

Verdacht Hypothyreose

Multizentrische Studie favorisiert T₄/TSH -Quotient als neuen diagnostischen Marker

Beim Hund gehört die primäre Hypothyreose zu den häufigsten endokrinen Erkrankungen. Mit der Bestimmung eines einzelnen Schilddrüsenparameters im Serum ist jedoch ihre Diagnose nach übereinstimmender internationaler Literatur nicht möglich. So ist ein erniedrigter cT₄-Wert zwar verdächtig auf eine Hypothyreose, beweist diese aber nicht.

Dr. W. Müller berichtet über die prospektive, multizentrische Hypothyreose-Studie*, die ein neues Licht auf die Bedeutung der cTSH-Bestimmung wirft.

*Die Studie wurde unter Mitarbeit von Dr. U. Göggerle (Kleintierpraxis Meckenbeuren), Dr. M. Haller (Kleintierpraxis HallMa CH-Boniswil), T. Rieker (Kleintierpraxis Ravensburg), Dr. K. Robner (Tierarztpraxis CH-Niederglatt) und Dr. M. Trächsel (Kleintierklinik Rhenus CH-Flurlingen) durchgeführt.



Unbefriedigende diagnostische Situation

Aufgrund der Beeinflussbarkeit, d.h. Absenkung der Serum-T₄-Konzentration durch Erkrankungen anderer Organe (Niere, Leber, Herz, Pankreas, sowie Cushing-Syndrom und Infektionen) und durch Medikamente (z.B. Sulfonamide) spricht man von einem „Euthyroid-Sick-Syndrom“. Die Abgrenzung zu einer wirklich primären Unterfunktion der Schilddrüse durch die alleinige Bestimmung der Schilddrüsenhormone und die Diagnosestellung „primäre Hypothyreose“ sind daher schwierig.

Große Hoffnung wurde daher auf die Bestimmung des caninen Thyrotropin (cTSH) gesetzt, für das seit Mitte der 90er Jahre kommerzielle Testverfahren zur Verfügung stehen.

Obwohl bei einer primären Hypothyreose typischerweise ein erniedrigtes cT₄ und – wegen der fehlenden negativen hypophysären Rückkopplung – ein erhöhtes cTSH vorliegen sollte, wurde diese Konstellation nur in einer ersten kleineren Studie gefunden [1].

In anderen Untersuchungen wiesen nur 58–87% der hypothyreoten Fälle erhöhte cTSH-Werte auf [2], [3], [4].

Kompliziert wird die diagnostische Situation durch die von den Labors verwendeten uneinheitlichen, bis zu Faktor 2 unterschiedlichen cTSH-Referenzbereiche, durch die ja die Resultatbewertung erfolgt. Eine vergleichbare „Referenzwert-Problematik“ besteht allerdings auch für das cT₄ [5].

Aufgrund dieser unbefriedigenden labormedizinischen Situation ist die Bewertung der ermittelten T₄- und TSH-Resultate uneinheitlich bis widersprüchlich.

Seit etwa 11 Jahren gibt es die Möglichkeit, an einem Analysengerät die automatisierte parallele Bestimmung des caninen T₄ (cT₄) und des caninen TSH (cTSH) durchzuführen. Eine klinische und labormedizinische Validierung beider Testverfahren für die Diagnostik der caninen Hypothyreose liegt jedoch bis heute nicht vor. Diese beschriebene diagnostische Situation hat uns dazu bewogen, eine klinisch-labormedizinische Studie dazu durchzuführen.

Ziele der prospektiven, multizentrischen Studie

Ziele unserer prospektiven, multizentrischen Studie, die in Kooperation von 5 Praxen bzw. Kliniken mit dem Labor ALOMED durchgeführt wurde, waren daher:

1. Labormedizinische und klinische Validierung von einheitlichen, automatisierten veterinärdiagnostischer Testverfahren für cT₄ und cTSH zur Diagnose der primären Hypothyreose unter folgenden Bedingungen:

- ▶ Einsatz des TSH-Stimulationstestes als diagnostischen Goldstandard
- ▶ Eigene Referenzwertermittlung für cT₄, cTSH und den TSH-Stimulationstest an einem Kollektiv gesunder Hunde.

2. Empfehlungen für die Diagnostik und Therapiekontrolle der caninen Hypothyreose zu geben und damit zur Optimierung und Vereinheitlichung der caninen Schilddrüsendiagnostik beizutragen.

Referenzbereich und Diskriminationsfähigkeit des TSH-Stimulationstests

Der durch das Normalkollektiv (n=43) mittels 5–95%-Percentile ermittelte Referenzbereich der T₄-Differenz des TSH-Stimulationstestes beträgt 12,4–55,2nmol/l.

Aufgrund dieses Referenzbereiches wurden alle Hypothyreoseverdächtigen Hunde klassifiziert. Fälle mit einer T₄-Differenz von kleiner 12,4 wurden als primäre Hypothyreose und Fälle mit einer T₄-Differenz ab 12,4 und höher wurden als nicht-bestätigte Hypothyreose eingestuft.

Die ermittelten T₄-Differenzen beim Vergleich der Werte vom Kollektiv Primäre Hypothyreose mit dem Kollektiv nicht bestätigte Hypothyreosen sind in Form eines Histogrammes in der Abbildung 1 dargestellt (zur Veranschaulichung wurde der Referenzbereich als Balken eingezeichnet).

Sie veranschaulichen die unter unseren Bedingungen gute Trennschärfe des TSH-Stimulationstestes zwischen euthyreot und hypothyreot, mit einem Abstand von 5nmol/l zwischen dem euthyreoten Fall mit der niedrigsten T₄-Differenz (von 13nmol/l) und dem hypothyreoten Fall mit der höchsten T₄-Differenz (von 8nmol/l). Hinsichtlich der ermittelten T₄-Differenzen gibt es also weder Überschneidungen zwischen den Kollektiven, noch grenzwertige oder nicht eindeutig klassifizierbare Fälle.

Klassifizierung der Fälle

a) Primäre Hypothyreose

Von insgesamt 72 Hypothyreose-Verdachtsfällen wurden aufgrund des TSH-Stimulationstestes 38 Fälle als primäre Hypothyreose eingestuft. Die T₄-Differenz lag zwischen 0

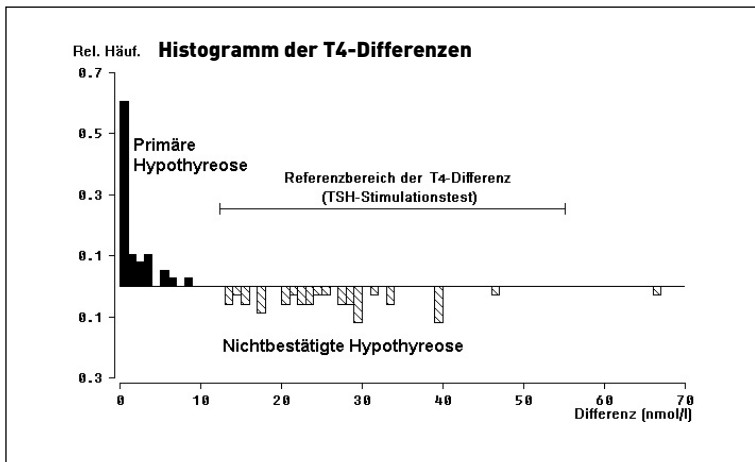


Abb. 1 Histogramm der T4-Differenzen des TSH-Stimulationstestes (Vergleich primäre Hypothyreose mit nicht bestätigter Hypothyreose)

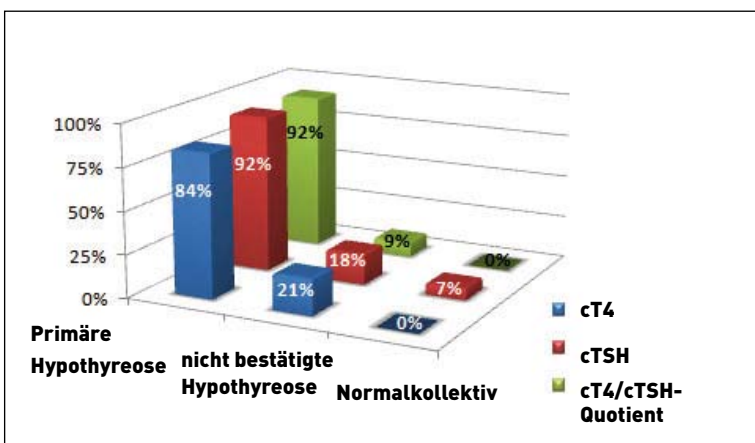


Abb. 2 Anzahl pathologischer Hormon-Resultate in den 3 Kollektiven

Tab. 1 Klinische Hauptsymptome und auffällige Laborwerte der Hunde mit primärer Hypothyreose

| | Anzahl (von 38) |
|---|-----------------|
| Lethargie/Bewegungsunlust | 33 (87%) |
| Gewichtszunahme | 32 (84%) |
| Verminderte Fellqualität | 25 (66%) |
| Bradykardie | 25 (66%) |
| Alopezie | 14 (37%) |
| Kälteintoleranz | 13 (34%) |
| Schwäche | 12 (32%) |
| Lahmheit | 5 (13%) |
| Cholesterin (erhöht: > 9,2 mmol/l) | 28 (74%) |
| Hämatokrit (grenzwertig oder erniedrigt: ≤ 42%) | 17 (45%) |
| Kreatinin (erhöht: > 133 µmol/l) | 15 (39%) |

Tab. 2 Ermittelte Referenzbereiche

| | Einheit | Referenzbereich |
|--------------------------------|---------|-----------------|
| cT4-Differenz (TSH-Stim.-Test) | nmol/l | 12,4–55,2 |
| cT4 | nmol/l | 7,9–40,6 |
| cTSH | µg/l | 0,04–0,59 |
| cT4/cTSH-Quotient | | größer 11,6 |

Tab. 3 Diagnostische Leistungskriterien für die Einzelparameter und den cT4/cTSH-Quotienten. Den Berechnungen liegt die Gesamtzahl von 115 Fällen zugrunde, davon 38 primäre Hypothyreosen, 34 nicht bestätigte Hypothyreose-Verdachtsfälle und 43 gesunde Hunde

| Analyt | Referenzbereich | Sensitivität richtig positiv | Spezifität richtig negativ | Prädiktiver Wert positiv | Prädiktiver Wert negativ | Effizienz |
|-------------------|-----------------|------------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------|
| cT4 | 8–41 nmol/l | 84% | 91% | 82% | 92% | 89% |
| cTSH | 0,04–0,59 µg/l | 92% | 88% | 80% | 96% | 90% |
| cT4/cTSH-Quotient | > 11,6 | 92% | 96% | 92% | 96% | 95% |

und 8 nmol/l (Median: 0,25 nmol/l). Es handelt sich dabei um 30 reinrassige Tiere aus 26 verschiedenen Rassen (4 Rassen sind jeweils 2-fach vertreten) und 8 Mischlinge im Alter von 3 bis 14 Jahren (Median: 6,5 Jahre). Insgesamt 26 Tiere sind weiblich (davon 14 kastriert) und 12 Tiere männlich (davon 4 kastriert). Das Geschlechtsverhältnis weiblich/männlich beträgt damit 2,1:1.

Die Häufigkeit der klinischen Hauptsymptome und der auffälligsten Laborwerte (ohne Hormonwerte) zeigt die Tabelle 1.

b) Nicht bestätigte Hypothyreose

Von insgesamt 72 Hypothyreose-Verdachtsfällen wurden aufgrund des TSH-Stimulationstestes 34 Fälle als euthyreot eingestuft. Die T4-Differenz lag zwischen 13 und 66 nmol/l (Median: 26 nmol/l). Es handelt sich um insgesamt 26 reinrassige Tiere aus 20 verschiedenen Rassen (5 Rassen sind 2- oder 3-fach vertreten) und 8 Mischlinge im Alter von 3 bis 13 Jahren (Median: 6,0 Jahre).

Referenzbereiche und diagnostische Eignung der Schilddrüsenparameter cT4, cTSH und des cT4/cTSH-Quotienten

Mit den auf Grundlage des TSH-Stimulationstestes klassifizierten Kollektiven wurden mittels ROC-Analyse die Referenzbereiche der Einzelparameter und des cT4/cTSH-Quotienten ermittelt (Tab. 2).

Daraus ergibt sich für die 3 Kollektive der in Abbildung 2 dargestellte Prozentsatz pathologischer Werte der Schilddrüsenparameter: Die Einzelparameter cT4 und cTSH sind bei der primären Hypothyreose in 84 bis 92% der Fälle erniedrigt bzw. erhöht, bei den als euthyreot eingestuften, nicht bestätigten Verdachtsfällen jedoch auch in 18 bis 21% der Fälle und im Normalkollektiv noch bei bis zu 7% der Fälle.

Demgegenüber zeigt der cT4/cTSH-Quotient bei der primären Hypothyreose mit 92% erniedrigter Resultate zwar die gleiche Trefferquote wie cTSH, ist jedoch bei der nicht bestätigten Hypothyreose nur in 9% der Fälle und im Normalkollektiv in keinem Fall pathologisch verändert.

Drückt man nun diese Resultate in diagnostischen Leistungskriterien aus, in Form von Sensitivität, Spezifität, Vorhersagewert und Effizienz (Rate richtiger Entscheidungen), so ergibt sich das in Tabelle 3 dargestellte Bild.

Unter den Einzelparametern zeigt das cT4 mit 7 erniedrigten Werten bei insgesamt 77 Tieren des Normalkollektivs und des Kollektivs nicht bestätigter Hyperthyreose den geringsten Anteil falsch positiver Resultate und besitzt damit eine diagnostische Spezifität von 91%. Sein positiver Vorhersagewert beträgt 82%.

Das cTSH weist bei 35 von 38 Tieren mit einer primären Hypothyreose erhöhte Werte auf, besitzt damit den geringsten Anteil falsch negativer Resultate und die höhere diagnostische Sensitivität von 92%. Es weist damit einen negativen Vorhersagewert von 96% auf.

Die Kombination dieser beiden Einzelparameter in Form des cT4/cTSH-Quotienten erreicht die höchsten diagnostischen Leistungswerte.

Richtig erkannt werden 35 von 38 Tieren mit primärer Hypothyreose, 31 von 34 Tieren mit nicht bestätigten Hypothyreosen und 43 von 43 gesunden Tieren. In insgesamt 109 von 115 Fällen (entsprechend einer Effizienz von 95%) kann damit eine diagnostisch richtige Entscheidung gefällt werden.

Unsere Ergebnisse zur diagnostischen Relevanz von cT4, cTSH und des cT4/cTSH-Quotienten unterscheiden sich teilweise be-

trächtlich von den bisher publizierten Studien, wie sie in Tabelle 4 zusammengefasst sind. (Bei 3 der 4 bisherigen Studien erfolgte die Diagnosestellung ebenfalls mithilfe des TSH-Stimulationstestes).

Auffallend ist die höhere diagnostische Spezifität des cT4 (bei deutlich niedrigerer Sensitivität), die deutlich höhere diagnostische Sensitivität des cTSH und vor allem die aus der Kombination beider Parameter erzielte gute Sensitivität, Spezifität und Effizienz des cT4/cTSH-Quotienten.

Gründe für die aus unserer Studie ermittelten, höheren diagnostischen Leistungsdaten von cT4 und cTSH zur Diagnose der caninen primären Hypothyreose sind sicherlich auf 2 Ebenen zu suchen:

1. Die Ermittlung eigener Referenzwerte für den „Goldstandard“ TSH-Stimulationstest und für cT4 und cTSH.
2. Verwendung von automatisierten und ausreichend sensitiven und präzisen Testverfahren für canines T4 und canines TSH und Messung beider Parameter in jeweils derselben Messserie aus maximal 20 Stunden gelagertem Serum.

Diagnostische Empfehlung bei Verdacht auf primäre Hypothyreose

Die Ergebnisse der vorgestellten Studie möchte ich in folgender Empfehlung zusammenfassen:

- ▶ Eingangsuntersuchung: Bestimmung von cTSH.
- ▶ Bestätigungsuntersuchung bei erhöhtem cTSH: Zusätzliche Bestimmung von cT4



Werner Müller, geboren in Nagold/Schwarzwald, studierte Biologie an den Universitäten Hohenheim und Tübingen und promovierte zum Dr. rer. nat. Es folgten 10 Jahre Forschungstätigkeit zuerst als Stipendiat und wissenschaftlicher Mitarbeiter am Max-Planck-Institut für Immunbiologie in Freiburg/Breisgau auf dem Gebiet des Infektionsschutzes und anschließend als wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Rheumaklinik Aachen im Bereich der Rheumaforschung und -diagnostik. Nach 4 Jahren Tätigkeit in verschiedenen human- und veterinärmedizinischen Routinelabors in Deutschland und der Schweiz gründete er 1992 mit seiner Frau Agnes Hahmann-Müller das veterinärmedizinische Labor ALOMED in Radolfzell/Bodensee. Spezialgebiete des Labors sind die Nierenfrühdagnostik (Inulin-Ausscheidungstest), die Endokrinologie und die Immunologie und Infektionsdiagnostik. Unter der Mitarbeit von Dr. Müller entstanden einige bemerkenswerte wissenschaftliche Publikationen auf diesen Spezialgebieten (siehe www.alomed.de). In seiner Freizeit ist er gerne mit dem Rennrad unterwegs und hat bei verschiedenen „Jedermann-Rennen“ schon gute Platzierungen erreicht.

und Ermittlung des cT4/cTSH-Quotienten aus den beiden Messwerten. Mit diesem Vorgehen lässt sich in 95% der Fälle die Frage „Hypothyreose ja oder nein?“ richtig entscheiden.

Nach diesem Diagnosekonzept verfahren wir seit über 3 Jahren mit sehr guter Erfahrung. Unsere Ergebnisse und Schlussfolgerungen nähern sich damit der Situation und dem diagnostischen Vorgehen bei der Hypothyreose des Menschen und den dort erarbeiteten diagnostischen Leitlinien [6].

→ wmueller@alomed.de

Literatur

- [1] Kraft W. & Ruschig S. (1996): Canines Thyreoidea-stimulierendes Hormon (cTSH) als Diagnostikum der caninen Hypothyreose. *Kleintierpraxis* 41: 795-799
- [2] Peterson M.E. et al. (1997): Measurement of serum total thyroxine, triiodo-thyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations for diagnosis of hypothyroidism in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 211: 1396-1402
- [3] Dixon R.M. & Mooney C.T. (1999): Evaluation of serum free thyroxine and thyrotropin concentrations in the diagnosis of canine hypothyroidism. *J. Small. Anim. Pract.* 40: 72-78
- [4] Boretti F.S. & Reusch C. (2004): Endogenous TSH in the diagnosis of hypothyroidism in dogs. *Schweiz. Arch. Tierbeilk.* 146: 183-188
- [5] Müller, W. (2003): Überraschende Ergebnisse bei Diagnostik und Therapie-Überwachung der Hypothyreose des Hundes. Vortrag Arbeitstagung Süd in Ravensburg, FG Kleintierkrankheiten der DVG
- [6] Dietlein M., et al. (2003): Leitlinie zur Schilddrüsendiagnostik. *Deutsche Gesellschaft für Nuklearmedizin e.V., Göttingen*

Tab. 4 Vergleich mit bisherigen Studien

| Autoren | Fallzahl | Methodik Referenzwerte | | | Diagnostische Sensitivität/Spezifität | | |
|------------------------------|----------|------------------------|----------------------------|--|---------------------------------------|--------|----------------------------------|
| | | cT4 (nmol/l) | cTSH (µg/l) | TSH-Stimulation (T4-Differenz) | cT4 | cTSH | cT4/cTSH-Quotient (Ref.-Bereich) |
| Peterson et al. 1997 | 54 | RIA-DPC 13-51 | IRMA-DPC 0,1-0,7 | 0,1 U/kg KG i.v., 6h (> 20) | 89/82 | 76/93 | --- |
| Scott-Moncrieff et al., 1998 | 16 | RIA-DPC 12,7-34,4 | IRMA-DPC 0,02-0,45 | 0,1 U/kg KG i.v., 6h (> 19,3) | 100/78 | 63/88 | --- |
| Dixon/Mooney 1999 | 30 | RIA-Chiron > 14,9* | IRMA-DPC ≤ 0,68* | 0,1 IU/kg KG i.v., 6h (> 20) | 100/75 | 87/82 | 87/92 (> 17,2*) |
| Boretti/Reusch 2004 | 26 | RIA-DPC ? | Immulate-DPC > 0,6 | 1 IU bis 25 kg 2 IU > 25 kg i.m., 6h (> 32) | -- | 58/100 | --- |
| vorliegende Studie | 38 | Immulate-DPC > 7,9* | Immulate-DPC 0,04-0,59* | 1 IU bis 25 kg 2 IU > 25 kg i.m., 6h (> 12,3) | 84/91 | 92/88 | 92/96 (> 11,5*) |

* Referenzwertermittlung mit ROC-Analyse

take home

Aus der Studie ergeben sich klare Hinweise auf die Eignung des cT4/cTSH-Quotienten – ermittelt mit den beschriebenen Testverfahren – als diagnostischer Marker der caninen Hypothyreose. Aufgrund der für das cTSH gefundenen höchsten diagnostischen Sensitivität empfiehlt es sich als Eingangsuntersuchung bei Hypothyreose-Verdacht. Bei erhöhtem Resultat sollte zur Diagnosesicherung zusätzlich cT4 bestimmt und der cT4/cTSH-Quotient ermittelt werden.

Studienaufbau, Patientengut, Probengewinnung und Laboranalysen

Unsere Studie wurde prospektiv und multizentrisch durchgeführt. In den 5 beteiligten Praxen und Kliniken wurden insgesamt 72 Hunde entweder aufgrund eines klinischen Hypothyreose-Verdacht, oder einer ermittelten Serum-T4-Konzentration von kleiner 12nmol/l in die Studie einbezogen. Ausschlusskriterium war eine bestehende oder weniger als 3 Monate zurückliegende Medikation.

Die Referenzbereiche der Hormone einschließlich des TSH-Stimulationstestes wurden an einem Kollektiv von 43 gesunden Hunden (12 verschiedene Rassen, Alter: 10 Monate bis 15 Jahre, Median: 3,5 Jahre, klinisch und labormedizinisch unauffällig) ermittelt.

Die in den Praxen und Kliniken erhobenen klinischen und anamnestischen Daten wurden von dem Tierarzt in einem einheitlichen Anamnese- und Dokumentationsbogen erfasst. Die Blutentnahme erfolgte jeweils in den Praxen/Kliniken, sämtliche Laboruntersuchungen wurden bei ALOMED durchgeführt.

Als entscheidendes Diagnosekriterium der primären Hypothyreose wurde der Nachweis einer subnormalen cT4-Differenz des TSH-Stimulationstestes festgelegt (bei Anwendung des unter den gewählten Studienbedingungen ermittelten Referenzbereichs).

Es wurden zwei spezielle Veterinär-Testkits (cT4, cTSH) auf dem automatisierten Chemilumineszenz-Immunoassay-System IMMULITE der DPC Biermann GmbH (Bad Nauheim) eingesetzt. Diese Hormonbestimmungen wurden jeweils aus derselben Serumprobe in einem Geräteauf durchgeföhrt.

Der TSH-Stimulationstest wurde, nachdem das Einverständnis des Besitzers vorlag, mit einer i.m.-Injektion von 1 IU (< 25 kg Körpergewicht, KGW), bzw. 2 IU (> 25 kg KGW) bovinem TSH durchgeführt. Direkt vor Injektion und 6 Stunden danach wurde Blut entnommen, daraus nach spätestens 30 Minuten durch Zentrifugation Serum gewonnen und das Serum (nach maximal 20 Stunden Lagerung zwischen 4 bis 20°C) zur Bestimmung der Hormone eingesetzt. Die Bestimmung von cT4 aus den Serumproben vor und nach TSH-Stimulation und die Bestimmung von cTSH aus der Serumprobe der basalen Blutentnahme wurden jeweils in einem Analysengang durchgeführt.

Zusätzlich zu den Hormonbestimmungen wurden von allen Tieren aus dem Serum ein komplettes klinisch-chemisches Profil (WAKO 20R, Biochemical Analyzer) und aus dem EDTA-Blut ein großer Blutstatus (Bayer, H*1 VET) mit einer zusätzlichen mikroskopischen Leukozyten-Differenzierung (von nach Pappenheim gefärbten, direkt nach der Blutentnahme hergestellter Blutaussstrichen) erstellt.

Klinik der Caninen Hypothyreose

Die Schilddrüsenhormone beeinflussen neben dem Wachstum und dem Funktionszustand der meisten Organe auch wesentliche Prozesse des Kohlenhydrat-, Eiweiß- und Lipidstoffwechsels, sowie die Erythropoese und das reproduktive endokrine System. Ein Mangel an Schilddrüsenhormonen kann daher eine breit gefächerte Symptomvielfalt hervorrufen, ohne dass pathognomonische Symptome auftreten. Andererseits können aber Erkrankungen vieler Organe und metabolische Störungen auch auf die Schilddrüse zurück wirken. Klinisch manifestiert sich die canine primäre Hypothyreose vor allem durch Lethargie und Bewegungsunlust, Gewichtszunahme, Fellprobleme und Bradykardie.



Keine Wertefabrik!

**Wir sichern
Qualität und Aussagekraft
jedes einzelnen Befundes!**

- Klinisch relevante Profile für Schilddrüse, Hypercalcämie und Altersvorsorge
- Endokrinologische Spezialanalysen mit praxistauglicher Präanalytik (ACTH, PTH, PTHrP)
- Nierenfrühdiagnostik mit dem Inulinausscheidungstest
- Breites Angebot in der Infektionsdiagnostik
- Hämatologie - Großer Blutstatus immer mit mikroskopischer Leukozyten-Differenzierung

Deutschland:
Postfach 1440
D-78304 Radolfzell
Tel. +49(0)7732 95 27 0
Fax +49(0)7732 95 27 27

Schweiz:
Postfach 181
CH-8260 Stein am Rhein

info@alomed.de
www.alomed.de

