle stérilisée 10 mois Braque de Weimar	2022	DU = 1,010	Restriction réalisée spontanément par le propriétaire	Nette diminution de l'abreuvement DU = 1,022	Per-os Comprimé 0,1 mg deux fois par jour	DI central

La densité urinaire avant la mise en place du test à l'épreuve thérapeutique était comprise entre 1,001 et 1,010 (densité urinaire médiane = 1,007).

Des précisions quant à la phase de restriction hydrique précédant l'administration de desmopressine étaient présentes dans 83% des cas (n = 5). Parmi ces cas, un propriétaire restreignait déjà l'accès à l'eau, de telle sorte que l'administration de desmopressine a été réalisée directement. La durée médiane de la restriction hydrique était de 48 heures, avec des durées comprises entre 24 heures et une semaine. La diminution de la quantité bue était quantifiée dans 3 cas avec des valeurs comprises entre 30 et 50% de la quantité bue initialement.

La forme galénique de la desmopressine était précisée lors de l'intégralité des tests : la voie topique oculaire a été choisie 3 fois (50%) et également 3 fois pour la voie per-os. Pour la forme topique, la posologie était précisée dans deux cas et était de deux gouttes deux fois par jour. Cette posologie a été utilisée quel que soit le gabarit du chien. La posologie choisie pour la voie orale était soit deux ou trois administrations d'un comprimé de 0,1 mg de desmopressine. L'administration biquotidienne était employée chez des chiens de gabarit moyen, tandis que l'administration triquotidienne était utilisée chez un chien de grand gabarit.

Après administration de la desmopressine, une diminution significative de la prise de boisson était rapportée par l'intégralité des propriétaires. La densité urinaire après stimulation à la desmopressine était précisée dans 83% (n = 5) des tests. Parmi ces chiens, une augmentation de la densité urinaire était constatée chez l'intégralité des chiens. La densité urinaire était comprise entre 1,020 et 1,030, la densité urinaire médiane était de 1,025.

Aucun événement indésirable n'a été rapporté à la suite des tests à l'épreuve thérapeutique.

- *Diagnostic étiologique*

Après le diagnostic, il est nécessaire d'établir la cause du DIC puisqu'elle conditionne le pronostic (Harb *et al.*, 1996).

Seul le TRH permet de préciser la notion de DIC partiel ou complet (Nelson, 2014). De fait à la suite des 4 TRH réalisés, 75% des chiens atteints de DIC ont été diagnostiqués de DIC partiel (n = 3).

Aucune des anamnèses des 10 chiens diagnostiqués de DIC ne fait part d'antécédents traumatiques, ou chirurgicale. Par conséquent, l'étiologie traumatique n'a pas été considéré comme possible pour les 10 chiens.

Par ailleurs, la réalisation d'un examen d'imagerie avancé, tomодensitométrie ou par résonance nucléaire, est nécessaire afin d'explorer une éventuelle affection intracrânienne expliquant le DIC. Chez six chiens de la cohorte (60 %), un examen d'imagerie avancée a été réalisée. Par conséquent, 40 % des DIC de cette étude étaient d'origine indéterminée (n = 4).

Un examen IRM a été entrepris sur trois chiens de la cohorte. Aucune anomalie n'a été mis en évidence. Par ailleurs, un signal hyperintense en séquence T1 dans la neurohypophyse est mentionné chez deux chiens. Ce signal est compatible avec la présence de vésicules d'ADH et est une découverte surprenante chez des chiens atteints de DIC (Teshima *et al.*, 2008; Nelson, 2014). Des ponctions de liquide cébrospinal avaient été effectués en parallèle de l'examen IRM. Seul un examen du liquide cébrospinal était anormal et révélait une pléiocytose (65 cellules nucléées par μ L) à dominante neutrophilique et monocyttaire. Chez ce chien, la protéinorachie était dans les

normes de l'espèce, bien que proche de la limite supérieure de l'intervalle de référence : 0,27 g/L contre une norme haute à 0,3 g/L pour une ponction par voie haute (Dewey, 2016). Un diagnostic d'encéphalite granulomateuse a été établi chez ce chien.

Un examen tomodensitométrique a été réalisé chez trois chiens de la cohorte. Un n'a pas mis en évidence d'anomalie. Les deux autres scanners ont mis en évidence un micro-adénome hypophysaire de taille comprise entre 4 et 6 mm. Un des adénomes avait déjà été mis en évidence lors du diagnostic de l'hypercorticisme, sa taille était stable par rapport au premier examen tomodensitométrique. Nous pouvons donc nous interroger si le DIC est lié dans ce cas à l'action mécanique de la tumeur.

Le Tableau 6 résume les explorations étiologiques entreprises sur la cohorte et l'étiologie supposée du DIC.

Pour conclure, 40 % des DIC de l'étude étaient d'origine non déterminée (n = 4), 30 % étaient supposés primaire (n = 3), 10% secondaire à un adénome hypophysaire (n = 1), 10% secondaire à un hypercorticisme ou un adénome hypophysaire (n = 1) et 10% secondaire à une encéphalite granulomateuse (n = 1).

Tableau 6 : Etiologie présomptive des cas de DIC canins

Signalement	Durée d'évolution des symptômes	Diagnostic	Examen d'imagerie réalisé	Résultat	Etiologie suspectée
Femelle stérilisée, 3 ans, croisé	1 an	DI central complet	Tomodensitométrie	Absence d'anomalie	DI central primaire
Mâle, 5 ans, Epagneul	6 mois	DI central partiel ou complet	Aucun	/	DI central d'origine indéterminée
Femelle, 9 ans, Scottish Terrier Hypercorticisme préexistant	Non précisé	DI central partiel	Tomodensitométrie	Micro-adénome hypophysaire (4 mm), stable depuis le diagnostic d'hypercorticisme	DI central secondaire à un hypercorticisme ou à un adénome hypophysaire
Femelle, 8 ans, Berger des Pyrénées	1 an et 6 mois	DI central partiel ou complet	IRM	IRM sans anomalie	DI central secondaire à une encéphalite granulomateuse
Femelle entière, 13 ans, Berger Allemand	4 mois	DI central partiel	Aucun	/	DI central d'origine indéterminée
Mâle entier, 7 ans, Boxer	1 mois	DI central partiel ou complet	Tomodensitométrie	Micro-adénome hypophysaire (6 mm)	DI central secondaire à un adénome hypophysaire
Mâle entier, 13 ans, Setter Anglais	1 an	DI central partiel	Aucun	/	DI central d'origine indéterminée
Femelle stérilisée, 11 ans, Berger de Beauce	1 semaine	DI central partiel ou complet	Aucun	/	DI central d'origine indéterminée
Mâle castré, 1 an, Labrador	1 an	DI central partiel ou complet	IRM	IRM et LCS sans anomalie	DI central primaire
Femelle stérilisée, 9 mois, Braque de Weimar	6 mois	DI central partiel ou complet	IRM	IRM et LCS sans anomalie	DI central primaire

- *Durée d'évolution des signes cliniques avant le diagnostic*

La durée d'évolution des signes cliniques avant le diagnostic était comprise entre une semaine et un an, avec une durée médiane d'un mois.

e. Traitement et suivi

- *Traitement initial*

Un traitement à base de desmopressine a été mis en place dans la totalité de cas recrutés après le diagnostic de DIC. La forme galénique était renseignée dans 100% des cas, la posologie était renseignée pour neuf chiens (90 %).

La voie topique oculaire a été choisie dans 50% des cas (n = 5), les posologies employées étaient une goutte deux fois par jour (n = 2), une goutte trois fois par jour (n = 1), trois gouttes deux fois par jour (n = 2). La posologie employée pour les chiens de petit gabarit était d'une goutte deux fois par jour (n = 1). La posologie employée pour les chiens de moyen gabarit était d'une goutte deux fois par jour (n = 1) à trois fois par jour (n = 1). L'administration de trois gouttes deux fois par jour était employée pour un chien de grand gabarit.

La voie intranasale a été employée pour un chien de grand gabarit à la posologie de quatre doses une fois par jour.

La voie orale a été employée chez 40% des individus (n = 4). La posologie pour les chiens de moyen gabarit était une administration deux fois par jour d'un comprimé de 0,1 mg (n = 2). La posologie pour les chiens de grand gabarit était une administration trois fois par jour d'un comprimé de 0,1 mg (n = 2).

- *Adaptation du traitement*

Un chien a été perdu de vue dès l'instauration du traitement. Des consultations de suivi sont disponibles pour 9 chiens.

Lors du premier contrôle après mise en place du traitement, un contrôle satisfaisant du DI était observé chez quatre chiens, c'est-à-dire que les propriétaires décrivaient une résolution ou une nette amélioration de la PUPD. Il s'agissait de chiens traités par voie orale (n = 2) ou oculaire (n = 2). Une diminution de la dose administrée, a été proposée chez trois de ces chiens afin de trouver la dose efficace.

Lors du premier contrôle, la réponse au traitement était jugée insuffisante chez les cinq autres chiens. Deux d'entre eux recevaient initialement de la desmopressine par voie intraoculaire, deux par voie orale et un par voie intranasale. Un changement de forme galénique était alors proposé aux chiens ne recevant pas le traitement par voie orale. La voie intraoculaire a été choisie pour le chien recevant initialement la desmopressine par voie intranasale. Lors d'échec de la voie intraoculaire, un changement pour une administration orale a été systématiquement décidée (n = 2). Pour les deux chiens initialement mal contrôlés par une administration orale, une augmentation de la dose administrée était réalisée. Après un ou plusieurs ajustements du traitement, une amélioration notable a été observée chez quatre des cinq chiens. L'absence de réponse au traitement a motivé l'euthanasie dans un cas.

- *Durée de suivi*

Nous ne disposons pas d'informations quant au suivi de 1 individu. Au 02/06/2023, deux chiens étaient encore en vie respectivement 13 mois et 26 mois après diagnostic.

Les sept autres chiens étaient soit morts soit perdus de vue. Parmi eux, un chien a été euthanasié pour contrôle insatisfaisant du DI un mois après le diagnostic et un chien a été euthanasié pour une affection autre que le DI 18 mois après le diagnostic. La date de la dernière consultation a été relevée pour ces sept chiens. La durée de suivi pour ces 7 chiens était comprise entre 5 mois et 18 mois, la durée médiane de suivi était de 7 mois.

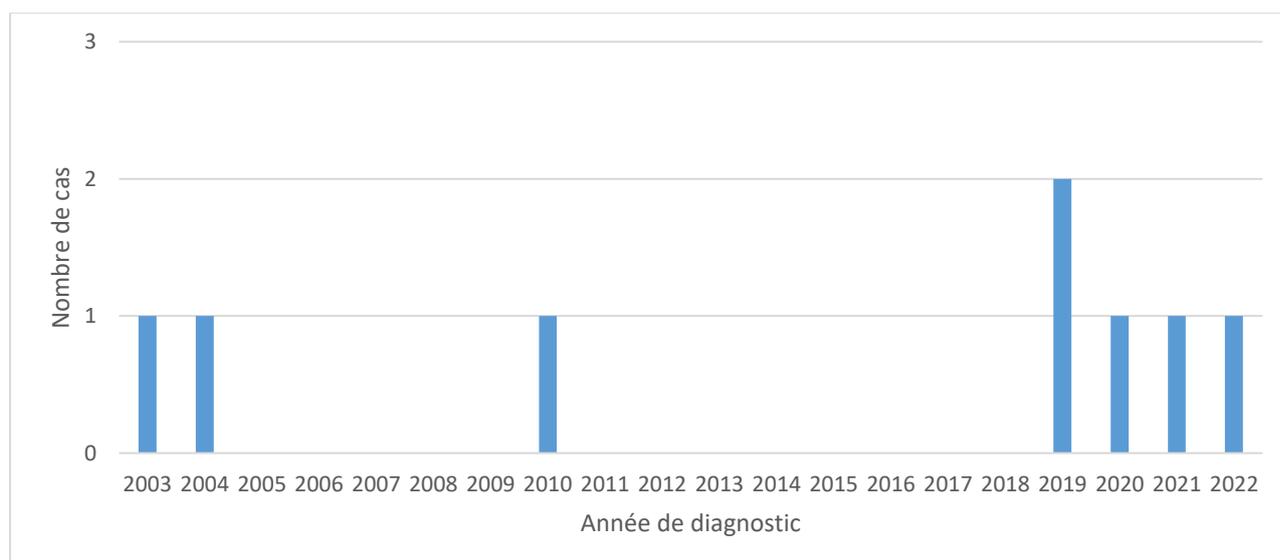
B. Cas de diabète insipide chez le chat

a. Epidémiologie

- *Prévalence*

Huit chats répondaient aux critères d'inclusion de l'étude. La figure 13 détaille le nombre de cas de DIC diagnostiqué chaque année au CHUVA.

Figure 13 : Effectif des chats diagnostiqués de diabète insipide central par année au CHUVA



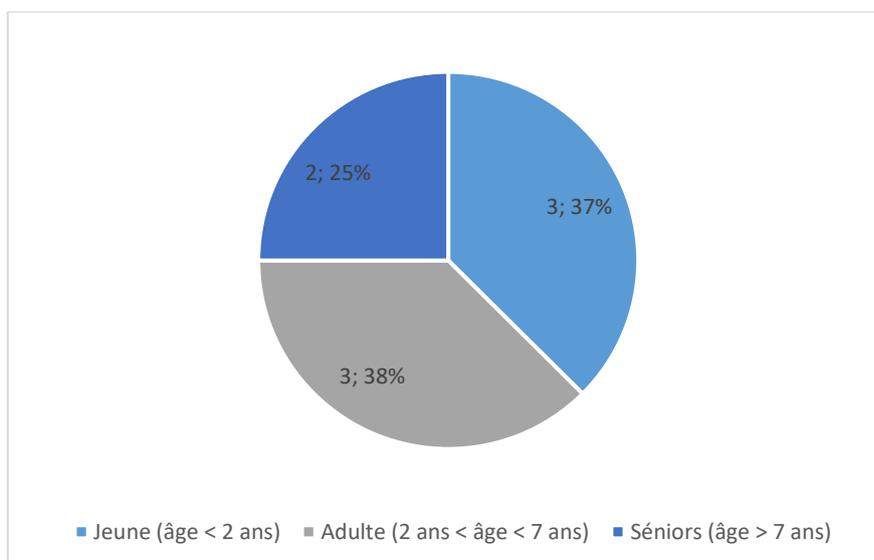
- *Sexe et statut reproducteur*

Quatre chats femelles dont une entière et trois stérilisées, ainsi que quatre males, tous castrés, ont été inclus dans l'étude.

- *Age*

L'âge médian des chats était de trois ans et six mois, avec des animaux âgés de 3 mois à 11 ans. La répartition des individus selon l'âge à la première consultation est représentée sur la figure 14.

Figure 14 : Répartition des chats selon l'âge lors de la première consultation



- *Race*

La cohorte était composée de six chats de race européenne, un chat angora et un chat sacré de Birmanie.

Lors de la première consultation, le poids des chats de l'étude était compris entre 1 et 7 kg, le poids médian était de 4,35 kg.

b. Anamnèse et commémoratifs

- *Caractérisation de la PUPD*

Une PUPD marquée était rapportée chez l'intégralité des chats de l'étude et constituait le motif de consultation initiale dans 87% des consultations initiales (n = 7). Dans un cas, les propriétaires rapportaient une polyurie intense évoluant depuis une semaine, sans polydipsie associée.

Une quantification de l'abreuvement était disponible pour six individus. La quantité médiane bue était de 269 ml/kg/j, avec des valeurs comprises entre 200 et 415 mg/kg/j, donc toutes compatibles avec une PUPD marquée. Aucune restriction de l'accès à l'eau par le propriétaire n'était rapportée dans les anamnèses.

La PUPD était observée depuis une durée très variable comprise entre 1 semaine et 5 ans. La PUPD était observée depuis l'adoption chez quatre chats, dont 66% des jeunes individus (n = 2).

- *Anamnèse*

Hormis la PUPD, l'anamnèse faisait part d'anomalies chez trois individus (37,5%). Un retard de croissance était identifié chez un chat de 1 ans. Les propriétaires rapportaient de la malpropreté urinaire chez deux autres individus (25%). L'un d'entre eux, âgé de 3 mois, présentait également des stéréotypies.

- *Maladie intercurrente*

Un souffle systolique apexien gauche était rapporté chez un chat, mais ne fut pas exploré par échocardiographie. Aucune autre maladie intercurrente n'était identifiée parmi les individus de la cohorte.

c. Signes cliniques

L'examen clinique était sans anomalie significative chez 75% des individus. L'anomalie clinique la plus fréquemment relevée était une déshydratation (n = 2), le score de déshydratation était rapporté chez un individu et estimé à 6%. Un chat fut présenté au service des Urgences du CHUVA pour état de choc décompensé, stupeur, hypothermie et amaurose évoluant depuis un épisode convulsif ayant survenu quelques heures avant la consultation initiale.

La note d'état corporel était inférieure à 5/9 chez 25% des chats (n = 2), la note d'état corporel la plus faible était de 4/9.

d. Exploration et confirmation du diabète insipide

- *Bilan sanguin standard : numération formule, bilan biochimique et ionogramme*

- Numération formule sanguine

Une numération formule avait été réalisée chez deux chats (25%). L'intégralité des paramètres étaient dans les normes de l'espèce. En particulier, l'hématocrite médian était 39 % (minimum = 35 % ; maximum = 43 %), pour des valeurs de référence comprise entre 29 et 48 %.

- Bilan biochimique

Le Tableau 7 détaille les valeurs minimales, médianes et maximales de chaque analyse effectuée lors de l'examen biochimique. Les intervalles de référence sont ceux actuellement employés par le laboratoire du BioPole.

Tableau 7 : Médiane et extremum des analyses biochimiques effectuées

Examen biochimique (effectif sur lequel a été dosé le paramètre, proportion associée)	Intervalle de référence	Unité	Valeur médiane mesurée [minimum – maximum]
Glycémie (n = 7 ; 88%)	0,7 – 2,6	g/L	1,12 [0,2 – 1,35]
Urémie (n = 7, 88%)	0,4 – 0,8	g/L	0,57 [0,44 – 1,15]
Créatininémie (n = 7, 88%)	5,2 – 17,8	mg/L	15 [5 – 23]
PAL (n = 3, 38%)	22 – 187	UI/L	100 [82 – 113]
ALAT (n = 4, 50%)	15 -123	UI/L	56 [41 – 85]
Protidémie totale (n = 4, 50%)	64 – 96	g/L	83,5 [64 – 105]
Albuminémie (n = 4, 40%)	25 – 35	g/L	30 [22 – 34]

Dans ce paragraphe nous reprenons les anomalies majeures du tableau 7. Une hypoglycémie marquée, attribuable à l'état de choc et aux convulsions rapportées, était notée chez le chat présenté aux urgences du CHUVA pour état comateux. Après la prise en charge initiale, la glycémie de cet individu était comprise dans les normes de l'espèce.

Une hyperurémie était présente chez deux individus. Dans un cas, il s'agissait d'une augmentation isolée témoignant d'une azotémie pré-rénale, bien qu'aucune déshydratation ne soit rapportée à l'examen clinique. Un souffle systolique avait été mis en évidence chez ce chat, nous pouvons supposer qu'une cardiopathie ait pu participer à l'azotémie pré-rénale. Dans le deuxième cas, une hypercréatinémie était associée, témoignant d'une azotémie à composante a minima rénale. L'hypothèse d'une maladie rénale chronique comme seule cause de PUPD chez ce chat n'a pas été retenue compte tenu du reste des examens complémentaires.

Une hyperprotidémie était présente chez un individu (valeur = 105 g/L) mais n'a pas été explorée.

Le reste des paramètres du bilan biochimique était ne montrait pas d'anomalie significative.

□ Ionogramme

Un dosage des électrolytes sanguins a été effectué chez l'intégralité des individus de la cohorte. Le Tableau 8 détaille les valeurs minimales, médianes et maximales de chaque analyse effectuée lors du ionogramme. Les intervalles de référence sont ceux employés actuellement par le laboratoire du BioPole.

Tableau 8 : Médiane et extremum des concentrations des électrolytes mesurés

Electrolyte analysé (effectif sur lequel a été dosé le paramètre, proportion associée)	Intervalle de référence	Unité	Valeur médiane mesurée [minimum – maximum]
Natrémie (n = 7)	150 – 165	mmol/L	157 [151 – 169]
Kaliémie (n = 7)	3,6 – 5,8	mmol/L	4,7 [2,7 – 5,5]
Chlorémie (n = 2)	115 – 140	mmol/L	127 [126 – 128]
Magnésémie (n = 6)	0,26 – 0,41	mmol/L	0,51 [0,42 – 0,65]
Calcémie ionisée (n = 5)	1,1 – 1,4	mmol/L	1,32 [1,02 – 1,4]

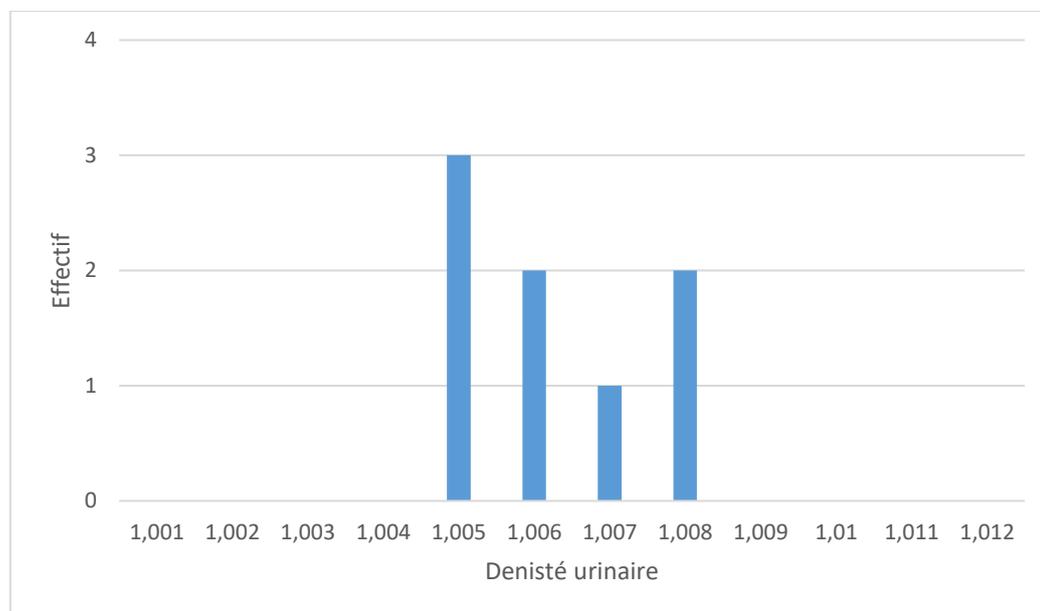
Une discrète hypernatrémie (169 mmol/L) était présente chez un unique individu (13%), dont l'examen clinique mettait en évidence une déshydratation. Une hypokaliémie était présente chez le chat présenté en état de choc, la kaliémie chez le reste de la cohorte était dans les normes de l'espèce. La calcémie ionisée et la chlorémie étaient non remarquables. La magnésémie était

mesurée chez six individus (75%), une hypermagnésémie était présente chez tous les individus lors de la consultation initiale.

- *Analyse d'urine*

Une analyse d'urine était disponible chez les huit chats de l'étude. La Figure 15 détaille les densités urinaires lors de la première consultation.

Figure 15 : Répartition des individus selon leur densité urinaire à l'admission



La densité urinaire médiane était de 1,006. La densité urinaire était comprise entre 1,005 et 1,008. Les urines étaient hyposthénuriques chez 75% des individus. La présence d'urine isosthénurique n'était pas corrélée avec la présence d'une déshydratation clinique.

Une bandelette urinaire avait été réalisée également chez l'intégralité des chats de l'étude. Six des bandelettes urinaires étaient sans anomalie. La plage protéine était positive sur deux urines prélevées par cystocentèse, respectivement 1+ et 3+. Un rapport protéine-créatinine urinaire fut réalisé sur les urines dont la plage protéine était fortement positive, et était revenu non conclusif (valeur = 0,3). Le pH urinaire médian était de 7 (minimum = 5 ; maximum = 7).

La réalisation d'une uroculture était spécifiée chez 5 individus (63%), et était revenue systématiquement négative.

- *Examens additionnels*

Une échographie abdominale a été réalisée chez 50% des chats de l'étude (n = 4). Une dilatation pyélique était identifiée lors de 50% des échographies (n = 2). Des signes d'entéropathie chroniques étaient identifiés lors de 2 examens échographiques.

Un test afin d'explorer une potentielle hyperthyroïdie a été réalisé chez 50% des chats séniors (n = 1), il s'agissait d'un test de freinage de la thyroxinémie par la triiodothyronine et a permis d'exclure l'hyperthyroïdie. La fonction thyroïdienne n'a pas été explorée chez le chat présenté en situation d'urgence.

- *Confirmation du diabète insipide*

Après réalisation des examens complémentaires détaillés précédemment, des tests d'exploration du DI ont été réalisés chez les huit chats de l'étude, les résultats étaient en faveur d'un DIC chez les huit chats. Le test de restriction hydrique a été réalisé chez quatre chats, un test à l'épreuve thérapeutique a été réalisé chez quatre chats.

- Test de restriction hydrique

Le Tableau 9 détaille le déroulé des TRH réalisés sur les quatre chats. Hormis un cas, l'intégralité des TRH ont été réalisés avant 2010.

Une phase de restriction hydrique relative a été réalisée lors de 50% des TRH (n = 2). La durée de la restriction hydrique relative était comprise entre 5 et 7 jours. A la suite de cette phase, aucune augmentation significative de la densité urinaire n'avait été observée.

Une augmentation de la densité urinaire avait été observée chez 75% des chats (n = 3) à la suite de la phase de privation hydrique. La densité urinaire médiane initiale était de 1,007 (minimum = 1,005 ; maximum = 1,008). La densité urinaire médiane après privation hydrique était 1,014 (minimum = 1,009 ; maximum = 1,014). La durée de la phase de privation hydrique était mentionnée dans un unique cas et était de 15 heures.

Après administration de la desmopressine, une augmentation cliniquement significative de la densité urinaire a été constatée chez l'intégralité des chats. La durée entre l'administration de la desmopressine et l'augmentation de la densité urinaire était précisée chez trois chats, la durée médiane était d'une heure (minimum = 30 minutes ; maximum = 10 heures). La densité urinaire médiane après stimulation à la desmopressine était de 1,027 (minimum = 1,024 ; maximum = 1,035). La forme galénique de la desmopressine administrée n'était jamais précisée.

Après privation hydrique, compte tenu de la densité urinaire supérieure à 1,006, un diagnostic de DIC partiel a été établi pour les quatre chats.

Aucun évènement indésirable n'avait été rapporté à la suite des TRH.

Tableau 9 : Déroulé des tests de restriction hydrique

Signalement	Année	Consultation initiale	Phase de restriction hydrique relative	Phase de privation hydrique			Phase de stimulation à la desmopressine	Diagnostic
				Début de la privation	Fin de la privation	Durée de la privation hydrique		
Chat Femelle stérilisée 11 ans Européen	2003	DU = 1,005	Absence	DU = 1,005	DU = 1,014	Absence d'information	DU = 1,035	DI central partiel
Chat Mâle castré 1 ans Angora	2004	DU = 1,006	Diminution de 60% de la prise de boisson en 5 jours	DU = 1,008	DU = 1,014	15 heures	DU = 1,024	DI central partiel
Chat Mâle castré 3 ans Européen	2010	DU = 1,005	Absence	DU = 1,005	DU = 1,014	Absence d'information	DU = 1,028	DI central partiel
Chat Femelle stérilisée 9 mois Européen	2019	DU = 1,008	Diminution de 30% de la prise de boisson en 7 jours	DU = 1,008	DU = 1,009	Absence d'information	DU = 1,025	DI central partiel

□ Test à l'épreuve thérapeutique

Le Tableau 10 détaille le déroulé des tests à l'épreuve thérapeutique réalisés sur les 4 chats. Tous les tests à l'épreuve thérapeutique ont été réalisés après 2019.

Tableau 10 : Déroulé des tests à l'épreuve thérapeutique

Signalement	Année	Début de la privation hydrique	Phase de restriction hydrique relative	Phase de stimulation à la desmopressine	Forme galénique de la desmopressine administrée	Interprétation
Chat Femelle stérilisée 9 ans Sacré de Birmanie	2019	DU = 1,007	Absence	Nette diminution de l'abreuvement DU non précisée	Intraoculaire 2 gouttes deux fois par jour	DI central
Chat Mâle castré 4 ans Européen	2020	DU = 1,005	Réalisée sur une semaine Diminution de 60% de la quantité d'eau	Nette diminution de l'abreuvement, environ 50% de la valeur initiale DU = 1,015	Intraoculaire 1 goutte deux fois par jour	DI central
Chat Femelle entière 3 mois Européen	2021	DU = 1,006	Absence	Nette diminution de l'abreuvement, malgré PUPD persistante DU = 1,032	Per os Comprimé 20 µg deux fois par jour	DI central
Chat Mâle castré 5 ans Européen	2022	DU = 1,008	Absence	Nette diminution de l'abreuvement, estimé à 70 mL/kg/j DU = 1,035	Intraoculaire 2 gouttes deux fois par jour	DI central

La densité urinaire avant la mise en place du test à l'épreuve thérapeutique était comprise entre 1,006 et 1,008 (densité urinaire médiane = 1,007).

Une restriction hydrique précédant l'administration de la desmopressine était mentionnée dans un cas et avait été réalisée sur une semaine. Une augmentation de la densité urinaire cliniquement significative était rapportée à la suite de cette étape.

La forme galénique de la desmopressine était précisée lors de l'intégralité des tests : la voie topique oculaire a été choisie dans trois cas (75%) et seulement dans un cas pour la voie orale. Pour la forme topique, l'administration était biquotidienne avec une posologie d'une ou deux gouttes par administration. Lors de recours à la voie orale, l'administration se faisait également deux fois par jour.

Après administration de la desmopressine, une diminution significative de la prise de boisson était rapportée par l'intégralité des propriétaires. La densité urinaire après stimulation à la desmopressine était précisée dans 75% (n = 3) des tests. Parmi ces chats, une augmentation de la densité urinaire était systématiquement constatée. La densité urinaire était comprise entre 1,015 et 1,032, la densité urinaire médiane était de 1,032.

Aucun événement indésirable n'a été rapporté à la suite des tests à l'épreuve thérapeutique.

□ Diagnostic étiologique

Parmi les quatre chats sur lesquels un TRH a été réalisé, trois d'entre eux ont vu leur densité urinaire augmenter après restriction hydrique témoignant d'une capacité résiduelle à concentrer les urines, il s'agit de cas de DIC partiels. Concernant le dernier chat, la densité urinaire n'a pas augmenté après déshydratation. Cependant, les densités urinaires avant et après restriction étaient isosthénuriques, c'est pourquoi un diagnostic de DIC partiel a été établi. Finalement, un diagnostic de DIC partiel a été établi chez ces quatre chats.

Aucune des anamnèses des huit chats diagnostiqués de DIC ne fait part d'antécédent traumatique ou chirurgical. Par conséquent, l'étiologie traumatique a été exclue pour ces individus.

Aucun chat de l'étude n'a reçu d'examen tomodensitométrique. Un unique chat a reçu un examen IRM. L'examen mit en évidence des lésions post-ictales en lien avec les épisodes épileptiformes rapportés dans l'anamnèse ainsi qu'une asymétrie de la tige pituitaire par une masse dont l'origine, néoplasique ou inflammatoire, n'a pu être déterminée. Aucune analyse du LCS n'était rapportée. Dans ce cas, le DI avait été supposé secondaire à une néoplasie ou une encéphalite.

En absence d'examens d'imagerie avancés, le DIC chez les sept autres chats de l'étude était d'origine à déterminer (88%). Chez quatre chats, la PUPD était rapportée depuis l'adoption. Cela laisse supposer un DI primaire ou un DI secondaire congénital. En particulier, deux individus présentaient respectivement des troubles comportementaux ou un retard de croissance compatibles avec un kyste hypophysaire ou un panhypopituitarisme (Degregori *et al.*, 2020; Duperrier *et al.*, 2020).

□ Durée d'évolution des signes cliniques avant le diagnostic

La durée d'évolution des signes cliniques avant le diagnostic était comprise entre une semaine et un an, la durée médiane avant diagnostic était de deux mois.

e. Traitement et suivi

- **Traitement initial**

Un traitement à base de desmopressine a été mis en place dans la totalité de cas recrutés après le diagnostic de DIC. La forme galénique était renseignée dans 100% des cas, la posologie était renseignée chez les huit chats de l'étude.

Initialement, la voie topique oculaire a été choisie chez sept des huit chats, les posologies employées étaient une goutte une fois par jour (n = 2), une goutte deux fois par jour (n = 2), deux gouttes deux fois par jour (n = 2). La posologie n'était pas renseignée dans un cas.

L'administration par voie intranasale n'était pas prescrite.

Initialement, la voie orale a été employée chez un chat. La posologie était une administration de deux comprimés de 20 µg deux fois par jour.

- ***Adaptation du traitement***

Des consultations de suivi sont disponibles pour sept des huit chats de l'étude.

Lors du premier contrôle après mise en place du traitement, le traitement a été jugé satisfaisant chez deux individus, c'est-à-dire que les propriétaires rapportaient une résolution de la PUPD. Une diminution de la dose administrée a été entreprise et bien tolérée par la suite.

Une réponse insuffisante au traitement était rapportée chez quatre chats. Dans un cas, cela a motivé le vétérinaire traitant à référer l'animal au CHUVA. Lorsque la forme galénique initialement choisie était le topique oculaire (n = 3), un changement pour la forme orale était effectué (n = 3). Par la suite, les posologies choisies étaient comprises entre 60 et 120 µg de desmopressine par jour. Dans le cas de réponse insuffisante lors d'administration orale du traitement, une augmentation de la fréquence d'administration fut décidée. À la suite de l'adaptation traitement, une résolution de la PUPD était rapportée chez trois chats (75%).

Chez deux individus, une difficulté d'administration de la voie topique oculaire était clairement spécifié et motivait un changement de forme galénique pour la voie orale.

Dans un seul cas, aucune amélioration n'a été constatée après mise en place du traitement. Cela a motivé l'ajout d'hydrochlorothiazide à la dose journalière de 4 mg/kg en deux prises. Nous ne disposons pas d'informations quant aux suivis ultérieurs.

- ***Durée de suivi***

Nous ne disposons pas d'information quant au suivi d'un individu. Le chat présenté initialement pour état de choc décompensé avait présenté un épisode similaire avec une adipsie malgré une polyurie. Cela avait motivé une euthanasie, portant sa durée de suivi à deux mois. Un chat est décédé de cause accidentelle. Les autres chats de l'étude étaient toujours vivants lors de la dernière consultation au CHUVA.

La durée de suivi était comprise entre une semaine et quatre ans, la durée médiane de suivi était de 2 mois.

4. Discussion

L'objectif de cette étude était de comparer les éléments conduisant au diagnostic de DIC parmi les chats et chiens vus au CHUVA avec les données de la littérature. Cette étude portait sur un échantillon de dix chiens et de huit chats et constitue une des rares études rétrospectives sur le DIC en médecine vétérinaire (Aroch *et al.*, 2005; Harb *et al.*, 1996; Nelson, 2014).

A. Epidémiologie

Dix-huit animaux ont été inclus dans notre étude sur 20 ans de recrutement, cela témoigne de la rareté de cette affection et de la complexité diagnostique qu'elle représente.

Toutes espèces confondues, les mâles et les femelles étaient autant représentés. Toutes les catégories d'âge étaient représentées, aucune catégorie d'âge n'était surreprésentée. Aucune race n'était surreprésentée. L'épidémiologie de notre cohorte est donc en accord avec la littérature (Shiel, 2017a).

B. Anamnèse et commémoratifs

La PUPD constituait le motif de consultation chez la plupart des individus. Dans la cohorte « chien » comme dans la cohorte « chat », la PUPD était majeure. Toute espèce confondue la quantité d'eau bue était comprise entre 120 et 415 mL/kg/j. La quantité bue médiane excédait fréquemment le seuil de 200 mL/kg/j (Nelson, 2014). Cela motivait une restriction de l'accès à l'eau chez près d'un tiers des chiens de l'étude. Dans notre étude, la durée d'évolution de la PUPD était très variable, d'une semaine jusqu'à cinq ans toutes espèces confondues. La littérature rapporte des durées d'évolution de l'ordre du mois (Nelson, 2014; Shiel, 2017a). Chez les jeunes individus, la PUPD était plus volontiers rapportée depuis l'adoption (80% des individus jeunes de l'étude) témoignant d'un DIC primaire ou DIC congénital.

Chez un chat, une polyurie massive était rapportée sans qu'une polydipsie n'y soit associée. Cela avait conduit à plusieurs épisodes de déshydratation grave ayant justifié son hospitalisation. Cette situation s'apparente à un DIC adipsique, bien décrit en médecine humaine. Un seul cas similaire est rapporté dans la littérature vétérinaire (Evenhuis *et al.*, 2021) chez un chat de neuf mois dont l'examen IRM mettait en évidence un kyste congénital hypophysaire. Le chat de notre étude présentait une masse d'origine indéterminée intéressant l'hypophyse, inflammatoire ou tumorale (Meij *et al.*, 2012). L'hypodipsie décrit dans notre cas était vraisemblablement secondaire à une atteinte du centre de la soif par cette masse.

Outre la PUPD, une malpropreté urinaire et une incontinence urinaire étaient fréquemment rapportées dans notre étude. Également décrites par Nelson (2014), les épisodes de malpropreté seraient plus fréquents lors du coucher.

C. Signes cliniques

L'examen clinique était le plus souvent peu informatif. L'anomalie clinique la plus fréquemment mise en évidence était une déshydratation (28 % des cas). La déshydratation était fréquente chez les individus dont les propriétaires restreignaient l'accès à l'eau. Par ailleurs, un amaigrissement ou une NEC inférieure à quatre étaient présents chez 25% des chats et 30% des chiens de l'étude, les individus privilégiant l'abreuvement à la prise alimentaire (Nelson, 2014).

Lors de la consultation initiale, un individu de l'étude présentait des signes neurologiques (crise convulsive et amaurose). Un second individu avait également présenté des crises convulsives lors de son suivi. Les crises convulsives étaient probablement secondaires à une hypernatrémie et à une encéphalite. Des stéréotypies étaient rapportées chez un individu. La prévalence de signes neurologiques dans notre étude est donc inférieure à celle rapportée par l'étude de Harb *et al.* (1996) où sept des 17 chiens avaient développé des signes neurologiques au cours de leur suivi.

Fréquemment rapportées dans la littérature, les associations entre DI et une autre dysendocrinie étaient rares dans notre étude (Nelson, 2014). Cela tient en partie à nos critères d'inclusions. Un panhypopituitarisme était suspecté chez un chat de l'étude en raison d'un retard de croissance associé au DIC.

D. Examens complémentaires

a. Examens d'orientation

Dans notre étude, la numération formule était peu informative. L'hématocrite, mesuré chez six individus, était compris dans les valeurs de référence. Chez les chiens de l'étude, l'hématocrite était proche de la limite supérieure de l'intervalle de référence évoquant une hémococoncentration par perte de fluide exagérée. Cette constatation est également faite dans la littérature (Nelson, 2014).

Les altérations de l'urémie étaient les anomalies les plus fréquemment rencontrées dans notre étude. De façon surprenante, les chiens avaient tendance à l'hypourémie tandis que les chats avaient tendance à l'azotémie. Une hypourémie était présente chez 33% des chiens de l'étude, 22% des chiens avaient également une urémie proche de la limite inférieure de l'intervalle de référence. L'hypourémie est secondaire à une perte majorée d'urée par la polyurie chronique et par la baisse d'activité des transporteurs UT-1 et UT-3 (Nelson, 2014; Shiel, 2017a). Chez les animaux atteints de DIC, une augmentation isolée de l'urémie témoigne volontiers d'une azotémie pré-rénale, bien que dans notre étude d'autres affections dont une maladie rénale chronique et cardiomyopathie aient pu participer à l'azotémie (Shiel, 2017a).

La cholestérolémie n'avait été mesurée que chez deux chiens dans notre étude, une hypercholestérolémie discrète était présente chez l'un deux. Les dysendocrinies hypercholestérolémiantes (hypercorticisme et hypothyroïdie) étaient exclues chez cet individu, un prélèvement sanguin à proximité d'un repas aurait pu expliquer cette hypercholestérolémie. L'hypercholestérolémie était une découverte surprenante dans l'étude de (Harb *et al.*, 1996), et non décrite dans le reste de la littérature vétérinaire. Compte tenu du faible nombre de mesure de cholestérolémie dans notre étude, il est prudent de ne pas se prononcer sur l'association entre DI et hypercholestérolémie. Par ailleurs, cette association n'est pas rapportée en médecine humaine.

Le ionogramme était fréquemment altéré dans notre étude. Ces modifications sont bien rapportées dans la littérature (Shiel, 2017a). Toutes espèces confondues, une hypernatrémie était présente chez 25% des individus, une déshydratation était mise en évidence chez ces individus. Une hypokaliémie était présente chez 20% des individus de notre étude. Dans la cohorte « chien », une hyperchlorémie était présente chez 80% des individus. La chlorémie était sans anomalie parmi les chats de l'étude. Toutes ces modifications du ionogramme sont bien rapportées dans la littérature (Shiel, 2017a). En particulier, l'hypernatrémie, l'hypokaliémie étaient respectivement rapportée dans 20 % et 15 % dans l'étude rétrospective menée à l'université de Californie (Nelson, 2014). La magnésémie avait été mesurée chez neuf individus de l'étude, une hypermagnésémie était présente

chez 78% d'entre eux. L'hypermagnésémie n'est pas rapportée dans la littérature. Cette découverte est d'autant plus surprenante que l'on aurait pu s'attendre à une hypomagnésémie compte tenu de la PUPD qui majore les pertes urinaires de magnésium (Bateman, 2011). On peut supposer qu'à l'instar des canaux $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$, l'ADH active la transcription et la migration des canaux impliqués dans l'excrétion urinaire du magnésium (Kim *et al.*, 1999).

Pour conclure, les examens d'orientation étaient peu informatifs dans le diagnostic du DIC ou reflétaient des anomalies témoignant d'une prise de boisson ou d'une émission d'urine exacerbée.

b. Analyse d'urine

Des urines hyposthénuriques ou isosthénuriques étaient une découverte constante chez les individus de notre étude. Les urines étaient hyposthénuriques chez 83% des individus (15/18), comparable aux valeurs comprises entre 80% et 85% retrouvées dans la littérature (Harb *et al.*, 1996; Nelson, 2014). Des densités urinaires égales à 1,001 ou 1,002 étaient moins fréquemment rencontrées que dans la littérature, seuls 17% de nos animaux présentaient de telles densité urinaire contre plus de 40% dans la littérature (Nelson, 2014). La présence d'urines isosthénuriques ne permet pas d'exclure un DIC (Nelson, 2014). Dans notre étude, les urines isosthénuriques n'étaient pas plus fréquemment identifiées chez les individus dont l'accès à l'eau était restreint.

Le reste de l'analyse d'urine était peu informatif. La culture bactériologique sur urine était systématiquement négative dans notre étude. La bandelette urinaire était peu informative, l'anomalie la plus souvent mise en évidence était une activité peroxydasique positive, à relier en priorité avec le prélèvement d'urine par cystocentèse.

c. Confirmation du diabète insipide

- *Retour sur les tests de confirmation employés et limites de ces tests*

Toutes espèces confondues, huit TRH et dix tests à l'épreuve thérapeutique ont été employés afin d'établir le diagnostic de DIC. Hormis un animal, l'intégralité des TRH a été réalisée avant 2010. Des tests à l'épreuve étaient employés sur l'intégralité de la période de recrutement de l'étude, bien que leur emploi ait augmenté depuis 2015. Ces observations confortent donc notre hypothèse initiale quant à l'abandon progressif du TRH en faveur du test à l'épreuve thérapeutique.

L'interprétation des TRH réalisés était univoque dans la plupart des cas. La littérature insiste sur la difficulté d'interprétation du TRH dans certains cas de DIC partiels ou de PP. Cette différence tient probablement à la nature rétrospective de notre étude, et à nos critères d'inclusion qui ont permis d'exclure les cas dont l'interprétation du test était ambiguë ou non conclusive.

Nous ne disposons pas de suffisamment d'informations quant à la durée de la restriction hydrique pour identifier si cette phase est plus réduite chez les individus atteints de DIC complet comme cela est rapporté dans la littérature (Nelson, 2014).

Les tests à l'épreuve et TRH avaient été bien tolérés par les animaux de la cohorte, aucun test n'avait dû être interrompu pour des troubles imputables à la déshydratation. Un événement paroxystique était rapporté chez un animal peu après la réintroduction de l'eau mais il est rétrospectivement difficile d'identifier une cause précise à cet épisode.

- *Etiologie*

Peu d'examens d'imagerie de l'encéphale ont été réalisés après le diagnostic du DIC dans notre étude, c'est pourquoi plus de la moitié (56%) des cas de DIC sont d'origine indéterminée.

Notre étude ne fait part d'aucun cas DIC d'origine traumatique ou chirurgical, alors qu'il s'agit de la cause la plus fréquente chez le chat, et l'une des plus fréquentes chez le chien (Shiel, 2017a, 2012). Nous pouvons supposer que les chirurgies de l'encéphale et notamment l'hypophysectomie étant rarement effectuées en France, la cause traumatique est moins fréquente que dans les pays anglo-saxons dont la littérature provient.

Par ailleurs, la présence d'un DIC évoluant depuis l'adoption suggère une DIC secondaire congénitale ou un DIC idiopathique. Un examen d'imagerie cérébrale est cependant nécessaire pour conclure. Deux individus dans notre étude ont reçu de tels examens d'imagerie : l'absence d'anomalie a permis de poser un diagnostic de DIC primaire chez ces deux individus. Deux individus présentaient également des troubles comportementaux ou un retard de croissance ce qui oriente davantage vers une origine congénitale et notamment un kyste hypophysaire (Degregori *et al.*, 2020; Duperrier *et al.*, 2020).

Un cas de DIC avait été attribué à une encéphalite granulomateuse diagnostiquée sur la base d'une pléiocytose à dominante pyogranulomateuse, sans anomalie à l'examen IRM par ailleurs. Cependant, ce chien présentait une PUPD majeure depuis un an. Durant cette période, une unique crise convulsive avait été observée, aucun autre trouble neurologique n'avait été rapporté par le propriétaire. Rétrospectivement, nous manquons d'arguments pour relier le DIC à une encéphalite chez cet animal. Le traitement immunosuppresseur (azathioprine) de l'encéphalite n'avait pas permis par ailleurs une résolution de la PUPD.

Enfin, il a été choisi d'inclure deux chiens qui au cours de leur suivi au CHUVA avaient été diagnostiqué d'un syndrome de Cushing. Le premier cas était un chien mâle entier de 7 ans. Lors de la présentation initiale pour PUPD, le reste de la clinique n'était pas en faveur d'un hypercorticisme, également les résultats du test de freinage à dose faible étaient douteux. Après diagnostic et mise en place du traitement du DIC, une nette régression de la PUPD avait été constatée. Par ailleurs, un examen tomodensitométrique avait mis en évidence un micro-adénome. La PUPD avait récidivé après plus de six mois de contrôle satisfaisant du DIC. De nouvelles explorations avaient alors été entreprises et étaient cette fois en faveur d'un hypercorticisme d'origine centrale. Nous avons décidé d'inclure ce cas en raison du peu d'arguments en faveur d'un hypercorticisme lors des premières consultations ainsi que de la réponse satisfaisante et durable du traitement. Le second cas, un chien femelle de 9 ans, fut présenté pour la réapparition d'une PUPD dans un contexte d'hypercorticisme traité par une administration de mitotane. Durant l'intégralité du suivi, les tests de stimulation de la cortisolémie par l'ACTH montraient un bon contrôle de l'hypercorticisme. Cela avait mené les cliniciens à suspecter une autre origine à la PUPD. Le DIC avait été diagnostiqué par réponse positive à l'épreuve thérapeutique. Plusieurs ajustements de la posologie de la desmopressine permirent une régulation de la prise de boisson pendant plus d'un an.

E. Traitement et suivi

Rétrospectivement, les individus de notre cohorte ont montré une réponse très satisfaisante à la desmopressine. Seuls deux individus ont présenté une absence de réponse au traitement. Cela avait motivé une procédure de fin de vie chez l'un d'entre eux.

Les posologies de desmopressine choisies en première intention étaient cohérentes avec la littérature. Dans notre étude, l'administration oculaire de desmopressine était la plus fréquemment choisie en première intention. Il n'était pas indiqué si la formulation intra-oculaire avait été reconditionnée à partir de la formulation intra-nasale.

Au cours du suivi, les voies topiques étaient rapidement arrêtées au profit d'une voie per-os. En particulier, lors de réponse partielle au traitement, la première adaptation thérapeutique était un changement pour une administration orale, laissant sous-entendre qu'une des premières causes d'échec thérapeutique pourrait être une difficulté d'observance. Notre étude fait part de deux chats chez l'administration par voie oculaire était rapportée pénible ce qui avait motivé un changement pour une voie orale. Des descriptions similaires sont faites dans la littérature (Aroch *et al.*, 2005; Nelson, 2014).

La durée de suivi était très variable selon les individus, toutes espèces confondues la durée médiane de suivi était de sept mois. La majorité des individus de l'étude ont été perdus de vue, et le DI n'avait constitué le motif d'euthanasie que chez deux animaux. Aucun décès n'était directement imputable au DI. L'apparition de signes neurologiques constitue un motif majeur d'euthanasie lors du suivi de DI, cela n'était pas rapporté dans notre étude (Harb *et al.*, 1996).

5. Conclusion et limite de l'étude

Ce travail constitue l'une des rares études rétrospectives sur le DIC en médecine vétérinaire. Les différentes observations cliniques, paracliniques et thérapeutiques étaient cohérentes avec les connaissances sur cette affection en médecine vétérinaire.

Ce travail comporte cependant plusieurs limites. Nous avons choisi de décrire séparément les cas de DIC selon les espèces. L'effectif de chaque cohorte était faible, c'est pourquoi nous avons choisi de ne présenter que des données descriptives. Nous aurions souhaité produire des intervalles de référence, mais cela était peu pertinent compte tenu de l'effectif et de l'hétérogénéité de notre cohorte.

La transcription des compte-rendus datant d'avant 2010 était souvent incomplète. Cela a motivé l'exclusion de plusieurs cas de potentiels cas de DIC. De plus, nous avons manqué d'informations quant au déroulé de certains tests de restriction hydrique ou à l'épreuve thérapeutique.

Enfin, nous n'avons décrit que des cas de DIC. Il aurait été pertinent d'inclure dans cette étude les cas de polydipsie psychogène rencontrés au CHUVA sur la même période. L'objectif aurait été d'identifier des éléments permettant de discriminer DIC et polydipsie psychogène avant réalisation des tests de restriction hydrique ou à l'épreuve thérapeutique.

Troisième partie : étude expérimentale

1. Introduction

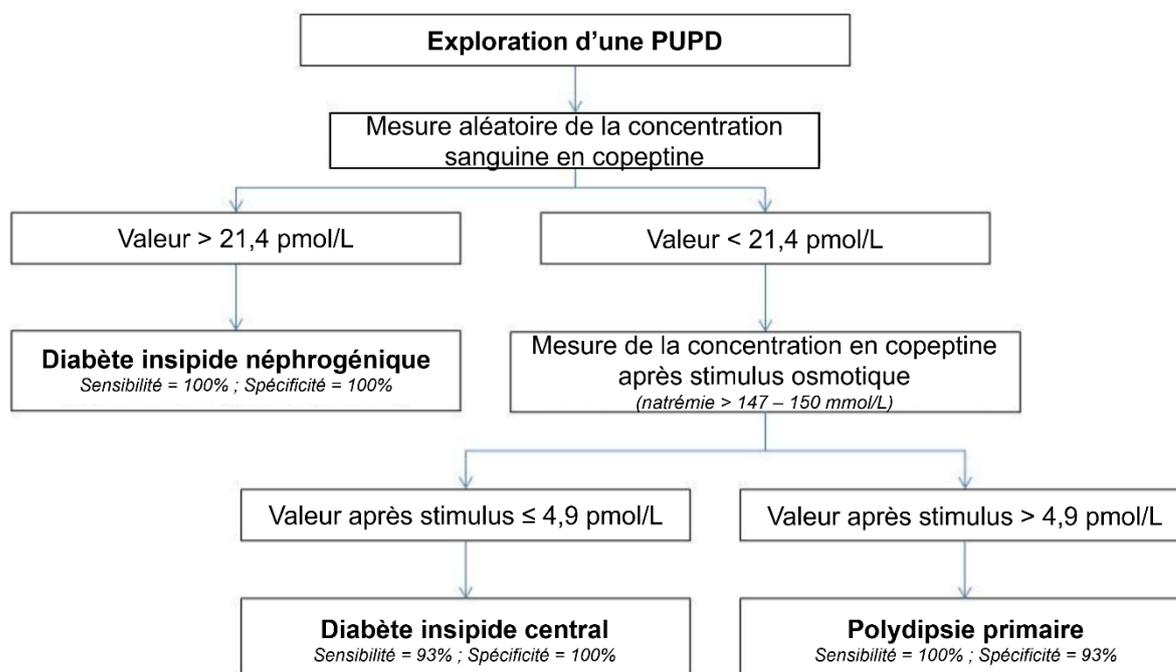
En médecine vétérinaire, différencier DIC, DIN et PP demeure un défi diagnostique. L'examen de référence, le TRH, est contraignant pour le praticien, et risqué pour le patient. De plus, l'interprétation des résultats est délicate notamment lors de DIC partiel et polydipsie psychogène (Nelson, 2014). Les constatations sont similaires (Fenske *et al.*, 2011; Timper *et al.*, 2015) en médecine humaine quant au TRH.

Le diagnostic direct, terme repris de la publication de Refardt *et al.* (2019), grâce au dosage de l'ADH n'est pas une alternative viable en raison de conditions pré analytiques contraignantes (van Vonderen *et al.*, 2004) et d'une mauvaise corrélation avec l'osmolarité, stimulus principal de la libération d'ADH. Ces défauts expliquent la mauvaise sensibilité de l'ADH dans le diagnostic du diabète insipide (Biewenga *et al.*, 1987; Nelson, 2014).

La copeptine est découverte en 1972 par Holwerda (1972). Sa structure peptidique est identifiée quelques années plus tard dans les espèces bovines, porcines et ovines par Smyth et Massey (1979), sans que le lien avec l'ADH ne soit fait. Les auteurs envisagent alors qu'il s'agit d'un précurseur hormonal. Initialement désigné sous le nom de « glycopeptide », le terme « copeptine » apparaît dans les années 1980, le premier article sur le moteur de recherche PubMed employant ce terme datant de 1986 (Chauvet *et al.*, 1986). Peu de publications sur la copeptine font suite pendant une vingtaine d'années. La nécessité d'une alternative diagnostique en médecine humaine explique le regain d'intérêt pour la copeptine depuis la deuxième moitié des années 2000. Les intérêts du dosage de la copeptine ont été abordés précédemment (cf. I.3.c.b.) Les études récentes sur le sujet retiennent une meilleure corrélation entre la copeptine et l'osmolarité sanguine grâce à des conditions pré analytiques plus accessibles, ainsi qu'une meilleure sensibilité dans le diagnostic du DI (Christ-Crain et Fenske, 2020).

Une démarche diagnostique reposant sur le dosage de la concentration basale en copeptine puis après stimulation osmotique est proposée par Refardt et al. (2019) et est reproduit par la Figure 16. La sensibilité et la spécificité de cette méthode varient entre 93 à 100% pour le diagnostic du DIC, DIN et PP.

Figure 16 : Démarche diagnostique reposant sur la copeptine, traduit de (Refardt et al., 2019)



Notons que cette démarche ne permet pas de différencier un DIC complet d'un DIC partiel. Aucun cas de DI adipsique n'a été inclus dans cette étude, l'intérêt de la copeptine dans ce cas de figure demeure donc inconnu.

A ce jour, une unique publication vétérinaire traite de l'intérêt de la copeptine chez le chien (Pierantoni *et al.*, 2022). Cette étude évalue l'intérêt du dosage de la copeptine sur prélèvement salivaire dans le cadre de l'anxiété de séparation chez le chien. À notre connaissance, il n'existe pas de publications traitant de l'intérêt du dosage de la copeptine dans le cadre du diagnostic du diabète insipide.

2. Objectifs de l'étude

A. Objectifs

L'objectif de ce travail est de valider un dosage de copeptine chez le chien afin d'évaluer son intérêt dans le diagnostic du diabète insipide. Le kit de dosage employé est le *Canine Copeptin Elisa kit*, commercialisé par le laboratoire AMSBio (référence MBS736743).

Sous réserve de validation du kit, les objectifs secondaires qui en découlent sont, chez des chiens adultes normohydratés.

- Etablir un intervalle de référence de la concentration en copeptine et en ADH

- Etudier la corrélation entre osmolarité sanguine estimée et concentration sanguine en copeptine et ADH
- Etudier l'évolution de la copeptine circulante, et de l'ADH, à la suite de l'administration d'un soluté hypertonique
- Etudier l'évolution de la copeptine circulante, et de l'ADH, à la suite d'un protocole de restriction hydrique

Un travail préliminaire avec des objectifs similaires a été réalisé à l'ENVA. Ses résultats n'étaient pas concluants, compte tenu d'une durée de restriction hydrique jugée insuffisante. L'objectif de ce travail était donc d'infirmier ou confirmer les observations préliminaires faites. Ces résultats n'ont pas été publiés à ce jour et seront abordés dans la discussion (voire paragraphe I.6.a).

B. Hypothèses

Les hypothèses présentées dans ce paragraphe sont énoncées sous réserve de validation du kit de dosage.

L'ADH et la copeptine étant libérées dans des proportions équimolaires, on s'attend à ce que la concentration en copeptine soit proche des valeurs de référence de l'ADH, c'est-à-dire [1 ; 6] pg/mL soit [1 ; 6] pmol/L (van Vonderen *et al.*, 1999). Une telle constatation est faite en médecine humaine puisque que la concentration moyenne en copeptine est d'environ 4 pmol/L (Morgenthaler *et al.*, 2006), celle en ADH inférieure à 5 pmol/L chez un adulte normohydraté (Leng et Sabatier, 2016). Notons que les valeurs de référence l'ADH dans l'espèce canine et chez l'Homme sont proches. Par conséquent, les concentrations obtenues de copeptine dans cette étude devraient être également de l'intervalle de référence chez l'homme. Nous devrions également observer une corrélation satisfaisante entre la concentration sanguine en ADH et la concentration sanguine en copeptine.

L'osmolarité sanguine étant le stimulus principal de la sécrétion d'ADH, et a fortiori de copeptine, nous supposons que la concentration en copeptine augmente significativement après stimulation hypertonique ou restriction hydrique, à l'instar des résultats obtenus dans l'étude de Balanescu *et al.* (2011). Dans cette perspective, une corrélation entre osmolarité sanguine et concentration sanguine en copeptine est également attendue.

3. Matériels et méthodes

A. Chronologie de l'étude

Cette étude s'est articulée autour de trois phases, correspondant au recrutement de trois cohortes de chiens. Ce paragraphe s'attache à reconstituer la chronologie de l'étude afin de permettre une meilleure compréhension. Nous reviendrons plus en détails au sujet des protocoles réalisés et des cohortes dans les paragraphes suivants.

Une première cohorte est constituée en novembre 2021 au sein de chiens appartenant aux étudiants ou au personnel de l'EnvA. Un protocole de restriction hydrique d'une durée de 12h est réalisé sur les animaux recrutés.

En juin 2022, une deuxième cohorte est recrutée au sein des chiens sains du laboratoire de neurobiologie afin d'entreprendre un protocole de restriction hydrique plus long (16h), puis un

protocole de stimulation au soluté hypertonique. Une semaine de « Wash-out » est réalisée entre les deux protocoles afin de garantir le retour à un statut d'hydratation physiologique et donc l'indépendance des deux protocoles.

Le dosage de la copeptine à partir des prélèvements réalisés sur les deux premières cohortes est entrepris en juillet 2022.

En septembre 2022, une troisième cohorte a été recrutée dans le but d'obtenir un intervalle de valeurs d'ADH chez des chiens sains normohydratés. Le dosage est réalisé dans les jours qui suivent les prélèvements sanguins.

B. Animaux

La première cohorte, dite « cohorte 1 », recrutée en novembre 2021, se compose de sept chiens âgés de trois à six ans et appartenant à des étudiants vétérinaires de l'ENVA. Quatre mâles, dont deux castrés, et trois femelles, dont deux stérilisées, forment la cohorte. Les races représentées sont le Boxer (un individu), Yorkshire Terrier (un individu), Berger Blanc Suisse (un individu), Berger des Shetlands (un individu) et croisés (trois individus)

La deuxième cohorte, dite « cohorte 2 », est constituée en juin 2022 et comporte six chiens âgés de 1 an à 6 ans et issus du laboratoire de recherche neuromusculaire de l'ENVA. Les races Golden Retriever (trois individus) et Labrador (deux individus) sont surreprésentées. Aucun sexe n'est surreprésenté : trois mâles entiers et trois femelles non stérilisées constituent la cohorte 2. Trois des individus possèdent un allèle muté pour la myopathie centronucléaire.

Une troisième cohorte, dite « cohorte 3 » a été recrutée en septembre 2022. Elle se compose de douze chiens âgés de deux à huit ans et appartenant à des étudiants vétérinaires de l'ENVA. Les mâles sont surreprésentés et représente 75% de l'effectif (9 sur 12 individus), trois d'entre eux sont castrés. Les trois femelles sont toutes stérilisées. Aucune race n'est surreprésentée : deux Bergers des Shetlands, un Labrador, un Golden Retriever, un Setter Anglais, un Cavalier King Charles, un Cairn Terrier, un Berger Belge, un Épagneul Breton et trois croisés.

Pour être inclus dans l'étude, les animaux devaient remplir les conditions suivantes

- L'animal devait être adulte, c'est-à-dire âgés de plus de 18 mois.
- L'animal ne devait pas présenter d'affections intercurrentes, ni de traitement médical. Le propriétaire ne devait pas rapporter de PUPD chez son animal.
- L'examen clinique devait être dans les normes, en particulier, une attention particulière était portée à l'état d'hydratation de l'animal par l'évaluation de l'état des muqueuses et la mesure du pli cutané.
- Le ionogramme et la concentration sanguine en créatinine devaient être dans les références de l'espèce.

C. Détail des protocoles réalisés

Les protocoles détaillés dans ce paragraphe ont été validés par un comité d'éthique au préalable. Pour la cohorte 1 et 3, il s'agit du comité d'éthique de la recherche clinique (ComERC), la référence du dossier est 2021-04-19. Pour la cohorte 2, il s'agit du Comité d'éthique pour l'expérimentation animale, la référence de la saisine est *ComEth* 36937.

a. Protocole de restriction hydrique

Un protocole de restriction hydrique a été mis en place pour la cohorte 1 et la cohorte 2 afin d'étudier la sécrétion de copeptine d'abord en condition physiologique puis après privation hydrique. Des variations de protocoles entre les deux cohortes sont explicitées ci-dessous.

Les individus recrutés ne présentaient pas de PUPD, une hypotonie médullaire était de fait peu probable. La restauration du gradient médullaire par une restriction hydrique progressive n'était donc pas nécessaire.

Après réception des commémoratifs intégrant l'âge, le sexe et la présence d'éventuels traitements ou affections concomitantes, les chiens étaient pesés. Un examen clinique était ensuite réalisé, il comprenait l'auscultation cardiorespiratoire et l'évaluation de l'état d'hydratation.

Des prélèvements sanguins sur tubes secs, hépariné et EDTA étaient collectés par ponction de la veine jugulaire ou veine saphène externe. Les analyses effectuées sur les prélèvements comprenaient la créatinémie, le ionogramme et la concentration sérique en copeptine. L'hématocrite, la protéinémie totale, l'urémie et la concentration plasmatique en ADH étaient également mesurés pour la cohorte 2. Le protocole employé pour les prélèvements sont détaillés dans le paragraphe I.3.d. Un échantillon d'urine était prélevé par miction spontanée, sondage ou cystocentèse. La densité urinaire était alors mesurée.

Sous réserve que les examens clinique et paraclinique satisfassent les critères d'inclusions, l'accès à l'eau et à la nourriture était retiré. La restriction hydrique durait douze heures pour la cohorte 1 contre seize heures pour la cohorte 2. Les propriétaires étaient informés des signes cliniques justifiant l'interruption de la restriction hydrique : abattement, apathie, modifications comportementales (Nelson, 2014; Shiel, 2017b). Une telle situation ne s'est pas présentée.

Après la durée convenue, les chiens étaient examinés et pesés à nouveau. Des prélèvements sanguins et urinaires similaires à ceux décrits pour T0 étaient réalisés, les mêmes analyses étaient réalisées. L'accès à l'eau et à la nourriture étaient alors réintroduits.

b. Période de repos entre les deux protocoles

La cohorte 2 étant soumise successivement à un protocole de restriction hydrique puis de stimulation au soluté hypertonique, il était fondamental d'assurer l'indépendance des deux expériences. Une période de sept jours avec accès à volonté à l'eau séparait les deux protocoles afin de permettre un retour à un état d'hydratation physiologique.

c. Protocole de stimulation hypertonique

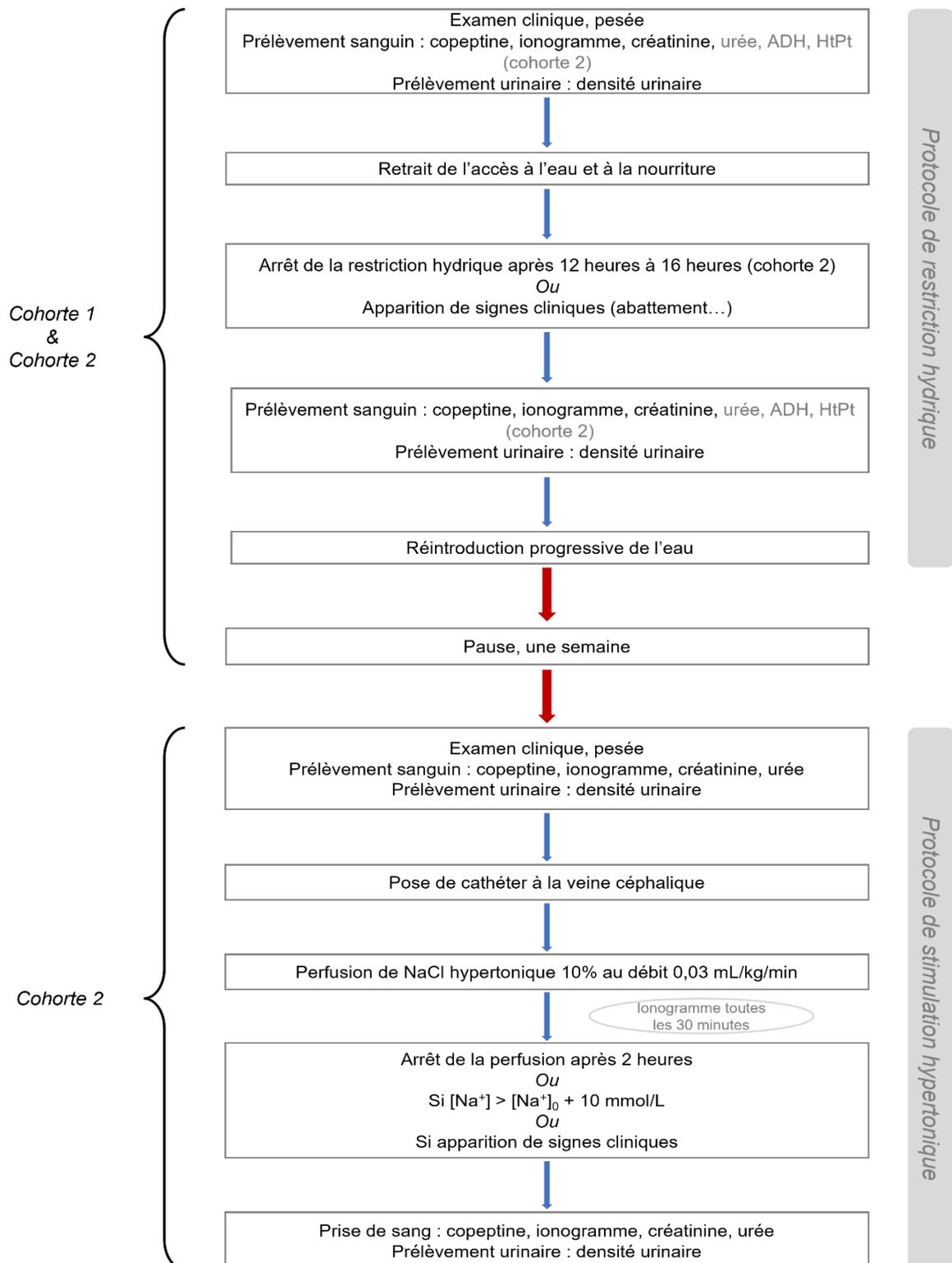
Un protocole de stimulation par infusion hypertonique, inspiré du protocole proposé par R. Shiel (2012) a été réalisé pour la cohorte 2 afin d'étudier la sécrétion de copeptine d'abord en condition physiologique puis lors d'hyperosmolarité sanguine.

Un examen clinique était réalisé, comprenant l'auscultation cardiorespiratoire, l'évaluation de l'état d'hydratation et une prise de température. Les chiens étaient ensuite pesés. Des prélèvements sanguins étaient réalisés à la veine jugulaire pour la mesure de la créatinémie, du ionogramme et de la concentration sérique en copeptine et la concentration plasmatique en ADH.

Après la pose d'un cathéter veineux à la veine céphalique, une perfusion d'hypertonique salé à la concentration de 10% (NaCl 10%) était mise en place au débit de 0,03 ml par kilogramme et

par minute. Une surveillance de l'ionogramme, et en particulier de la natrémie, était assurée par des prélèvements sanguins toutes les 30 min et analyse immédiate. La perfusion était interrompue après deux heures, ou après une augmentation de la natrémie de plus de 10 mmol/L par rapport à la valeur initiale. Des prélèvements sanguins et urinaires similaires à ceux décrits pour le t0 étaient réalisés, et les mêmes analyses étaient réalisées. La Figure 17 illustre les déroulés des protocoles réalisés.

Figure 17 : Résumé du protocole de restriction hydrique puis de stimulation hypertonique



d. Mesure de la concentration basale en ADH

Le protocole réalisé sur la cohorte 3 consistait en un prélèvement de sang à la veine jugulaire chez des individus sains normohydratés. Les analyses effectuées comportaient la mesure de la concentration plasmatique en ADH au laboratoire MedVet. Le kit de dosage employé est similaire à celui détaillé dans l'étude de Morton *et al.* (1975).

La concentration basale en ADH est également mesurée sur la cohorte 2 avant réalisation des protocoles de restriction hydrique et de stimulation hypertonique.

D. Prélèvements

Les examens biochimiques de routine étaient réalisés sur plasma de tube hépariné ou sur sérum de tube sec gélosé. Les paramètres mesurés étaient le ionogramme (comprenant la natrémie, la kaliémie et la chlorémie), l'urémie et la créatininémie. L'analyse était rapidement réalisée sur les automates IDEXX Catalyst One et le IDEXX VetStat. Les valeurs de références choisies sont celles proposées par les automates employés.

Le dosage de l'ADH a été effectué à la suite des protocoles réalisés sur les cohortes 2 et 3. Le sang était prélevé à la veine jugulaire puis placé dans des tubes EDTA refroidis au préalable dans la glace. Après prélèvements, les tubes étaient centrifugés à 4°C pendant dix minutes à la vitesse de 4 000 tours par minute. Le plasma était ensuite stocké à une température proche de -80°C. Toutes les analyses ont été réalisées en octobre 2022 après transport des prélèvements sous carboglace.

La concentration en copeptine a été mesurée lors des protocoles de restriction hydrique et de stimulation par infusion hypertonique effectués sur les cohortes 1 et 2. Le sang était prélevé dans un tube sec gélosé puis disposé dans de la glace le temps que le caillot se forme. Les tubes étaient ensuite centrifugés à 3 000 tours par minute pendant 10 minutes. Le sérum était ensuite stocké à une température proche de -80°C en attendant le dosage. Un duplicat était formé pour chaque sérum obtenu. La concentration en copeptine des sérums était mesurée par ELISA compétitif avec le kit « *Canine Copeptin ELISA Kit* » commercialisé par le laboratoire AMSBio. Tous les dosages ont été effectués au BioPole en juillet 2022 sous la responsabilité du Dr Delphine Le Roux. Le fonctionnement du kit est détaillé ultérieurement (cf. I.3.e.a).

E. Variable mesurées

a. Mesure de la concentration en copeptine

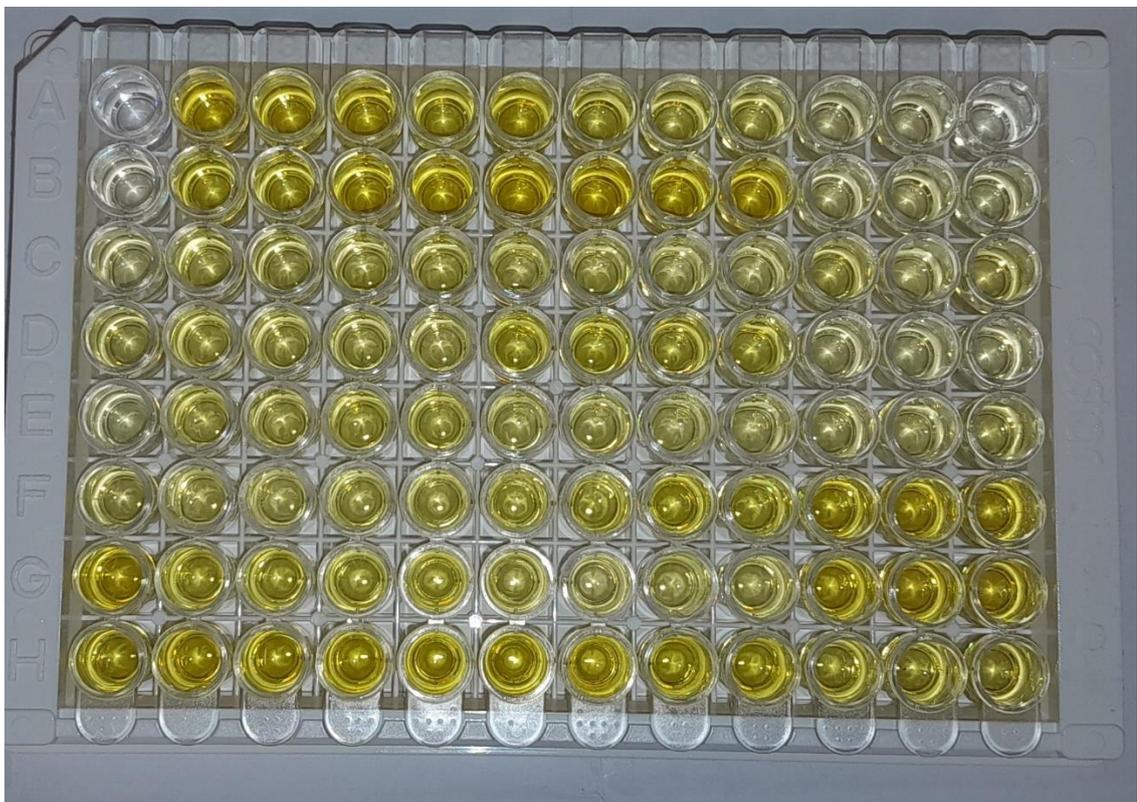
Le dosage de la copeptine par le kit « *Canine Copeptin ELISA Kit* » repose sur la méthode ELISA compétitive. Le principe de l'ELISA compétitive est détaillée ci-dessous (Crowther, 2009). Les spécificités du kit « *Canine Copeptin ELISA Kit* » sont également mentionnées, le manuel d'utilisation est disponible en Annexe 1 :

La première étape correspond à la préparation de la plaque de fixation. Des anticorps sont ajoutés à la phase solide et s'y fixent. Les anticorps non fixés sont éliminés par rinçage. Une solution tampon, dite « buffer », est ensuite ajoutée afin de saturer la phase solide. Cette étape empêche la formation de liaisons non spécifiques entre la plaque et les antigènes. Dans le cas du kit « *Canine Copeptin ELISA Kit* », la plaque fournie était pré-recouverte d'anticorps polyclonaux anti-copeptine canine. Cette plaque contient 96 puits.

L'échantillon, contenant l'antigène à doser, et la solution conjuguée, contenant l'antigène marqué, sont ajoutés au milieu. L'antigène marqué consiste en un antigène spécifique des anticorps de la plaque auquel est liée une enzyme. Dans le cas du kit « *Canine Copeptin ELISA Kit* », il s'agit d'une copeptine canine liée à une peroxydase. L'antigène à doser et l'antigène marqué entrent en compétition d'immunocapture pour se fixer aux anticorps de la plaque : c'est la phase de compétition de capture. Plus la concentration en copeptine dans l'échantillon est forte, plus les paratopes des anticorps sont occupés par l'échantillon et moins le conjugué copeptine-péroxydase se fixe aux anticorps. La fixation aux anticorps dépend également de l'affinité de l'antigène pour l'anticorps.

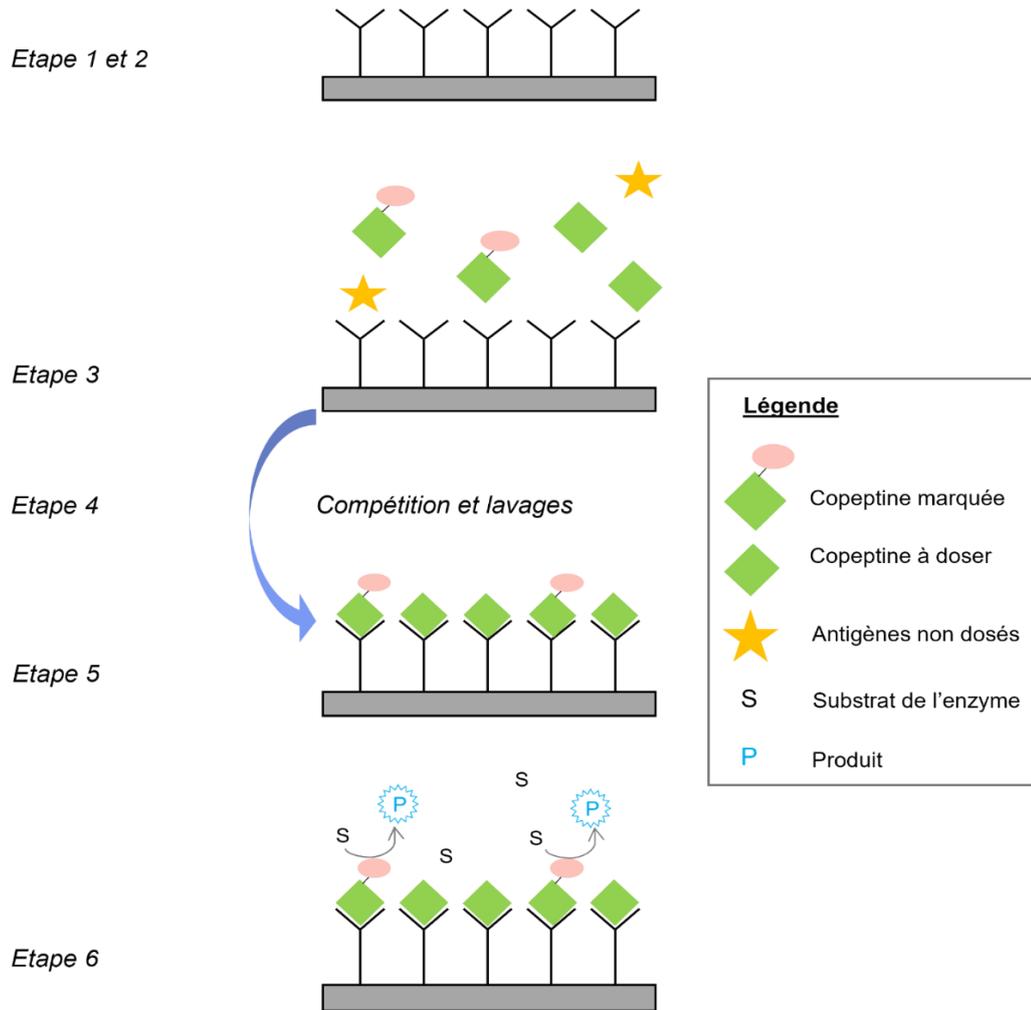
Le substrat de l'enzyme de marquage est ensuite ajouté au milieu. Pour le kit utilisé, deux substrats sont ajoutés aux puits. L'utilisation du substrat par l'enzyme produit une coloration bleue. L'intensité de la coloration est corrélée positivement à la quantité d'antigènes marqués fixés sur la plaque. Par conséquent, l'intensité de la coloration est corrélée négativement à la concentration en copeptine de l'échantillon dosé. Après vingt minutes d'incubation à l'obscurité, la réaction enzymatique est interrompue par ajout d'une solution, dite « solution stop ». Le milieu de réaction se colore alors en jaune, la figure 18 témoigne de ce changement de coloration.

Figure 18 : Plaque ELISA après ajout de la "solution stop"



L'intensité colorimétrique est mesurée par spectrophotométrie à la longueur d'onde 450 nm. La figure 19 résume le déroulement du dosage ELISA compétitif pour le dosage de la copeptine.

Figure 19 : Dosage de la copeptine canine par ELISA compétitif (Kit AMS Bio)



Les concentrations en copeptine sont calculées ensuite grâce à une gamme d'échantillonnage établie au préalable. Les solutions étalons, de concentration massique connues, sont fournies dans le kit ELISA.

b. Calcul de l'osmolarité sanguine

La formule de calcul de l'osmolarité présentée dans la partie I.2.d.e est représentative de l'osmolarité sanguine réelle même lors d'azotémie ou d'hyperglycémie (Shiel, 2017b). Par ailleurs, la glycémie n'a pas été mesurée lors de l'étude. Les animaux recrutés étant sains, il est peu probable qu'ils présentent une hyperglycémie marquée entraînant une hyperosmolarité. En situation euglycémique, la glycémie joue un rôle mineur dans l'osmolarité sanguine, mais nous retiendrons que l'osmolarité calculée dans cette étude est sous-estimée. De même, en absence d'azotémie, l'urémie influence peu l'osmolarité sanguine. La formule retenue par la suite dans cette étude pour le calcul de l'osmolarité plasmatique est donc

$$\text{Osmolarité plasmatique calculée} = 2 \times Na$$

L'osmolarité plasmatique est exprimée en mOsm/L, la natrémie en mmol/L.

c. Mesure de la concentration en ADH

La concentration en ADH a été mesurée en parallèle de celle en copeptine lors protocoles de restriction hydrique et de stimulation par solution hypertonique. Le seuil de détection de l'ADH était de 0,5 pg/mL. Aussi, les concentrations en ADH inférieures à 0,5 pg/mL seront considérées égales à 0,5 pg/mL.

F. Analyses statistiques

Ce paragraphe détaille les modalités de présentation des résultats statistiques repris dans la suite de l'étude.

Les résultats descriptifs quantitatifs sont exprimés par une médiane accompagnée d'un minimum et d'un maximum. Les variables descriptives qualitatives sont exprimées par un pourcentage représentant un effectif. En raison de la semaine de « wash-out » effectuée sur la cohorte 2, nous supposons l'indépendance des deux protocoles.

Pour chaque test statistique réalisé, l'hypothèse H_0 correspond à l'absence de différence significative entre les deux populations étudiées. Le seuil de significativité est fixé à 5%. Lorsque la valeur-p est supérieure à 0,05, l'hypothèse H_0 est acceptée au risque β inconnu. Lorsque la valeur-p est inférieure à 0,05, l'hypothèse H_0 est rejetée au risque d'erreur α de 5%.

Un test de Wilcoxon pour séries appariées est utilisé afin de comparer les médianes d'osmolarité, de concentration en copeptine ou d'ADH à T0 et après la restriction hydrique, ou la stimulation hypertonique. Une corrélation entre l'osmolarité sanguine et la concentration en ADH ou copeptine est établie. La corrélation est évaluée par le calcul d'un coefficient de Pearson.

Le traitement des données et des analyses statistiques était réalisé l'aide du site internet BiostaTGV® et du logiciel Excel®.

4. Validation du kit « Canine Copeptin ELISA Kit »

A. Obtention des données brutes

Le plan de la plaque ELISA est représenté joint en Annexe . L'absorbance de chaque échantillon est reportée dans le Tableau 11 selon la position dans la plaque ELISA. La première ligne correspond aux absorbances du puit vide et de la gamme d'étalonnage.

Tableau 11 : Mesure de l'absorbance des échantillons par spectrophotométrie

0,055	1,967	1,572	1,495	1,182	1,413	0,922	0,791	0,756	0,414	0,365	0,173
0,188	1,089	1,057	1,588	1,645	1,863	1,935	1,672	1,722	0,418	0,415	0,382
0,375	0,664	0,568	0,612	0,639	0,574	0,547	0,485	0,478	0,668	0,459	0,585
0,533	0,644	0,607	0,563	0,496	0,873	0,891	0,84	0,842	0,398	0,368	0,349
0,343	0,625	0,6	0,682	0,663	0,522	0,562	0,483	0,481	0,47	0,476	0,578
0,562	0,553	0,534	0,595	0,663	0,758	0,79	1,139	1,037	1,548	1,62	1,568
1,597	0,936	0,905	0,809	0,828	0,633	0,461	0,582	0,549	1,603	1,56	1,51
1,342	1,581	1,525	1,539	1,567	1,588	1,512	1,416	1,427	1,038	0,92	0,893

La valeur de chaque échantillon est calculée par soustraction de l'absorbance du « blanc », correspondant au puit vide localisé à l'extrémité supérieure gauche de la figure 12, puis en réalisant la moyenne des deux duplicats.

Les différentes étapes pour l'obtention de l'absorbance pour chaque échantillon sont détaillées en Annexe .

B. Etablissement de la courbe standard

L'établissement de la courbe standard reliant la concentration en copeptine à l'absorbance (également appelé densité optique) s'est fait selon les recommandations du manuel d'utilisation du kit *ELISA CPP* de AMSBio (cf. Annexe 1).

Le choix des axes pouvant se faire arbitrairement, l'inverse de l'absorbance est représenté sur l'axe des abscisses, la concentration en copeptine a été représentée sur l'axe des ordonnées. Nous avons choisi de d'utiliser l'inverse de l'absorbance plutôt que l'absorbance afin que la courbe étalon soit une fonction strictement croissante.

La courbe standard est calculée à partir de six solutions étalons de concentration connues, respectivement de 0, 50, 100, 250, 500 et 1 000 pg/mL.

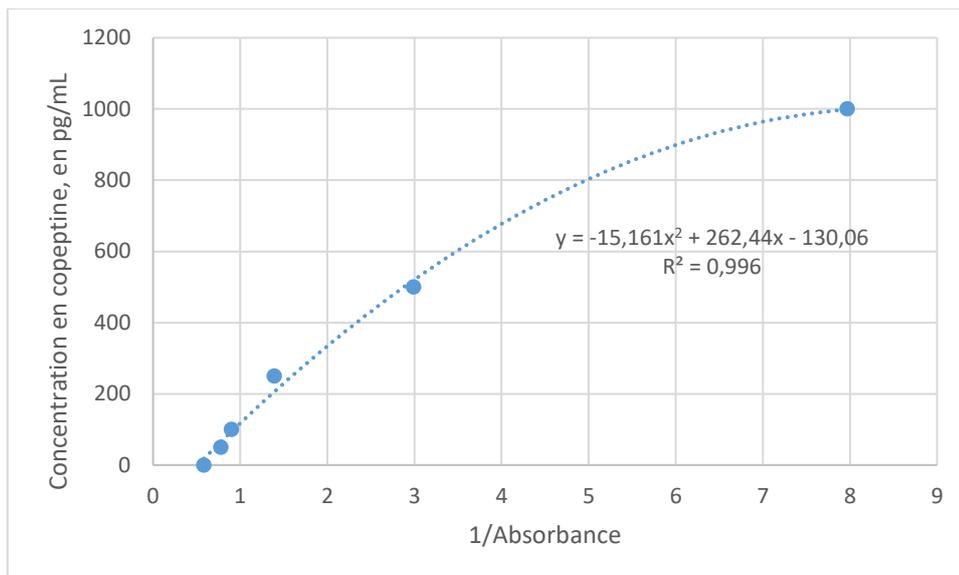
La modélisation a été calculée par une régression polynomiale de degré 2 fournie par le logiciel Excel. L'expression de la fonction associée à la courbe standard est

$$y = -29,64 x^2 + 517,07x - 241,23$$

Où x représente l'inverse de l'absorbance (grandeur sans unité) et y représente la concentration en copeptine (exprimée en pg/mL). Les coefficients du polynôme sont exprimés avec 5 chiffres significatifs.

La régression polynomiale est rapportée sur la figure 20.

Figure 20 : Courbe étalon reliant la concentration en copeptine à l'inverse de l'absorbance



Le coefficient de la courbe de régression polynomiale était très satisfaisant ($R^2 > 0,99$).

C. Test de linéarité

Afin de valider le kit ELISA *AMSBio*, un test de linéarité de la dilution a été réalisé. Un test de linéarité vise à estimer la justesse du test immunologique pour différentes concentrations. En théorie, la dilution d'un échantillon ne doit pas altérer la justesse et la précision d'une mesure (Andreasson *et al.*, 2015).

Trois dilutions successives ont été réalisées de sorte à obtenir une solution mère, une solution diluée à la moitié, une diluée au quart et une diluée au huitième de la concentration initiale. La qualité de la linéarité est considérée bonne si pour chaque échantillon, la concentration mesurée est proche de la concentration calculée. En pratique, une variation inférieure à 30% de la valeur théorique est jugée satisfaisante. Un article dédié à la qualité des tests ELISA (Thermo Fisher Scientific Inc, 2023) mentionne :

« La linéarité de la dilution est testée pour chaque type d'échantillon validé et est considérée comme bonne si les résultats sont compris entre 70 et 130% de la concentration attendue pour chaque dilution. »

L'échantillon qui a été choisi pour le test de linéarité est un sérum de chienne présentée au service des urgences du Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort pour un pyomètre, elle présentait par ailleurs une PUPD. La PUPD de ce chien fut supposé en lien avec un DIN secondaire d'origine bactérienne, les concentrations attendues en ADH et en copeptine étaient donc élevées.

Les résultats de la linéarité sont représentés dans la Tableau 12.

Tableau 12 : Résultats du test de linéarité

	1/Absorbance	Concentration mesurée en pg/mL	Concentration théorique en pg/mL	Rapport Mesuré/Théorique
Dilution 1:1	0,982	113,11	113,11	100,00%
Dilution 1:2	0,640	31,79	56,56	56,21%
Dilution 1:4	0,542	7,80	28,28	27,59%
Dilution 1:8	0,609	24,15	14,14	170,78%

On suppose que la concentration en copeptine mesurée dans la solution mère (« dilution 1 : 1 ») est proche de la concentration réelle. Les concentrations théoriques des différentes dilutions sont ensuite calculées à partir de cette concentration. Le rapport « mesuré/théorique » correspond au quotient de la concentration mesurée expérimentalement divisée par la concentration théorique. Ce rapport témoigne de la justesse de mesure du kit de dosage.

On observe que les concentrations mesurées diffèrent de plus de 30% par rapport à la concentration théorique. L'écart par rapport à la valeur théorique est respectivement de 44%, 73% et 71% pour les dilutions 1:2, 1:4 et 1:8. Le test de linéarité n'est donc pas satisfaisant pour l'exploitation des données.

Notons que la variation par rapport à la concentration théorique est plus grande pour les fortes dilutions, donc pour de faibles concentrations en copeptine. La concentration en copeptine de l'échantillon initiale étant élevée, nous pouvons supposer que la concentration en copeptine des dilutions est plus proche des concentrations physiologiques en copeptine. La justesse du test est donc médiocre pour des concentrations physiologiques de copeptine. Il s'agit donc d'une limitation majeure à l'interprétation du travail dont les objectifs étaient d'établir un intervalle de référence de la concentration en copeptine et d'étudier la conséquence d'une stimulation par hyperosmolarité.

Compte tenu des mauvais résultats de linéarité et du manque de recul sur la fiabilité de ce kit de dosage, il a été décidé de ne pas analyser les résultats quant à la copeptine dans la suite de ce manuscrit.

5. Etude de la concentration en ADH face à la restriction hydrique et stimulation hypertonique

A. Objectifs

En raison de la non-validation du kit « Canine Copeptin ELISA kit » nous avons décidé d'adapter les objectifs initiaux de ce travail à l'étude de l'ADH. Les objectifs de cette partie sont donc :

- Etudier et comparer l'évolution de l'osmolarité à la suite des protocoles de restriction hydrique et de stimulation par solution hypertonique
- Etablir un intervalle de référence de la concentration en ADH
- Etudier l'évolution de l'ADH à la suite de l'administration d'un soluté hypertonique
- Etudier l'évolution de l'ADH à la suite d'un protocole de restriction hydrique
- Etudier la corrélation entre osmolarité sanguine estimée et concentration sanguine en ADH

B. Comparaison de la capacité des protocoles à induire une hausse de l'osmolarité sanguine

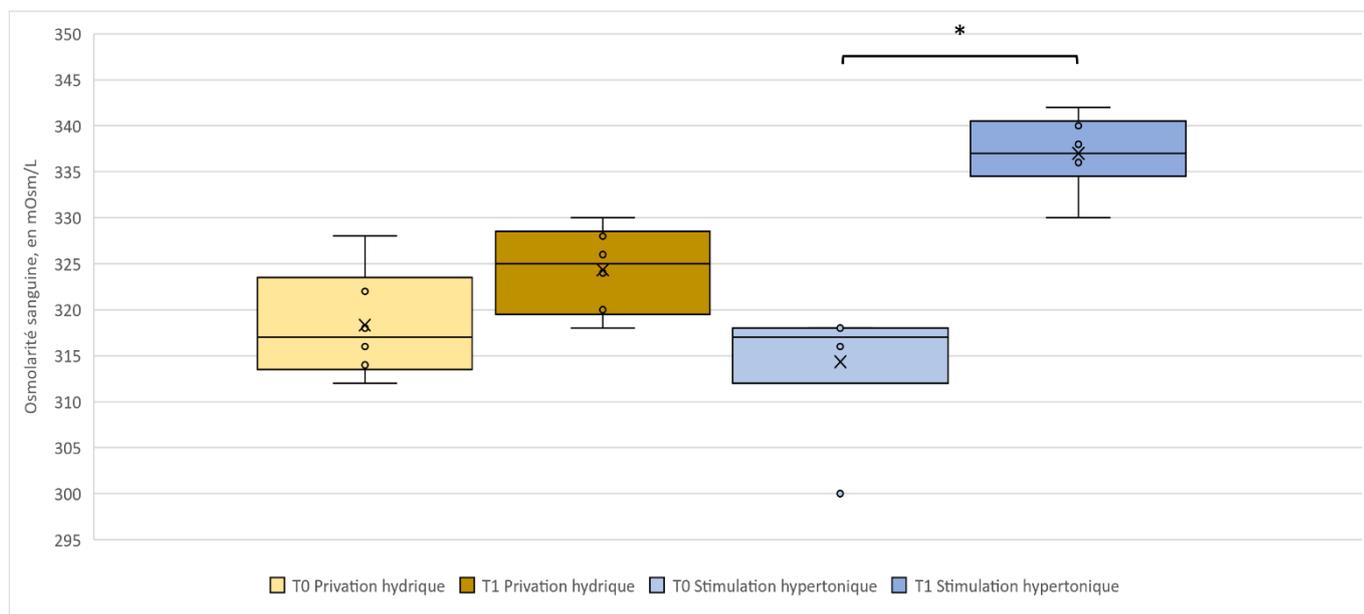
L'osmolarité sanguine a été calculée lors des protocoles de privation hydrique et de stimulation hypertonique réalisés sur la cohorte 1 et 2.

Dans la cohorte 1, l'osmolarité médiane à T0 est de 292 mOsm/L, l'osmolarité est comprise entre 286 et 296 mOsm/L. A T12, l'osmolarité médiane est 293 mOsm/L, l'osmolarité est comprise entre 288 et 301 mOsm/L. L'osmolarité à T12 n'est pas significativement différente de celle à T0 ($p = 0,38$). La durée de restriction était probablement insuffisante pour induire une augmentation de l'osmolarité sanguine.

Dans la cohorte 2 lors du protocole de privation hydrique, l'osmolarité médiane à T0 est de 317 mOsm/L, l'osmolarité est comprise entre 312 et 328 mOsm/L. Après privation hydrique, l'osmolarité médiane est 325 mOsm/L, l'osmolarité est comprise entre 318 et 330 mOsm/L. L'osmolarité après privation hydrique n'est pas différente de celle à T0 ($p = 0,15$). Dans la cohorte 2 lors du protocole d'infusion hypertonique, l'osmolarité médiane à T0 est 317 mOsm/L, l'osmolarité est comprise entre 300 et 318 mOsm/L. Après stimulation hypertonique, l'osmolarité médiane est 337 mOsm/L, l'osmolarité est comprise entre 330 et 342 mOsm/L. L'osmolarité après stimulation est significativement augmentée par rapport à T0 ($p = 0,03$).

La figure 21 représente l'évolution de l'osmolarité sanguine calculée à l'issu des protocoles de privation hydrique et de stimulation hypertonique.

Figure 21 : Osmolarité avant la réalisation et à l'issu des protocoles de privation hydrique et de infusion hypertonique réalisés sur la cohorte 2



Un astérisque (*) indique une différence significative.

Dans la cohorte 2, l'augmentation de l'osmolarité calculée est significativement plus élevée ($p = 0,04$) après la réalisation de la stimulation hypertonique (minimum = + 18 mOsm/L ; médiane = + 22 mOsm/L ; maximum = + 30 mOsm/L) qu'après la restriction hydrique (minimum = - 8 mOsm/L

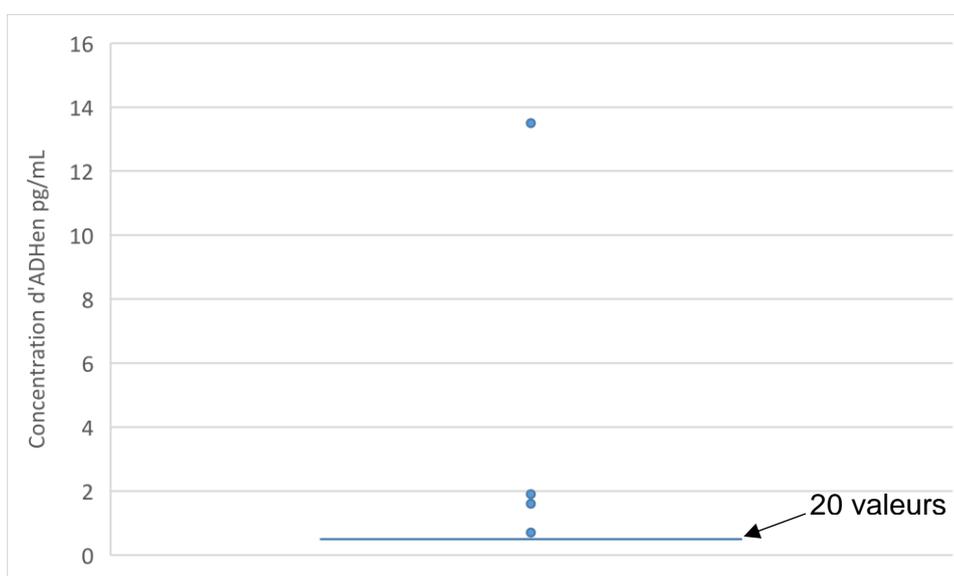
; médiane = + 7 mOsm/L ; maximum = + 16 mOsm/L). L'osmolarité calculée après restriction hydrique n'est pas significativement différente de l'osmolarité calculée avant restriction hydrique ($p = 0,15$). Nous supposons que la durée de la restriction hydrique était insuffisante pour induire une augmentation de la natrémie.

Ainsi le protocole d'infusion hypertonique a permis une plus nette augmentation de l'osmolarité sanguine calculée.

C. Concentration sanguine basale en ADH

La concentration basale en ADH a été mesurée chez les 12 chiens de la cohorte 3, et chez les six chiens de la cohorte 2 avant la réalisation de la privation hydrique ou de l'infusion hypertonique. Les concentrations en ADH s'étendent de 0,5 pg/mL à 13,5 pg/mL, soit 0,5 pmol/L à 13,5 pmol/L. La figure 22 décrit la répartition des concentrations basales en ADH.

Figure 22 : Répartition des concentrations en ADH



Près de 85% des individus ($n = 21$) ont une concentration en ADH inférieure à 1 pg/mL, c'est-à-dire proche du seuil de détection par le kit ELISA. Cette constatation est cohérente avec la faible sécrétion d'ADH en condition physiologique, lorsque l'osmolarité sanguine est comprise entre 280 mOsm/L et 300 mOsm/L (DiBartola, 2011).

Un chien présente une concentration en ADH supérieure à 2 pg/mL, la concentration mesurée est de 13,5 pg/mL. Il est probable que ce chien ait été déshydraté sans que cela soit détectable lors de l'examen clinique. Cette valeur est aberrante en comparaison des autres, elle n'est donc pas retenue par la suite.

La médiane de la concentration en ADH sur cet échantillon est 0,5 pg/mL. La distribution ne suivant pas une loi normale, la moyenne n'a pas été calculée.

La distribution de la concentration sanguine en ADH est similaire entre les mâles ($n = 14$; minimum = 0,5 pg/mL ; médiane = 0,5 pg/mL ; maximum = 1,6 pg/mL) et les femelles ($n = 9$; minimum = 0,5 pg/mL ; médiane = 0,5 pg/mL ; maximum = 1,9 pg/mL).

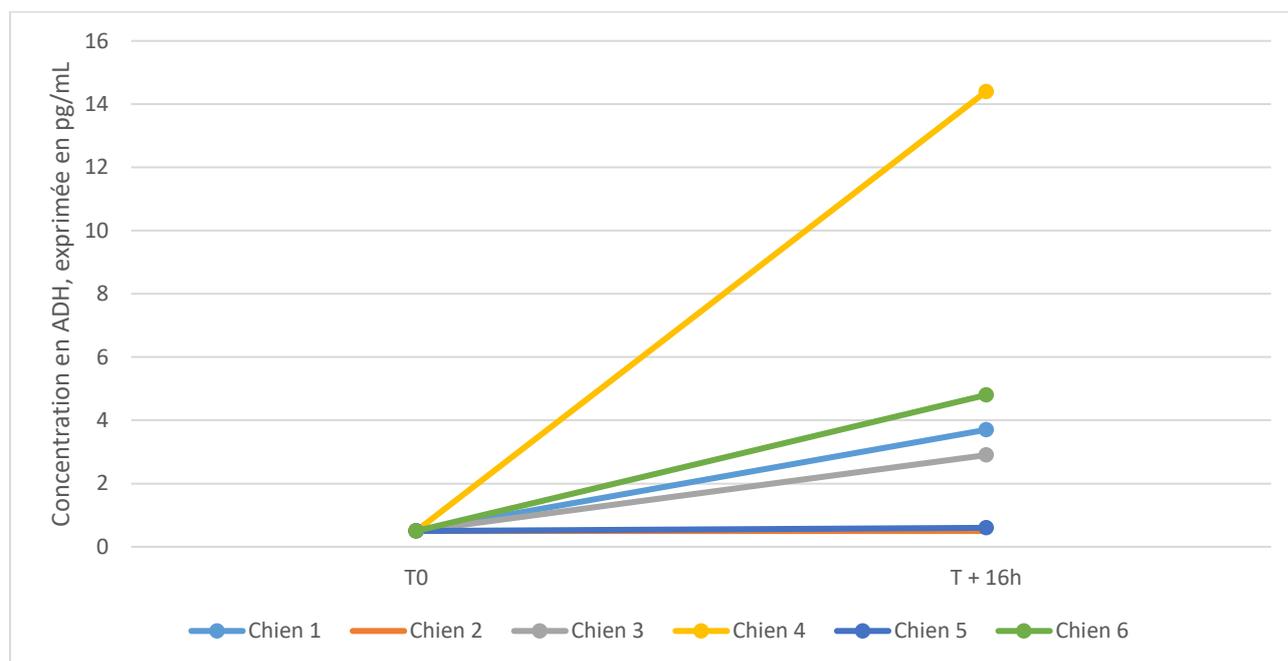
D. Evolution de la concentration en ADH lors de la variation de l'osmolarité sanguine

La concentration en ADH a été mesurée après privation hydrique et infusion hypertonique lors des deux protocoles mis en place pour la cohorte 2.

a. Privation hydrique

La concentration en ADH a été mesurée à l'initiation de la restriction hydrique (T0), puis après 16 heures de restriction hydrique (T16h). La Figure 23 représente l'évolution de la concentration en ADH lors de la restriction hydrique.

Figure 23 : Evolution de la concentration en ADH après de la restriction hydrique



A T0, les 6 chiens de la cohorte ont une concentration en ADH inférieure au seuil de détection du kit. Après restriction hydrique, 83% (n = 5) des individus ont une concentration sanguine en ADH supérieure à celle mesurée à T0. Parmi ces individus, l'augmentation médiane de la concentration en ADH est 3,2 pg/mL (minimum = 0,1 pg/mL ; maximum = 13,9 pg/mL). Seul le chien 2 a une concentration inférieure au seuil de détection à T0 et à T + 16h.

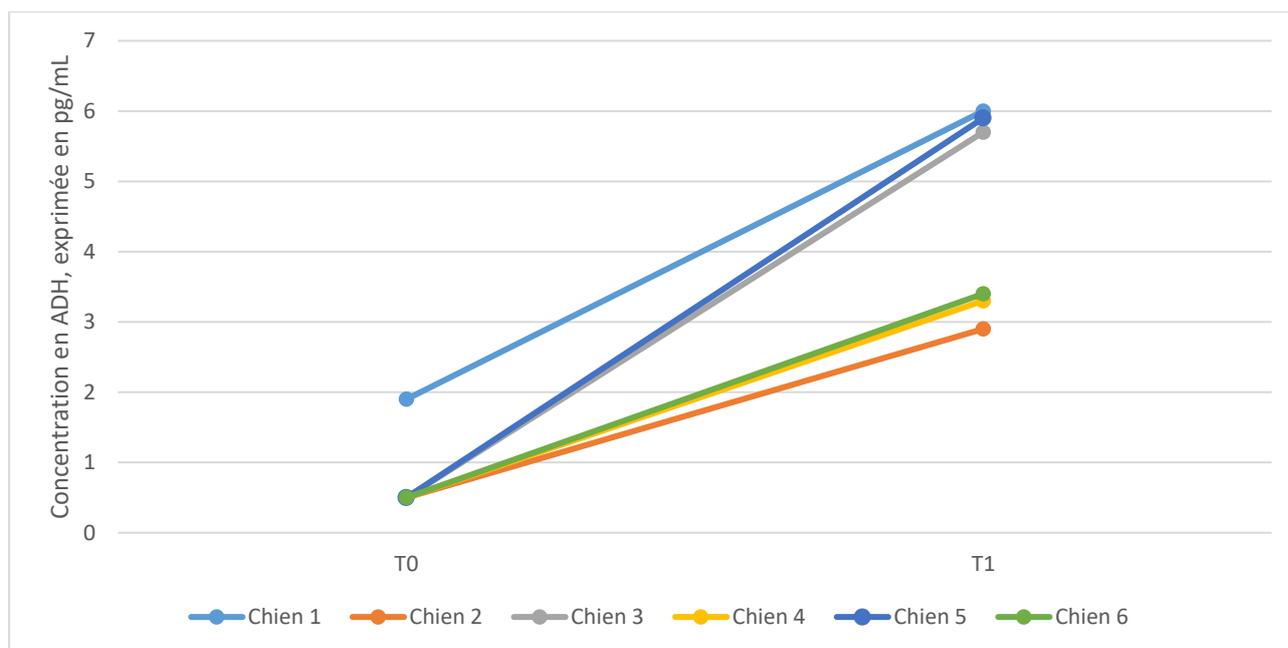
Le test de Wilcoxon pour séries appariées ne permet pas d'affirmer que la concentration en ADH à T0 est significativement différente de celle de T + 16h (p = 0,06). Cependant, compte tenu du nombre de sujet, un manque de puissance statistique est à considérer.

b. Stimulation hypertonique

La durée de la stimulation par infusion hypertonique était comprise entre 60 et 90 minutes, la durée médiane était de 90 minutes. Aucun test n'a durée 120 minutes puisque le seuil d'augmentation de la natrémie avait été atteint chez l'intégralité des chiens de la cohorte 2 en 90 minutes ou moins.

La Figure 24 représente l'évolution de la concentration en ADH avant et après réalisation de la stimulation par stimulation hypertonique dans la cohorte 2.

Figure 24 : Evolution de la concentration en ADH lors de stimulation hypertonique



A T0, 83% des chiens de la cohorte (n = 5) ont une concentration en ADH inférieure au seuil de détection (minimum = 0,5 pg/mL ; médiane = 0,5 pg/mL ; maximum = 1,9 pg/mL). Après stimulation hypertonique, la concentration en ADH est augmentée chez les 6 chiens de la cohorte, la concentration médiane après stimulation est 4,6 pg/mL (minimum = 2,9 pg/mL ; maximum = 6,0 pg/mL). L'augmentation médiane de la concentration en ADH est 3,5 pg/mL (minimum = 2,4 pg/mL ; maximum = 5,4 pg/mL).

Le test de Wilcoxon pour échantillons appariés entre la série à T0 et la série à T1 renvoie une valeur-p égale à 0,03. Ainsi, la concentration en ADH après stimulation par infusion hypertonique est significativement plus élevée que la concentration basale en ADH.

E. Corrélation entre l'osmolarité sanguine et la concentration en ADH

Dans ce paragraphe, nous étudions la corrélation entre l'osmolarité plasmatique calculée et la concentration en ADH. L'osmolarité plasmatique a été calculée pour l'ensemble des individus selon l'approximation détaillée dans la partie I.3.e.b.

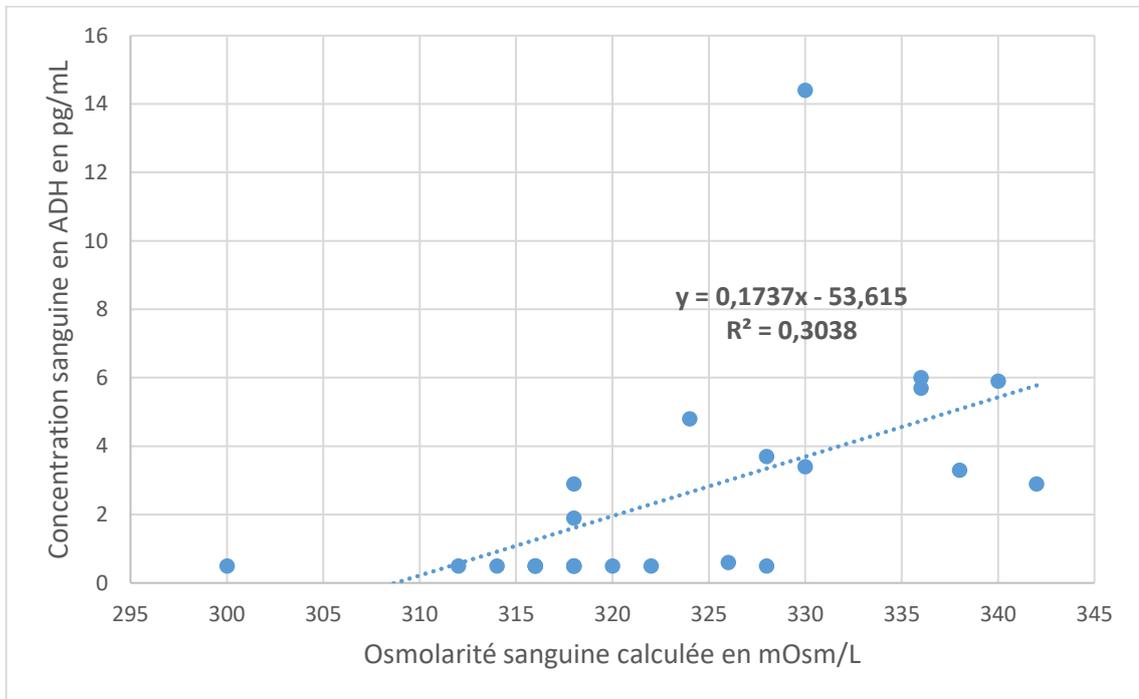
La formule employée pour calculer l'osmolarité ne prend pas en compte l'influence de la glycémie, ni de l'urémie. L'osmolarité est donc sous-estimée. Tous les individus de la cohorte ont une osmolarité calculée supérieure à 300 mOsm/L, et a fortiori une osmolarité réelle supérieure à 300 mOsm/L. Il est donc inattendu que les concentrations basales en ADH soient inférieures au seuil de détection du dosage puisque le seuil osmotique de sécrétion de l'ADH est estimé à 280 mOsm/L (DiBartola, 2011).

Un individu n'a pas vu sa concentration sanguine en ADH augmenter à la suite de la privation hydrique. Cette observation est cohérente avec son osmolarité calculée après privation hydrique (320 mOsm/L), plus faible que celle avant privation hydrique (328 mOsm/L).

La figure 25 illustre la corrélation entre l'osmolarité sanguine et la concentration en ADH. Sont représentés sur la Figure 25, les couples [concentration en ADH – osmolarité calculée] pour

chacun des 6 individus à T0 et T1 et pour les deux protocoles, soit 24 points au total. Le coefficient de corrélation est estimé à $r^2 = 0,304$. Ce coefficient de corrélation est proche de ceux rapportés dans l'étude de Biewenga et al. (1987), calculés à $r^2 = 0,336$ et $r^2 = 0,283$ respectivement pour le protocole de stimulation à l'hypertonique et pour le test de restriction hydrique.

Figure 25 : Concentration en ADH lors des protocoles de privation hydrique et infusion hypertonique selon l'osmolarité calculée



Nous retenons que 92% (n = 11) des concentrations avant privation hydrique ou infusion hypertonique sont inférieures au seuil de détection. Nous avons attribué arbitrairement à ces concentrations la valeur de 0,5 pg/mL, seuil de détection du dosage employé. Il est également probable que cela participe à la pauvre corrélation entre osmolarité sanguine et concentration en ADH.

6. Discussion

A. Retour sur le dosage de la copeptine : hypothèses expliquant le défaut de linéarité

A notre connaissance, il s'agit de la première étude traitant de l'intérêt de la copeptine dans la démarche diagnostique du DI. Compte tenu du faible recul sur le kit de dosage *ELISA CPP* de *AMSBio*, du test de linéarité insatisfaisant, il a été décidé de ne pas détailler les résultats quant au dosage de la copeptine. Ce choix est conforté par l'étude préliminaire réalisée à l'ENVA dont le test de linéarité était également non satisfaisant. Dans cette étude, la durée de restriction hydrique avait été jugée insuffisante (12 heures). Dans notre étude, la durée de la privation hydrique a été allongée afin de pallier cette critique. Puisque la mauvaise linéarité du dosage est répétable, nous faisons l'hypothèse que les qualités analytiques de ce kit sont insuffisantes.

Ces résultats de linéarité sont en contradiction avec ceux fournis par le laboratoire et présentés sur la Figure 26, dont la variation maximale est inférieure à 10% par rapport à la valeur théorique.

Figure 26 : Linéarité fournie par le manuel d'utilisation du kit CPP ELISA de AMSBio

Linearity:

	Range %
1:1	94 – 102
1:2	92 - 104
1:4	98 - 105
1:8	94 - 109

L'étude de Pierantoni et al. (2022) constitue la première étude faisant mention de la copeptine en médecine vétérinaire. Le kit de dosage employé est commercialisé par le laboratoire *BlueGene*. Si l'étude rapporte de faibles variations inter et intra-test, aucune mention n'est faite quant à l'étude de la linéarité. Également, la copeptine est dosée sur salive et non pas sur plasma. Cette publication apparaît donc peu pertinente pour notre discussion.

Il convient de formuler des hypothèses quant au désaccord entre nos résultats et ceux fournis par le laboratoire *AMSBio*.

Des erreurs pré-analytiques lors de la manipulation auraient pu altérer le bon déroulement du dosage ELISA. Cependant, les deux travaux réalisés à l'ENVA ont été supervisés par des encadrants entraînés à la réalisation de test ELISA, il est peu probable que le défaut de linéarité soit imputable par deux fois à des erreurs de manipulations.

Il est envisageable que le plasma retenu pour tester la linéarité ait une concentration en copeptine faible malgré le DIN secondaire. Cependant, la concentration de l'échantillon diluée au huitième est près de dix fois supérieure au seuil de détectabilité du kit ELISA. Cette hypothèse semble donc peu plausible.

Le choix de la gamme échantillon pourrait expliquer les mauvais résultats obtenus. Sous réserve que la concentration molaire de copeptine soit proche de celle de l'ADH compte tenu de la sécrétion équimolaire, la concentration attendue en copeptine est proche de 5 pmol/L (van Vonderen *et al.*, 1999). En comparaison, la solution étalon la plus faiblement concentrée du kit a une concentration 50 pg/mL. Nous avons calculé la masse molaire de la copeptine canine à partir de la séquence nucléotidique via l'outil en ligne "Peptide Mass Calculator (Peptide Protein Research (PPR Ltd)," n.d.). Le logiciel renvoie une masse molaire de 5 015 g/mol soit 5 015 Da. La masse molaire de la copeptine humaine est comprise entre 4 000 et 5 000 (Wallis, 2012), compte tenu de la forte homologie entre la copeptine humaine et la copeptine canine, il est en effet envisageable que la masse molaire de la copeptine canine soit proche de 5 000 Da. Nous trouvons donc une concentration molaire d'environ 10 pmol/L pour la solution étalon mentionnée. Ainsi, la gamme de concentration correspond davantage à des concentrations rencontrées en situation pathologique, ce qui pourrait induire un biais de mesure.

B. Retour sur le dosage de l'ADH

Une mauvaise corrélation entre l'osmolarité et la concentration sanguine en ADH est décrite dans la littérature (Biewenga *et al.*, 1987; van Vonderen *et al.*, 2004). Le coefficient de corrélation obtenu dans ce travail va également dans ce sens.

Plus de 80% (n = 20) des plasmas utilisés pour calculer la concentration basale en ADH avaient une concentration inférieure au seuil de détectabilité, soit 0,5 pmol/L. Les valeurs obtenues dans ce travail ne sont pas comprises dans l'intervalle de référence de [1 ; 6] pmol/L proposé par van Vonderen *et al.* (1999). Malgré les précautions prises, il est envisageable que certaines conditions pré-analytiques, en particulier le délai avant congélation du plasma, soient insatisfaisantes. Compte tenu de la faible demi-vie de l'ADH, cela amène à sous-estimer la concentration réelle par dégradation de l'ADH.

Une hausse significative de la concentration d'ADH a été constatée à la suite de l'infusion hypertonique tandis que la concentration d'ADH avant et après restriction hydrique n'étaient pas significativement différentes. Par conséquent, il semble que l'infusion hypertonique soit plus intéressante dans la démarche diagnostique du DI. Ces résultats sont toutefois à confirmer sur des animaux présentant un DI.

Conclusion

Le diabète insipide (DI) reconnaît une origine centrale et une origine périphérique. Le diabète insipide central (DIC) est une affection rare en médecine vétérinaire. Le diabète insipide néphrogénique (DIN) secondaire est une entité fréquente tandis que le DIN primaire est exceptionnel. Cliniquement, le DI s'exprime par une polyuro-polydipsie (PUPD) est majeure, souvent plus de quatre fois la prise de boisson moyenne, si bien que l'accès à l'eau est fréquemment restreint par le propriétaire. Des manifestations neurologiques sont également fréquemment rapportées, en lien soit avec des troubles de l'osmolarité sanguine soit avec des affections intracrâniennes à l'origine du DI (Harb *et al.*, 1996). Le diagnostic d'abord consiste en l'exclusion des causes fréquentes de PUPD, puis en la distinction entre DIC, DIN primaire et polydipsie psychogène. La différence entre ces trois entités pathologiques repose sur l'étude de la réponse de l'organisme à une déshydratation puis à l'administration de desmopressine.

Trois études rétrospectives traitant du DIC sont présentes dans la littérature vétérinaire notre connaissance (Harb *et al.*, 1996; Aroch *et al.*, 2005; Nelson, 2014). Les descriptions de DIN se limitent à des rapports de cas (Luzius *et al.*, 1992; Takemura, 1998). La présente étude menée sur dix chiens et huit chats reçus en consultation ou hospitalisés au Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort (CHUVA) entre le 1^{er} janvier 2003 et le 31 décembre 2022. L'objectif était de décrire l'évolution de la démarche diagnostique et thérapeutique employée au CHUVA. La présentation clinique et paraclinique des animaux de notre cohorte était proche de celle rapportée dans la littérature à quelques points près. Les formes partielles de DIC étaient largement majoritaires par rapport aux cas de DIC complets. L'origine traumatique ou chirurgicale, fréquemment rapportée dans la littérature, n'était pas décrite dans notre étude. Une hypermagnésémie, non rapportée dans la littérature, était fréquente dans notre cohorte. Enfin, nous avons mis en évidence une diminution du recours au test de restriction hydrique en faveur du test à l'épreuve thérapeutique. Si ce dernier test présente l'intérêt d'être moins risqué, son apport diagnostique est plus limité que le test de restriction hydrique. Cela nous a amené à envisager une alternative, déjà bien étudiée en médecine humaine : le dosage de la copeptine.

La copeptine est la partie N-terminale de la séquence nucléotidique de la pré-pro-ADH, elle présente l'avantage, entre autres, d'avoir une demi-vie plus longue ce qui facilite son dosage en comparaison à celui de l'ADH. Notre étude visait à valider un kit de dosage ELISA de la copeptine sur des chiens sains en décrivant la concentration en copeptine selon l'osmolarité sanguine et la corrélation entre les concentrations en ADH et en copeptine. Au moment de l'écriture de cette thèse, ce travail constitue la première étude vétérinaire sur l'intérêt de la copeptine dans le diagnostic du DI. Les qualités diagnostiques de ce kit étaient insuffisantes. C'est pourquoi, nous avons estimé que les résultats obtenus n'étaient pas interprétables. Il s'agit cependant de la première étude conduisant à de telles conclusions, aussi d'autres travaux similaires seraient requis afin de confirmer ou d'infirmer nos résultats. Également, un second kit de dosage de la copeptine est disponible en médecine vétérinaire commercialisé par le laboratoire *BlueGene*, il serait pertinent donc de reproduire une telle étude avec ce second kit de dosage.

Le DI demeure un défi diagnostique en médecine vétérinaire. Compte tenu des avancées faites en médecine humaine dans ce domaine depuis la mise en place de protocole reposant sur la copeptine, la copeptine apparaît comme une piste de recherche prometteuse pour la médecine vétérinaire.

Liste des références bibliographiques

- ADITYA, S., RATTAN, A. (2012) Vaptans: A new option in the management of hyponatremia. *International Journal of Applied and Basic Medical Research* vol. 2, n° 2, p. 77-83. [https://doi.org/10.4103/2229-516X.106347]
- ANDREASSON, U., PERRET-LIAUDET, A., VAN WAALWIJK VAN DOORN, L.J.C., *et al.* (2015) A Practical Guide to Immunoassay Method Validation. *Frontiers in Neurology* vol. 6, n° 1, p. 179. [https://doi.org/10.3389/fneur.2015.00179]
- AOYAGI, T., BIRUMACHI, J., HIROYAMA, M., *et al.* (2007) Alteration of Glucose Homeostasis in V1a Vasopressin Receptor-Deficient Mice. *Endocrinology* vol. 148, n° 5, p. 2075-2084. [https://doi.org/10.1210/en.2006-1315]
- AOYAGI, T., IZUMI, Y., HIROYAMA, M., *et al.* (2008) Vasopressin regulates the renin-angiotensin-aldosterone system via V1a receptors in macula densa cells. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* vol. 295, n° 1, p. F100-F107. [https://doi.org/10.1152/ajprenal.00088.2008]
- AROCH, I., MAZAKI-TOVI, M., SHEMESH, O., *et al.* (2005) Central diabetes insipidus in five cats: clinical presentation, diagnosis and oral desmopressin therapy. *Journal of Feline Medicine and Surgery* vol. 7, n° 6, p. 333-339. [https://doi.org/10.1016/j.jfms.2005.03.008]
- BALANESCU, S., KOPP, P., GASKILL, M.B., *et al.* (2011) Correlation of plasma copeptin and vasopressin concentrations in hypo-, iso-, and hyperosmolar States. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* vol. 96, n° 4, p. 1046-1052. [https://doi.org/10.1210/jc.2010-2499]
- BALLING, L., GUSTAFSSON, F. (2014) Copeptin as a biomarker in heart failure. *Biomarkers in Medicine* vol. 8, n° 6, p. 841-854. [https://doi.org/10.2217/bmm.14.50]
- BARR, S.C. (1985) Pituitary tumour causing multiple endocrinopathies in a dog. *Australian Veterinary Journal* vol. 62, n° 4, p. 127-129. [https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1985.tb07260.x]
- BARRON, C.N., SAUNDERS, L.Z. (1966) Visceral Larva Migrans in the Dog. *Pathologia Veterinaria* vol. 3, n° 4, p. 315-330. [https://doi.org/10.1177/030098586600300402]
- BATEMAN, S. (2011) Disorders of Magnesium : Magnesium Deficit and Excess. In DiBartola S.P., *Fluid, Electrolytes and Acid - Base Disorders*, 4th ed. Saint-Louis, Missouri, Elsevier, p. 212-229.
- BEAVIS, R.C. (2023) Peptide Mass Calculator - Peptide Protein Research (PPR Ltd). In *Peptide Synthetics*. [https://www.peptidesynthetics.co.uk/tools/] (consulté le 24/04/2023).
- BELLIS, T., DALY, M., DAVIDSON, B. (2015) Central diabetes insipidus following cardiopulmonary arrest in a dog. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* vol. 25, n° 6, p. 745-750. [https://doi.org/10.1111/vec.12398]
- BERL, T., CADNAPAPHORNCHAI, P., HARBOTTLE, J.A., *et al.* (1974) Mechanism of suppression of vasopressin during alpha-adrenergic stimulation with norepinephrine. *The Journal of Clinical Investigation* vol. 53, n° 1, p. 219-227. [https://doi.org/10.1172/JCI107541]
- BHANDARI, S.S., LOKE, I., DAVIES, J.E., *et al.* (2009) Gender and renal function influence plasma levels of copeptin in healthy individuals. *Clinical Science* vol. 116, n° 3, p. 257-263. [https://doi.org/10.1042/CS20080140]
- BIEWENGA, W.J., BROM, W.E. van den, MOL, J.A. (1987) Vasopressin in Polyuric Syndromes in the Dog. *Comparative Pathophysiology of Regulatory Peptides* vol. 17, p. 139-148. [https://doi.org/10.1159/000414827]
- BIEWENGA, W.J., RIJNBERK, A., MOL, J.A. (1991) Osmoregulation of systemic vasopressin release during long-term glucocorticoid excess: a study in dogs with hyperadrenocorticism. *Acta Endocrinologica* vol. 124, n° 5, p. 583-588. [https://doi.org/10.1530/acta.0.1240583]
- BIRNBAUMER, M. (2000) Vasopressin receptors. *Trends in Endocrinology and Metabolism* vol. 11, n° 10, p. 406-410. [https://doi.org/10.1016/s1043-2760(00)00304-0]

- BOUILLON, J., SNEAD, E., CASWELL, J., *et al.* (2018) Pyelonephritis in Dogs: Retrospective Study of 47 Histologically Diagnosed Cases (2005–2015). *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 32, n° 1, p. 249-259. [<https://doi.org/10.1111/jvim.14836>]
- BOULKEROUA, C., AYARI, H., KHALFAOUI, T., *et al.* (2019) Apelin-13 Regulates Vasopressin-Induced Aquaporin-2 Expression and Trafficking in Kidney Collecting Duct Cells. *Cellular Physiology and Biochemistry* vol. 53, n° 4, p. 687-700. [<https://doi.org/10.33594/000000165>]
- CAMPBELL, F.E., BREDHAUER, B. (2008) Trauma-induced central diabetes insipidus in a cat. *Australian Veterinary Journal* vol. 86, n° 3, p. 102-105. [<https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2007.00214.x>]
- CARMICHAEL, J.D. (2021) Central Diabetes Insipidus - Endocrine and Metabolic Disorders. In *MSD Manual Professional Edition*. [<https://www.msdmanuals.com/professional/endocrine-and-metabolic-disorders/pituitary-disorders/central-diabetes-insipidus>] (consulté le 09/07/2022).
- CHAUVET, M.T., CHAUVET, J., ACHER, R. (1986) Guinea pig copeptin. The glycopeptide domain of the vasopressin precursor. *FEBS Letters* vol. 197, n° 1-2, p. 169-172. [[https://doi.org/10.1016/0014-5793\(86\)80320-9](https://doi.org/10.1016/0014-5793(86)80320-9)]
- CHOU, Y.-C., WANG, T.-Y., CHOU, L.-W., *et al.* (2011) Diabetes Insipidus and Traumatic Brain Injury. In Kyuzi K., *Diabetes Insipidus*. Londres, IntechOpen, p. 11-22. [<https://doi.org/10.5772/22309>]
- CHRIST-CRAIN, M., FENSKE, W.K. (2020) Copeptin in the differential diagnosis of hypotonic polyuria. *Journal of Endocrinological Investigation* vol. 43, n° 1, p. 21-30. [<https://doi.org/10.1007/s40618-019-01087-6>]
- COHEN, M., POST, G.S. (1999) Nephrogenic diabetes insipidus in a dog with intestinal leiomyosarcoma. *Journal of the American Veterinary Medical Association* vol. 215, n° 12, p. 1818-1820, 1806.
- CROTON, C., PURCELL, S., SCHOEP, A., *et al.* (2019) Successful Treatment of Transient Central Diabetes Insipidus following Traumatic Brain Injury in a Dog. *Case Reports in Veterinary Medicine* vol. 2019, p. 3563675. [<https://doi.org/10.1155/2019/3563675>]
- CROWTHER, J.R. (2009) Competitive ELISA. In *The ELISA Guidebook*, 2nd ed. New York, Hertforshire, Humana Press, p. 21-25.
- DAVENPORT, D.J., CHEW, D.J., JOHNSON, G.C. (1986) Diabetes insipidus associated with metastatic pancreatic carcinoma in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* vol. 189, n° 2, p. 204-205.
- DEGREGORI, E., PIPPI, M., MOURA, A., *et al.* (2020) Evidence of Pituitary Hypoplasia Associated with Partial Central Diabetes Insipidus in a Young Persian Cat. *Acta Scientiae Veterinariae* vol. 48, p. 541. [<https://doi.org/10.22456/1679-9216.104148>]
- DETTWILER, M., BOREL, N., SCHÄFER, S., *et al.* (2019) Uncommon thalamic metastasis of an osteosarcoma causing central diabetes insipidus in a young barsoi dog. *Veterinary Record Case Reports* vol. 7, n° 1, p. e000717. [<https://doi.org/10.1136/vetreccr-2018-000717>]
- DEWAY, C. (2016) Neurodiagnostics. In da Costa R., *Practical Guide to Canine and Feline Neurology*, 3rd ed. Ames, Iowa, Wiley Blackwell, p. 61-86.
- DIBARTOLA, S.P. (2011) Disorders of Sodium and Water: Hyponatremia and Hyponatremia. In *Fluid, Electrolytes and Acid - Base Disorders*, 4th ed. Saint-Louis, Missouri, Elsevier, p. 45-79.
- DUNBAR, M., WARD, B. (1983) Hyperadrenocorticism associated with diabetes insipidus and hypothyroidism in a dog. *Journal of the American Animal Hospital Association* vol. 18, n° 1, p. 737-741.
- DUPERRIER, C., FUSELLIER, M., LENAERTS, H., *et al.* (2020) A case of central diabetes insipidus associated with a congenital cyst of the sella turcica in a young cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports* vol. 6, n° 2. [<https://doi.org/10.1177/2055116920935017>]
- ETISH, J.L., CHAPMAN, P.S., KLAG, A.R. (2014) Acquired nephrogenic diabetes insipidus in a dog with leptospirosis. *Irish Veterinary Journal* vol. 67, n° 1, p. 7. [<https://doi.org/10.1186/2046-0481-67-7>]
- EVENHUIS, J., EPSTEIN, S.E., DELLA-MAGGIORE, A., *et al.* (2021) Congenital pituitary cyst resulting in adipsic central diabetes insipidus and secondary hypernatremia in a cat. *Journal*

- of *Feline Medecine and Surgery open reports* vol. 7, n° 1. [https://doi.org/10.1177/2055116921990294]
- FENN, J., KENNY, P.J., SCUDDER, C.J., *et al.* (2021) Efficacy of hypophysectomy for the treatment of hypersomatotropism-induced diabetes mellitus in 68 cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 35, n° 2, p. 823-833. [https://doi.org/10.1111/jvim.16080]
- FENSKE, W., ALLOLIO, B. (2012) Clinical review: Current state and future perspectives in the diagnosis of diabetes insipidus: a clinical review. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* vol. 97, n° 10, p. 3426-3437. [https://doi.org/10.1210/jc.2012-1981]
- FENSKE, W., QUINKLER, M., LORENZ, D., *et al.* (2011) Copeptin in the differential diagnosis of the polydipsia-polyuria syndrome--revisiting the direct and indirect water deprivation tests. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* vol. 96, n° 5, p. 1506-1515. [https://doi.org/10.1210/jc.2010-2345]
- FENSKE, W., REFARDT, J., CHIFU, I., *et al.* (2018) A Copeptin-Based Approach in the Diagnosis of Diabetes Insipidus. *New England Journal of Medicine* vol. 379, n° 5, p. 428-439. [https://doi.org/10.1056/NEJMoa1803760]
- FENSKE, W.K., SCHNYDER, I., KOCH, G., *et al.* (2018) Release and Decay Kinetics of Copeptin vs AVP in Response to Osmotic Alterations in Healthy Volunteers. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* vol. 103, n° 2, p. 505-513. [https://doi.org/10.1210/jc.2017-01891]
- FINKEN, M.J.J., ZWAVELING-SOONAWALA, N., WALENKAMP, M.J.E., *et al.* (2011) Frequent occurrence of the triphasic response (diabetes insipidus/hyponatremia/diabetes insipidus) after surgery for craniopharyngioma in childhood. *Hormone Research in Paediatrics* vol. 76, n° 1, p. 22-26. [https://doi.org/10.1159/000324115]
- FLAHAULT, A., COUVINEAU, P., ALVEAR-PEREZ, R., *et al.* (2017) Role of the Vasopressin/Apelin Balance and Potential Use of Metabolically Stable Apelin Analogs in Water Metabolism Disorders. *Frontiers in Endocrinology* vol. 8, p. 120. [https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00120]
- FOX, S. (2018) Endocrine Gland. In Rompolski K., Fox S., *Human Physiology*, 15th ed. Chicago, McGraw-Hill, p. 316-358.
- GALAC, S. (2017) Pheochromocytoma. In Feldman E.C., Côté E., Ettinger S. J., *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 8th ed. Saint-Louis, Missouri, Elsevier, p. 4447-4457.
- GILOR, C., GRAVES, T.K. (2011) Interpretation of Laboratory Tests for Canine Cushing's Syndrome. *Topics in Companion Animal Medicine* vol. 26, n° 2, p. 98-108. [https://doi.org/10.1053/j.tcam.2011.03.001]
- GLAVAŠ, M., GITLIN-DOMAGALSKA, A., DEBOWSKI, D., *et al.* (2022) Vasopressin and Its Analogues: From Natural Hormones to Multitasking Peptides. *International Journal of Molecular Sciences* vol. 23, n° 6, p. 3068. [https://doi.org/10.3390/ijms23063068]
- GOLDFARB, S., AGUS, Z.S. (1984) Mechanism of the Polyuria of Hypercalcemia. *American Journal of Nephrology* vol. 4, n° 2, p. 69-76. [https://doi.org/10.1159/000166780]
- GOOSSENS, M.M.C., RIJNBERK, A., MOL, J.A., *et al.* (1995) Central Diabetes Insipidus in a Dog With a Pro-Opiomelanocortin-Producing Pituitary Tumor ot Causing Hyperadrenocorticism. *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 9, n° 5, p. 361-365. [https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1995.tb01099.x]
- GRECO, D.S., STABENFELDT, G.H. (2012) The Endocrine System. In Klein B.G., *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology*, 5th ed. Saint-Louis, Missouri, Elsevier Health Sciences, p. 350-373.
- GUBBI, S., HANNAH-SHMOUNI, F., KOCH, C.A., *et al.* (2000) Diagnostic Testing for Diabetes Insipidus. In *Endotext*. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537591/] (consulté le 17/07/2023).
- HAGMAN, R. (2018) Pyometra in Small Animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* vol. 48, n° 4, p. 639-661. [https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.03.001]
- HANSON, J.M., VAN 'T, H.M.M., VOORHOUT, G., *et al.* (2005) Efficacy of transsphenoidal hypophysectomy in treatment of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 19, n° 5, p. 687-694. [https://doi.org/10.1892/0891-6640(2005)19[687:eothit]2.0.co;2]

- HARA, Y., MASUDA, H., TAODA, T., *et al.* (2003) Prophylactic efficacy of desmopressin acetate for diabetes insipidus after hypophysectomy in the dog. *The Journal of Veterinary Medical Science* vol. 65, n° 1, p. 17-22. [<https://doi.org/10.1292/jvms.65.17>]
- HARB, M.F., NELSON, R.W., FELDMAN, E.C., *et al.* (1996) Central diabetes insipidus in dogs: 20 cases (1986-1995). *Journal of the American Veterinary Medical Association* vol. 209, n° 11, p. 1884-1888.
- HARDY, R.M. (1982) Disorders of Water Metabolism. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* vol. 12, n° 3, p. 353-373. [[https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(82\)50050-2](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(82)50050-2)]
- HECHANOVA, A. (2022) Nephrogenic Diabetes Insipidus - Genitourinary Disorders. In *MSD Manual Professional Edition*. [<https://www.msdmanuals.com/professional/genitourinary-disorders/renal-transport-abnormalities/nephrogenic-diabetes-insipidus>] (consulté le 09/07/2022).
- HOLWERDA, D.A. (1972) A glycopeptide from the posterior lobe of pig pituitaries. I. Isolation and characterization. *European Journal of Biochemistry* vol. 28, n° 3, p. 334-339. [<https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1972.tb01918.x>]
- KHOSITSETH, S., CHARNGKAEW, K., BOONKRAI, C., *et al.* (2017) Hypercalcemia induces targeted autophagic degradation of aquaporin-2 at the onset of nephrogenic diabetes insipidus. *Kidney International* vol. 91, n° 5, p. 1070-1087. [<https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.12.005>]
- KHOSITSETH, S., UAWITHYA, P., SOMPARN, P., *et al.* (2015) Autophagic degradation of aquaporin-2 is an early event in hypokalemia-induced nephrogenic diabetes insipidus. *Scientific Reports* vol. 5, n° 1, p. 18311. [<https://doi.org/10.1038/srep18311>]
- KIM, G.-H., ECELBARGER, C.A., MITCHELL, C., *et al.* (1999) Vasopressin increases Na-K-2Cl cotransporter expression in thick ascending limb of Henle's loop. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* vol. 276, n° 1, p. F96-F103. [<https://doi.org/10.1152/ajprenal.1999.276.1.F96>]
- KOSHIMIZU, T., NASA, Y., TANOUE, A., *et al.* (2006) V1a vasopressin receptors maintain normal blood pressure by regulating circulating blood volume and baroreflex sensitivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* vol. 103, n° 20, p. 7807-7812. [<https://doi.org/10.1073/pnas.0600875103>]
- LENG, G., SABATIER, N. (2016) Measuring Oxytocin and Vasopressin: Bioassays, Immunoassays and Random Numbers. *Journal of Neuroendocrinology* vol. 28, n° 10, p. 10.1111/jne.12413. [<https://doi.org/10.1111/jne.12413>]
- LEVY, M., PRENTICE, M., WASS, J. (2019) Diabetes insipidus. *BMJ (Clinical research ed.)* vol. 364, p. l321. [<https://doi.org/10.1136/bmj.l321>]
- LUNN, K.F., JAMES, K.M., GUNN-MOORE, D., *et al.* (2013) Diabetes Insipidus and Polyuria/Polydipsia in Dogs. Diabetes Insipidus in Cats. In Rand, J. (Éd.), *Clinical Endocrinology of Companion Animals*. Ames, Iowa, Wiley-Blackwell, p. 436-457.
- LUZIUS, H., JANS, D.A., GRÜNBAUM, E.-G., *et al.* (1992) A Low Affinity Vasopressin V₂-Receptor in Inherited Nephrogenic Diabetes Insipidus. *Journal of Receptor Research* vol. 12, n° 3, p. 351-368. [<https://doi.org/10.3109/10799899209074800>]
- MADDENS, B., DAMINET, S., SMETS, P., *et al.* (2010) Escherichia coli pyometra induces transient glomerular and tubular dysfunction in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 24, n° 6, p. 1263-1270. [<https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0603.x>]
- MALVEN, P.V. (1993) Neurohypophysis. In *Mammalian Neuroendocrinology*. Boca Raton, Florida, CRC Press, p. 21-35.
- MCGROTTY, Y., RANDELL, S. (2019) Diagnostic approach to polyuria and polydipsia in dogs. In *Practice* vol. 41, n° 6, p. 249-258. [<https://doi.org/10.1136/inp.l4418>]
- MEIJ, B.P., VOORHOUT, G., GERRITSEN, R.J., *et al.* (2012) Lymphocytic Hypophysitis in a Dog with Diabetes Insipidus. *Journal of Comparative Pathology* vol. 147, n° 4, p. 503-507. [<https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2012.04.006>]
- MEIJ, B.P., VOORHOUT, G., INGH, T., *et al.* (1998) Results of Transsphenoidal Hypophysectomy in 52 Dogs With Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism. *Veterinary Surgery* vol. 27, n° 3, p. 246-261. [<https://doi.org/10.1111/j.1532-950X.1998.tb00123.x>]

- MEIJ, B.P., VOORHOUT, G., VAN DEN INGH, T.S., *et al.* (2001) Transsphenoidal hypophysectomy for treatment of pituitary-dependent hyperadrenocorticism in 7 cats. *Veterinary Surgery* vol. 30, n° 1, p. 72-86. [<https://doi.org/10.1053/jvet.2001.17843>]
- MENCHETTI, M., RISIO, L.D., GALLI, G., *et al.* (2019) Neurological abnormalities in 97 dogs with detectable pituitary masses. *Veterinary Quarterly* vol. 39, n° 1, p. 57-64. [<https://doi.org/10.1080/01652176.2019.1622819>]
- MEZEY, E., KISS, J.Z. (1991) Coexpression of vasopressin and oxytocin in hypothalamic supraoptic neurons of lactating rats. *Endocrinology* vol. 129, n° 4, p. 1814-1820. [<https://doi.org/10.1210/endo-129-4-1814>]
- MORGENTHALER, N.G., STRUCK, J., ALONSO, C., *et al.* (2006) Assay for the measurement of copeptin, a stable peptide derived from the precursor of vasopressin. *Clinical Chemistry* vol. 52, n° 1, p. 112-119. [<https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.060038>]
- MORTON, J.J., PADFIELD, P.L., FORSLING, M.L. (1975) A radioimmunoassay for plasma arginine-vasopressin in man and dog: application to physiological and pathological states. *The Journal of Endocrinology* vol. 65, n° 3, p. 411-424. [<https://doi.org/10.1677/joe.0.0650411>]
- MOSES, A.M., CLAYTON, B. (1993) Impairment of osmotically stimulated AVP release in patients with primary polydipsia. *The American Journal of Physiology* vol. 265, n° 6 Pt 2, p. R1247-1252. [<https://doi.org/10.1152/ajpregu.1993.265.6.R1247>]
- MUELLER, C., MÖCKEL, M., GIANNITSIS, E., *et al.* (2018) Use of copeptin for rapid rule-out of acute myocardial infarction. *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care* vol. 7, n° 6, p. 570-576. [<https://doi.org/10.1177/2048872617710791>]
- NADAL, J., CHANNAVAJJHALA, S.K., JIA, W., *et al.* (2018) Clinical and Molecular Features of Thiazide-Induced Hyponatremia. *Current Hypertension Reports* vol. 20, n° 4, p. 31. [<https://doi.org/10.1007/s11906-018-0826-6>]
- NAKAMURA, K., VELHO, G., BOUBY, N. (2017) Vasopressin and metabolic disorders: translation from experimental models to clinical use. *Journal of Internal Medicine* vol. 282, n° 4, p. 298-309. [<https://doi.org/10.1111/joim.12649>]
- NELSON, R.W. (2014) Water Metabolism and Diabetes Insipidus. In Feldman E.C., *Canine & Feline Endocrinology*, 4th ed. Saint-Louis, Missouri, Elsevier Health Sciences, p. 1-36.
- NELSON, R.W., MAGGIORE, A.D. (2020) Disorders of the Hypothalamus and Pituitary Gland. In Nelson R.W., Couto C.G., *Small Animal Internal Medicine*, 6th ed. Saint-Louis, Missouri, Elsevier Health Sciences, p. 740-758.
- NICHOLS, R. (2001) Polyuria and Polydipsia: Diagnostic Approach and Problems Associated with Patient Evaluation. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* vol. 31, n° 5, p. 833-844. [[https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(01\)50001-7](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(01)50001-7)]
- NIELSEN, L.N., THOMPSON, H., HAMMOND, G., *et al.* (2008) Central diabetes insipidus associated with primary focal B cell lymphoma in a dog. *The Veterinary record* vol. 162, p. 124-126. [<https://doi.org/10.1136/vr.162.4.124>]
- OISO, Y., ROBERTSON, G.L., NØRGAARD, J.P., *et al.* (2013) Clinical review: Treatment of neurohypophyseal diabetes insipidus. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* vol. 98, n° 10, p. 3958-3967. [<https://doi.org/10.1210/jc.2013-2326>]
- OLIVEIRA, K.M., FUKUSHIMA, F.B., OLIVEIRA, C.M., *et al.* (2013) Head trauma as a possible cause of central diabetes insipidus in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery* vol. 15, n° 2, p. 155-159. [<https://doi.org/10.1177/1098612X12463162>]
- PAPANEK, P.E., RAFF, H. (1994) Physiological increases in cortisol inhibit basal vasopressin release in conscious dogs. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* vol. 266, n° 6, p. R1744-R1751. [<https://doi.org/10.1152/ajpregu.1994.266.6.R1744>]
- PAPANEK, P.E., SLADEK, C.D., RAFF, H. (1997) Corticosterone inhibition of osmotically stimulated vasopressin from hypothalamic-neurohypophysial explants. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* vol. 272, n° 1, p. R158-R162. [<https://doi.org/10.1152/ajpregu.1997.272.1.R158>]
- PERRIN, I.V., BESTETTI, G.E., ZANESCO, S.A., *et al.* (1986) Diabetes insipidus centralis caused by visceral larva migrans of the neurohypophysis in the dog. *Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde* vol. 128, n° 9, p. 483-486.

- PIERANTONI, L., ALBERTINI, M., PIOTTI, P., *et al.* (2022) Signs of Anxiety and Salivary Copeptin Levels in Dogs Diagnosed with Separation-Related Problems in a Short Separation Test. *Animals* vol. 12, n° 15, p. 1974. [<https://doi.org/10.3390/ani12151974>]
- POST, K., MCNEILL, J.R., CLARK, E.G., *et al.* (1989) Congenital central diabetes insipidus in two sibling Afghan hound pups. *Journal of the American Veterinary Medical Association* vol. 194, n° 8, p. 1086-1088.
- REFARDT, J., WINZELER, B., CHRIST-CRAIN, M. (2019) Copeptin and its role in the diagnosis of diabetes insipidus and the syndrome of inappropriate antidiuresis. *Clinical Endocrinology* vol. 91, n° 1, p. 22-32. [<https://doi.org/10.1111/cen.13991>]
- REIMERS, T.J. (2003) The Pituitary Gland. In Pineda M.H., *Mc Donald's Veterinary Endocrinology and Reproduction*, 5th ed. Ames, Iowa, Iowa State Press, p. 17-34.
- REUSCH, C. (2014) Pheochromocytoma and Multiple Endocrine Neoplasia. In Feldman E.C., *Canine & Feline Endocrinology*, 4th ed. Saint-Louis, Missouri, Elsevier Health Sciences, p. 521-554.
- RHETT, N., PETERSON, M.E. (2013) Clinical Use of the Vasopressin Analogue Desmopressin for the Diagnosis and Treatment of Diabetes Insipidus. In Bonagura J.D., Twedt D.C., *Kirk's Current Veterinary Therapy XV*, 15th ed. Saint-Louis, Missouri, Elsevier Health Sciences, p. e73-e75.
- ROBBEN, J.H., KNOERS, N.V.A.M., DEEN, P.M.T. (2006) Cell biological aspects of the vasopressin type-2 receptor and aquaporin 2 water channel in nephrogenic diabetes insipidus. *American Journal of Physiology. Renal Physiology* vol. 291, n° 2, p. F257-270. [<https://doi.org/10.1152/ajprenal.00491.2005>]
- ROGERS, W.A., VALDEZ, H., ANDERSON, B.C., *et al.* (1977) Partial deficiency of antidiuretic hormone in a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association* vol. 170, n° 5, p. 545-547.
- SAITO, T., ISHIKAWA, S., ITO, T., *et al.* (1999) Urinary Excretion of Aquaporin-2 Water Channel Differentiates Psychogenic Polydipsia from Central Diabetes Insipidus1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* vol. 84, n° 6, p. 2235-2237. [<https://doi.org/10.1210/jcem.84.6.5715>]
- SANDERS, K., GALAC, S., MEIJ, B.P. (2021) Pituitary tumour types in dogs and cats. *Veterinary Journal* vol. 270, p. 105623. [<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105623>]
- SHIEL, R.E. (2017a) Diabetes Insipidus. In Ettinger S. J., Feldman E.C., Côté E., *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 8th ed. Saint-Louis, Missouri, Elsevier Health Sciences, p. 4157-4168.
- SHIEL, R.E. (2017b) Polyuria and Polydipsia. In Ettinger S. J., Côté E., Feldman E.C., *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 8th ed. Saint-Louis, Missouri, Elsevier Health Sciences, p. 660-665.
- SHIEL, R.E. (2012) Disorders of Vasopressin production. In Mooney C.T., Peterson M.E., *BSAVA Manual of Canine & Feline Endocrinology*, BSAVA, 4th ed. Gloucester, British Small Animal Veterinary Association, p. 15-27.
- SIMPSON, C.J., MANSFIELD, C.S., MILNE, M.E., *et al.* (2011) Central Diabetes Insipidus in a Cat with Central Nervous System B Cell Lymphoma. *Journal of Feline Medicine and Surgery* vol. 13, n° 10, p. 787-792. [<https://doi.org/10.1016/j.jfms.2011.07.005>]
- SMYTH, D.G., MASSEY, D.E. (1979) A new glycopeptide in pig, ox and sheep pituitary. *Biochemical and Biophysical Research Communications* vol. 87, n° 4, p. 1006-1010. [[https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(79\)80007-8](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(79)80007-8)]
- SONG, Z., GOMES, D.A., STEVENS, W., *et al.* (2010) Multiple α 1-adrenergic receptor subtypes support synergistic stimulation of vasopressin and oxytocin release by ATP and phenylephrine. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* vol. 299, n° 6, p. R1529-R1537. [<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00532.2010>]
- SZCZEPANSKA-SADOWSKA, E., CZARZASTA, K., CUDNOCH - JEDRZEJEWSKA, A. (2018) Dysregulation of the Renin-Angiotensin System and the Vasopressinergic System Interactions in Cardiovascular Disorders. *Current Hypertension Reports* vol. 20, n° 3, p. 19. [<https://doi.org/10.1007/s11906-018-0823-9>]

- SZINNAI, G., MORGENTHALER, N.G., BERNEIS, K., *et al.* (2007) Changes in plasma copeptin, the c-terminal portion of arginine vasopressin during water deprivation and excess in healthy subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* vol. 92, n° 10, p. 3973-3978. [https://doi.org/10.1210/jc.2007-0232]
- TAKEMURA, N. (1998) Successful long-term treatment of congenital nephrogenic diabetes insipidus in a dog. *The Journal of Small Animal Practice* vol. 39, n° 12, p. 592-594. [https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1998.tb03714.x]
- TESHIMA, T., HARA, Y., MASUDA, H., *et al.* (2008) Relationship between arginine vasopressin and high signal intensity in the pituitary posterior lobe on T1-weighted MR images in dogs. *The Journal of Veterinary Medical Science* vol. 70, n° 7, p. 693-699. [https://doi.org/10.1292/jvms.70.693]
- TESHIMA, T., HARA, Y., TAODA, T., *et al.* (2011) Central diabetes insipidus after transsphenoidal surgery in dogs with Cushing's disease. *The Journal of Veterinary Medical Science* vol. 73, n° 1, p. 33-39. [https://doi.org/10.1292/jvms.10-0129]
- THERMO FISHER SCIENTIFIC INC (2023) Validation et test de qualité des kits ELISA. In <https://www.thermofisher.com>. [https://www.thermofisher.com/fr/fr/home/life-science/antibodies/immunoassays/elisa-kits/elisa-kit-validation-quality-testing.html] (consulté le 27/02/2023).
- THOMPSON, C.J., VERBALIS, J.G. (2020) Posterior Pituitary. In Melmed S., Rosen C.J., *Williams Textbook of Endocrinology*, 14th ed. Philadelphia, Elsevier, p. 303-313.
- TIMPER, K., FENSKE, W., KÜHN, F., *et al.* (2015) Diagnostic Accuracy of Copeptin in the Differential Diagnosis of the Polyuria-polydipsia Syndrome: A Prospective Multicenter Study. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* vol. 100, n° 6, p. 2268-2274. [https://doi.org/10.1210/jc.2014-4507]
- VAN BOKHORST, K.L., GALAC, S., KOOISTRA, H.S., *et al.* (2021) Evaluation of hypophysectomy for treatment of hypersomatotropism in 25 cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 35, n° 2, p. 834-842. [https://doi.org/10.1111/jvim.16047]
- VAN VONDEREN, I. K., KOOISTRA, H.S., RIJNBEEK, A. (1997) Intra- and Interindividual Variation in Urine Osmolality and Urine Specific Gravity in Healthy Pet Dogs of Various Ages. *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 11, n° 1, p. 30-35. [https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1997.tb00070.x]
- VAN VONDEREN, I.K., KOOISTRA, H.S., SPRANG, E.P., *et al.* (1999) Disturbed vasopressin release in 4 dogs with so-called primary polydipsia. *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 13, n° 5, p. 419-425. [https://doi.org/10.1892/0891-6640(1999)013<0419:dvrldw>2.3.co;2]
- VAN VONDEREN, I.K., KOOISTRA, H.S., TIMMERMANS-SPRANG, E.P.M., *et al.* (2004a) Vasopressin Response to Osmotic Stimulation in 18 Young Dogs with Polyuria and Polydipsia. *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 18, n° 6, p. 800-806. [https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2004.tb02625.x]
- VAN VONDEREN, Ilse K., MEYER, H.P., KRAUS, J.S., *et al.* (1997) Polyuria and Polydipsia and Disturbed Vasopressin Release in 2 Dogs With Secondary Polycythemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 11, n° 5, p. 300-303. [https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1997.tb00469.x]
- VAN VONDEREN, I.K., WOLFSWINKEL, J., VAN DEN INGH, T.S.G. a. M., *et al.* (2004b) Urinary aquaporin-2 excretion in dogs: a marker for collecting duct responsiveness to vasopressin. *Domestic Animal Endocrinology* vol. 27, n° 2, p. 141-153. [https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2004.03.001]
- VERBALIS, J.G. (2020) Acquired forms of central diabetes insipidus: Mechanisms of disease. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, Diabetes insipidus vol. 34, n° 5, p. 101449. [https://doi.org/10.1016/j.beem.2020.101449]
- VERKMAN, A.S., MITRA, A.K. (2000) Structure and function of aquaporin water channels. *American Journal of Physiology. Renal Physiology* vol. 278, n° 1, p. F13-28. [https://doi.org/10.1152/ajprenal.2000.278.1.F13]
- VERLANDER, J.W. (2012a) Water Balance. In Klein B.G., *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology*, 5th ed. Saint-Louis, Missouri, Elsevier Health Sciences, p. 481-487.

- VERLANDER, J.W. (2012b) Glomerular Filtration. *In* Klein B.G., *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology*, 5th ed. Saint-Louis, Missouri, Elsevier Health Sciences, p. 460-468.
- VERLANDER, J.W. (2012c) Solute Reabsorption. *In* Klein B.G., *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology*, 5th ed. Saint-Louis, Missouri, Elsevier Health Sciences, p. 469-480.
- VIGNEAUD, V. du, RESSLER, C., SWAN, C.J.M., *et al.* (1953) The synthesis of an octapeptide amide with the hormonal activity of oxytocin. *Journal of the American Chemical Society* vol. 75, n° 19, p. 4879-4880. [<https://doi.org/10.1021/ja01115a553>]
- WALLIS, M. (2012) Molecular evolution of the neurohypophysial hormone precursors in mammals: Comparative genomics reveals novel mammalian oxytocin and vasopressin analogues. *General and Comparative Endocrinology* vol. 179, n° 2, p. 313-318. [<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2012.07.030>]
- WUN, T. (1997) Vasopressin and platelets: a concise review. *Platelets* vol. 8, n° 1, p. 15-22. [<https://doi.org/10.1080/09537109777492>]
- XI, D., KUSANO, K., GAINER, H. (1999) Quantitative Analysis of Oxytocin and Vasopressin Messenger Ribonucleic Acids in Single Magnocellular Neurons Isolated from Supraoptic Nucleus of Rat Hypothalamus. *Endocrinology* vol. 140, n° 10, p. 4677-4682. [<https://doi.org/10.1210/endo.140.10.7054>]

Annexe 1

Manuel d'utilisation AMSBio

Canine Copeptin (CPP) Elisa kit
(Competitive ELISA)

96 Tests

Catalog Number: MBS736743

Store all reagents at 2-8°C

Valid Period: six months

For samples:

**Serum, plasma, cell culture supernatants, body fluid
and tissue homogenate**

FOR RESEARCH USE ONLY!

NOT FOR THERAPEUTIC OR DIAGNOSTIC APPLICATIONS!

PLEASE READ THROUGH ENTIRE PROCEDURE BEFORE BEGINNING!

1

Table of Contents

1. INTENDED USE	3
2. PRINCIPLE OF THE ASSAY	3
3. MATERIALS.....	4
4. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE	5
5. MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	7
6. SAMPLE PREPARATION	7
7. REAGENTS PREPARATION	8
8. ASSAY PROCEDURE.....	9
9. CALCULATION OF RESULTS.....	10
10. CERTIFICATE OF ANALYSIS.....	12
11. SAFETY NOTES.....	13
12. QUALITY CONTROL	14

2

3. MATERIALS

All reagents provided are stored at 2-8° C. Refer to the expiration date on the label.

	MATERIALS	SPECIFICATION	QUANTITY
1	MICROTITER PLATE	96 wells	stripwell
2	ENZYME CONJUGATE	6.0 mL	1 vial
3	STANDARD A	0 pg/mL	1 vial
4	STANDARD B	50 pg/mL	1 vial
5	STANDARD C	100 pg/mL	1 vial
6	STANDARD D	250 pg/mL	1 vial
7	STANDARD E	500 pg/mL	1 vial
8	STANDARD F	1000 pg/mL	1 vial
9	SUBSTRATE A	6 mL	1 vial
10	SUBSTRATE B	6 mL	1 vial
11	STOP SOLUTION	6 mL	1 vial
12	WASH SOLUTION (100 x)	10 mL	1 vial
13	BALANCE SOLUTION	3 mL	1 vial
14	INSTRUCTION	1	

NOTE: The BALANCE SOLUTION is used only when the sample is cell culture supernatants, body fluid and tissue homogenate, if the sample is serum or plasma, then the BALANCE SOLUTION is a superfluous reagent.

4

1. INTENDED USE

This CPP ELISA kit is a 1.5 hour solid-phase ELISA designed for the quantitative determination of Canine CPP. This ELISA kit for research use only, not for therapeutic or diagnostic applications!

2. PRINCIPLE OF THE ASSAY

CPP ELISA kit applies the competitive enzyme immunoassay technique utilizing a polyclonal anti-CPP antibody and an CPP-HRP conjugate. The assay sample and buffer are incubated together with CPP-HRP conjugate in pre-coated plate for one hour. After the incubation period, the wells are decanted and washed five times. The wells are then incubated with a substrate for HRP enzyme. The product of the enzyme-substrate reaction forms a blue colored complex. Finally, a stop solution is added to stop the reaction, which will then turn the solution yellow. The intensity of color is measured spectrophotometrically at 450nm in a microplate reader. The intensity of the color is inversely proportional to the CPP concentration since CPP from samples and CPP-HRP conjugate compete for the anti-CPP antibody binding site. Since the number of sites is limited, as more sites are occupied by CPP from the sample, fewer sites are left to bind CPP-HRP conjugate. A standard curve is plotted relating the intensity of the color (O.D.) to the concentration of standards. The CPP concentration in each sample is interpolated from this standard curve.

3

The types of sample:	
Sample I:	serum or plasma
Sample II:	cell culture supernatants, body fluid and tissue homogenate

4. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

Serum - Use a serum separator tube and allow samples to clot for 2 hours at room temperature or overnight at 2-8°C. Centrifuge at approximately 1000 × g (or 3000 rpm) for 15 minutes. Remove serum and assay immediately or aliquot and store samples at -20°C or -80°C.

Plasma - Collect plasma using EDTA or heparin as an anticoagulant. Centrifuge samples for 15 minutes at 1000 × g (or 3000 rpm) at 2 - 8°C within 30 minutes of collection. Assay immediately or aliquot and store samples at -20°C or -80°C.

Tissue homogenates - The preparation of tissue homogenates will vary depending upon tissue type. For this assay, tissues were rinsed in ice-cold PBS (0.02mol/L, pH 7.0-7.2) to remove excess blood thoroughly and weighed 300-500mg before homogenization. Minced the tissues to small pieces and homogenized them in 500ul of PBS with a glass homogenizer on ice. The resulting suspension was subjected to ultrasonication or to two freeze-thaw cycles to further break the cell membranes. After that, the homogenates were centrifugated for 15 minutes at 1500×g (or 5000 rpm).

5

Remove the supernate and assay immediately or aliquot and store samples at -20°C or -80°C.

Cell lysates - Cells should be lysed according to the following directions.

- 1) Adherent cells should be detached with trypsin and then collected by centrifugation. Suspension cells can be collected by centrifugation directly.
- 2) Wash cells three times in PBS.
- 3) Cells were resuspended in PBS and subjected to ultrasonication for 3 times. Alternatively, freeze cells at -20 °C. Thaw cells with gentle mixing. Repeat the freeze/thaw cycle for 3 times.
- 4) Centrifuge at 1000×g (or 3000 rpm) for 15 minutes at 2-8 °C to remove cellular debris.
- 5) Assay immediately or store samples at -20°C or -80°C.

Cell culture supernatants and other body fluids - Centrifuge cell culture media at 1000 × g (or 3000 rpm) for 15 minutes to remove debris. Assay immediately or store samples at -20°C or -80°C.

NOTE:

- 1) Samples should be aliquoted and must be stored at -20°C (less than 3 months) or -80°C (less than 6 months) to avoid loss of bioactivity and contamination. If samples are to be run within 24 hours, they may be stored at 2- 8°C. Avoid repeated freeze-thaw cycles. Fresh samples without long time storage are recommended for the test. Otherwise, protein degradation and denaturalization may occur in those samples

6

possible amount of the samples used in the whole test. Please reserve sufficient amount of samples in advance.

- 2) Please predict the concentration before assaying. If values for these are not within the range of the standard curve, users must determine the optimal sample dilutions for their particular experiments. We suggest pre-experimenting with neat (undiluted) samples, 1:2 or 1:4 dilutions. Please avoid diluting your samples more than 1:10 as it would exceed the dilution limit set for this kit. If the expected concentration of the target is beyond the detection range of the kit, please contact technical support.
- 3) If the samples are not indicated in the manual, a preliminary experiment to determine the validity of the kit is necessary.
- 4) Owing to the possibility of mismatching between antigen from other resource and antibody used in our kits (e.g., antibody targets conformational epitope rather than linear epitope), some native or recombinant proteins from other manufacturers may not be recognized by our products.
- 5) Influenced by the factors including cell viability, cell number and also sampling time, samples from cell culture supernatant may not be detected by the kit.

7. REAGENTS PREPARATION

- 1) Bring all kit components and samples to room temperature (20-25 °C) before use.
- 2) Samples - Please predict the concentration before assaying. If concentrations are unknown or not within the detection range, a preliminary experiment is recommended to determine the optimal

8

- 2) Tissue or cell extraction samples prepared by chemical lysis buffer may cause unexpected ELISA results due to the impacts of certain chemicals.
- 3) Samples containing a visible precipitate must be clarified prior to use in the assay. Care should be taken to minimize hemolysis. Do not use grossly hemolyzed or lipemic specimens.
- 4) Do not use heat-treated specimens.

5. MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- 1) Precision pipettors and disposable tips to deliver 10-1000 µl. A multi-channel pipette is desirable for large assays.
- 2) 100 mL and 1 liter graduated cylinders.
- 3) Distilled or deionized water.
- 4) Tubes to prepare sample dilutions.
- 5) Absorbent paper.
- 6) Microplate reader capable of measuring absorbance at 450 nm.
- 7) Centrifuge capable of 3000 × g.
- 8) Microplate washer or washing bottle.
- 9) Incubator (37°C).
- 10) Data analysis and graphing software.

6. SAMPLE PREPARATION

- 1) We are only responsible for the kit itself, but not for the samples consumed during the assay. The user should calculate the

7

dilution. PBS (pH 7.0-7.2) or 0.9% physiological saline can be used as dilution buffer.

- 3) Wash Solution - Dilute 10 mL of Wash Solution concentrate (100×) with 990 mL of deionized or distilled water to prepare 1000 mL of Wash Solution (1×). If crystals have formed in the concentrate, warm to room temperature and mix gently until the crystals have completely dissolved. The 1× wash solution is stable for 2 weeks at 2-8°C.
- 4) Do not dilute the other components which are ready- to-use.

8. ASSAY PROCEDURE

Please read Reagents Preparation before starting assay procedure. It is recommended that all Standards and Samples be assayed in duplicate. It is strongly recommended to do a preliminary experiment before measuring all samples.

- 1) Secure the desired numbers of coated wells in the holder then add 100 µL of **Standards** (Shake the bottle of each standard gently by hand and Pipette up and down the solution of standard for 3 times before adding) or **Samples** to the appropriate well. Add 100 µL of PBS (pH 7.0-7.2) in the blank control well.
- 2) Dispense 10 µL of **Balance Solution** into 100 µL **samples only**, mix well. (**NOTE:** This step is required when the sample is cell culture supernatants, body fluid and tissue homogenate; if the sample is serum or plasma, then this step should be skipped.)
- 3) Add 50 µL of **Conjugate** to each well (NOT blank control well). Mix well. Mixing well in this step is important. Cover and incubate the plate for 1 hour at 37°C.

9

- 4) Wash the microtiter plate using one of the specified methods

12. QUALITY CONTROL

- 1) It is recommended that all standards, controls and samples be run in duplicate. Standards and samples must be assayed at the same time.
- 2) The coefficient of determination of the standard curve should be ≥ 0.95 .
- 3) Cover or cap all kit components and store at 2-8° C when not in use.
- 4) Microtiter plates should be allowed to come to room temperature before opening the foil bags. Once the desired number of strips has been removed, immediately reseal the bag with desiccants and store at 2-8°C to maintain plate integrity.
- 5) Samples should be collected in pyrogen/endotoxin-free tubes.
- 6) Samples should be frozen if not analyzed shortly after collection. Avoid multiple freeze-thaw cycles of frozen samples. Thaw completely and mix well prior to analysis.
- 7) When possible, avoid use of badly hemolyzed or lipemic serum. If large amounts of particulate matter are present, centrifuge or filter prior to analysis.
- 8) When pipetting reagents, maintain a consistent order of addition from well-to-well. This ensures equal incubation times for all wells.
- 9) Do not mix or interchange different reagent lots from various kit lots.
- 10) Do not use reagents after the kit expiration date.
- 11) Read absorbance immediately after adding the stop solution.

14

NOTE:

- 1) Any variation in operator, pipetting and washing technique, incubation time or temperature, and kit age can cause variation in result. Each user should obtain their own standard curve.
- 2) If samples have been diluted, the concentration read from the standard curve must be multiplied by the dilution factor.
- 3) If specimens generate values higher than the highest standard, dilute the specimens and repeat the assay.

10. CERTIFICATE OF ANALYSIS

- 1) In the same lot CV%:<10
- 2) Different lot CV%: <10
- 3) Spike Recovery: 92-101%
- 4) Linearity:

	Range %
1:1	94 - 102
1:2	92 - 104
1:4	98 - 105
1:8	94 - 109

- 5) Sensitivity: The sensitivity in this assay is 1.0 pg/mL.
- 6) Specificity: This assay has high sensitivity and excellent specificity for detection of CPP. No significant cross-reactivity or interference between CPP and analogues was observed. **NOTE:** Limited by current skills and knowledge, it is impossible for us to complete the

12

- 1) The standard curve is used to determine the amount of samples.
- 2) First, average the duplicate readings for each standard and sample.

- 12) Incomplete washing will adversely affect the test outcome. All washing must be performed with Wash Solution provided. All residual wash liquid must be drained from the wells by efficient aspiration or by decantation followed by tapping the plate forcefully on absorbent paper. Never insert absorbent paper directly into the wells.
- 13) Because TMB is light sensitive, avoid prolonged exposure to light. Also avoid contact between TMB and metal, otherwise color may develop.

15

cross-reactivity detection between CPP and all the analogues, therefore, cross reaction may still exist in some cases.

11. SAFETY NOTES

- 1) This kit contains small amount of 3, 3', 5, 5'-Tetramethylbenzidine (TMB) in Substrate B. TMB is non-carcinogenic but it is hazardous in case of skin contact, eye contact, ingestion and inhalation. In case of contact, rinse affected area with plenty of water.
- 2) The Stop Solution provided with this kit is an acid solution. Wear protective gloves, clothing, and face protection.
- 3) Care should be taken when handling the Standard because of the known and unknown effects of it.
- 4) Care should also be taken to avoid contact of skin or eyes with other kit reagents or specimens. In the case of contact, wash immediately with water.
- 5) Do not pipette by mouth.
- 6) Avoid generation of aerosols.
- 7) Waste must be disposed of in accordance with federal, state and local environmental control regulations.
- 8) All blood components and biological materials should be handled as potentially hazardous. Decontaminate and dispose specimens and all potentially contaminated materials as they could contain infectious agents. The preferred method of decontamination is autoclaving for a minimum of 1 hour at 121.5°C.

13

Annexe 2

Plan de plaque ELISA pour le dosage de la copeptine

Puit vide	1	1'	2	2'	3	3'	4	4'	5	5'	6
6'	P	P'	P 1/2	P 1/2'	P 1/4	P1/4'	P 1/8	P1/8'	APO	APO'	AP1
AP1'	BPO	BPO'	BP1	BP1'	CPO	CP0'	CP1	CP1'	DPO	DPO'	DP1
DP1'	EPO	EPO'	EP1	EP1'	FPO	FPO'	FP1	FP1'	ASO	ASO'	AS1
AS1'	BSO	BSO'	BS1	BS1'	CSO	CSO'	CS1	CS1'	DSO	DSO'	DS1
DS1'	ESO	ESO'	ES1	ES1'	FSO	FSO'	FS1	FS1'	GPO	GPO'	GP1
GP1'	HPO	HPO'	HP1	HP1'	IPO	IPO'	IP1	IP1'	JPO	JPO'	JP1
JP1'	KPO	KPO'	KP1	KP1'	LPO	LPO'	LP1	LP1'	MPO	MPO'	MP1

	1 à 6 : Standards
	P : Plasma d'une chienne présentée pour pyomètre (cf linéarité)
	A à F : Cohorte 2
	G à M : Cohorte 1

S : Stimulation hypertonique (0 = t0 ; 1 = t1)

P : Restriction hydrique (0 = t0 ; 1 = t16h)

Annexe 3

Données brutes

0,055	1,967	1,572	1,495	1,182	1,413	0,922	0,791	0,756	0,414	0,365	0,173
0,188	1,089	1,057	1,588	1,645	1,863	1,935	1,672	1,722	0,418	0,415	0,382
0,375	0,664	0,568	0,612	0,639	0,574	0,547	0,485	0,478	0,668	0,459	0,585
0,533	0,644	0,607	0,563	0,496	0,873	0,891	0,84	0,842	0,398	0,368	0,349
0,343	0,625	0,6	0,682	0,663	0,522	0,562	0,483	0,481	0,47	0,476	0,578
0,562	0,553	0,534	0,595	0,663	0,758	0,79	1,139	1,037	1,548	1,62	1,568
1,597	0,936	0,905	0,809	0,828	0,633	0,461	0,582	0,549	1,603	1,56	1,51
1,342	1,581	1,525	1,539	1,567	1,588	1,512	1,416	1,427	1,038	0,92	0,893

Données obtenues après soustraction du blanc

0	1,912	1,517	1,44	1,127	1,358	0,867	0,736	0,701	0,359	0,31	0,118
0,133	1,034	1,002	1,533	1,59	1,808	1,88	1,617	1,667	0,363	0,36	0,327
0,32	0,609	0,513	0,557	0,584	0,519	0,492	0,43	0,423	0,613	0,404	0,53
0,478	0,589	0,552	0,508	0,441	0,818	0,836	0,785	0,787	0,343	0,313	0,294
0,288	0,57	0,545	0,627	0,608	0,467	0,507	0,428	0,426	0,415	0,421	0,523
0,507	0,498	0,479	0,54	0,608	0,703	0,735	1,084	0,982	1,493	1,565	1,513
1,542	0,881	0,85	0,754	0,773	0,578	0,406	0,527	0,494	1,548	1,505	1,455
1,287	1,526	1,47	1,484	1,512	1,533	1,457	1,361	1,372	0,983	0,865	0,838

Données obtenues après moyenne des duplicats

1	1,7145	2	1,2835	3	1,1125	4	0,7185	5	0,3345	6	0,1255
P	1,018	P 1/2	1,5615	P 1/4	1,844	P 1/8	1,642	APO	0,3615	AP1	0,3235
BPO	0,561	BP1	0,5705	CPO	0,5055	CP1	0,4265	DPO	0,5085	DP1	0,504
EPO	0,5705	EP1	0,4745	FPO	0,827	FP1	0,786	ASO	0,328	AS1	0,291
BSO	0,5575	BS1	0,6175	CSO	0,487	CS1	0,427	DSO	0,418	DS1	0,515
ESO	0,4885	ES1	0,574	FSO	0,719	FS1	1,033	GPO	1,529	GP1	1,5275
HPO	0,8655	HP1	0,7635	IPO	0,492	IP1	0,5105	JPO	1,5265	JP1	1,371
KPO	1,498	KP1	1,498	LPO	1,495	LP1	1,3665	MPO	0,924	MP1	0,838

DIABÈTE INSIPIDE : ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DES CAS VUS ENTRE 2003 ET 2022 AU CHUVA ET TENTATIVE DE VALIDATION DU DOSAGE DE LA COPEPTINE AFIN D'ÉVALUER SON INTÉRÊT DANS L'EXPLORATION D'UNE POLYURO-POLYDIPSIE

AUTEUR : Rémi REGNARD

RÉSUMÉ :

Le diabète insipide (DI) désigne un syndrome résultant d'un déficit de sécrétion d'hormone anti-diurétique (ADH) ou d'un défaut d'action d'ADH sur ses récepteurs situés dans les néphrons. On parle respectivement de DI central (DIC) et néphrogénique (DIN). Il en résulte une incapacité à concentrer les urines, une production exagérée d'urines diluées et une prise de boisson exacerbée.

Dans une première partie, ce travail propose une synthèse des données vétérinaires sur le DI ainsi qu'un bref comparatif avec les connaissances en médecine humaine. Peu d'études rétrospectives sont disponibles en médecine vétérinaire. Ainsi, une deuxième partie sera consacrée à une étude rétrospective descriptive sur dix chiens et huit chats présentés en consultation au Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort (CHUVA) entre 2003 et 2022.

L'inclusion des chiens et des chats dans cette étude reposait sur le diagnostic du DI par un test de restriction hydrique (TRH) ou par un test d'épreuve thérapeutique. L'objectif de cette partie était d'étayer les données vétérinaires sur le DI et d'étudier l'évolution des modalités diagnostiques du DI au CHUVA lors des vingt dernières années. Les résultats quant à l'épidémiologie et la présentation clinique et paraclinique concordent avec les connaissances établies en médecine vétérinaire. Également, cette partie met en évidence un abandon progressif du TRH au profit du test par épreuve thérapeutique.

Les tests nécessaires au diagnostic du DI placent l'animal en situation de déshydratation. Par conséquent, il s'agit de tests à l'éthique discutable, potentiellement dangereux, chronophages et dont l'interprétation est parfois difficile. Ces limitations sont bien rapportées en médecine humaine. C'est pourquoi une alternative diagnostique est maintenant couramment utilisée : le dosage de la copeptine, un fragment du précurseur de l'ADH. Seule une étude vétérinaire la mentionne, mais ne l'utilise pas dans le cadre du diagnostic DI. La troisième partie de ce travail est une étude prospective visant à valider un des deux kits de dosage de la copeptine disponibles en médecine vétérinaire, avec la finalité d'étudier son intérêt dans le diagnostic du DI. Le test de linéarité réalisé n'était pas satisfaisant, de fait ce kit ne remplissait pas les conditions nécessaires à son utilisation. D'autres études similaires sont nécessaires afin de valider l'autre kit de dosage. Par ailleurs, cette partie compare la capacité du TRH et du test par infusion hypertonique à induire une sécrétion d'ADH sur des chiens sains. L'infusion hypertonique semble plus intéressante à cet égard bien que cela nécessite confirmation sur des animaux présentant un DI.

MOTS CLÉS : DIABÈTE INSIPIDE, DIAGNOSTIC, CARNIVORES DOMESTIQUES, COPEPTINE, POLYURO-POLYDIPSIE

JURY :

Président : Pr Renaud TISSIER

Directrice de thèse : Dr Ghita BENCHEKROUN

Examinatrice : Dr Delphine LE ROUX

Invitée : Dr Inès BARTHELEMY

DIABETES INSIPIDUS: RETROSPECTIVE STUDY OF CASES OBSERVED BETWEEN 2003 AND 2022 AT CHUVA AND ATTEMPT TO VALIDATE COPEPTIN DOSAGE IN ORDER TO EVALUATE ITS UTILITY IN THE INVESTIGATION OF POLYURIA-POLYDIPSIA

AUTHOR: Rémi REGNARD

SUMMARY:

Diabetes insipidus (DI) refers to a syndrome resulting from a deficiency in the secretion of antidiuretic hormone (ADH) or a failure of ADH action on its receptors located in the nephrons. This is respectively referred to as central diabetes insipidus (CDI) and nephrogenic diabetes insipidus (NDI). As a result, there is an inability to concentrate urine, excessive production of diluted urine, and increased thirst.

In the first part, this work provides a synthesis of veterinary data on DI and a brief comparison with knowledge in human medicine. Few retrospective studies are available in veterinary medicine. Therefore, a second part will focus on a descriptive retrospective study of ten dogs and eight cats presented for consultation at the Veterinary Teaching Hospital of Alfort (CHUVA) between 2003 and 2022.

The inclusion of dogs and cats in this study was based on the diagnosis of DI using a water deprivation test (WDT) or a therapeutic trial test. The objective of this part was to support veterinary data on DI and to study the evolution of diagnostic modalities for DI at CHUVA over the past twenty years. The results regarding the epidemiology and clinical and paraclinical presentation are consistent with established knowledge in veterinary medicine. Additionally, this part highlights a gradual abandonment of the WDT in favor of the therapeutic trial test.

The tests required for the diagnosis of DI involve subjecting the animal to dehydration. Therefore, these tests are ethically questionable, potentially dangerous, time-consuming, and their interpretation can be difficult. These limitations are well documented in human medicine. That is why a diagnostic alternative is now commonly used: measuring copeptin, a fragment of the ADH precursor. Only one veterinary study mentions it but does not use it in the context of DI. The third part of this work is a prospective study aimed at validating one of the two available copeptin measurement kits in veterinary medicine, to investigate its usefulness in the diagnosis of DI. The linearity test conducted was not satisfactory, and as a result, this kit did not meet the necessary conditions for its utilisation. Further similar studies are needed to validate the other measurement kit. Furthermore, this part compares the ability of WDT and the hypertonic infusion test to induce ADH secretion in healthy dogs. The hypertonic infusion appears more promising in this regard, although it requires confirmation in animals with DI.

KEYWORDS: INSIPIDUS DIABETES, DIAGNOSIS, DOMESTIC CARNIVORES, COPEPTIN, POLYURO-POLYDIPSIA

JURY:

Chairperson: Pr Renaud TISSIER

Thesis Director: Dr Ghita BENCHEKROUN

Reviewer: Dr Delphine LE ROUX

Guest: Dr Inès BARTHELEMY