

**Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit und
Variabilität der T4-Messung bei drei deutschen,
kommerziellen, veterinärmedizinischen Laboratorien**

von Teresa Manon Sophie Alice Böhm

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

**Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit und
Variabilität der T4-Messung bei drei deutschen,
kommerziellen, veterinarmedizinischen Laboratorien**

von Teresa Manon Sophie Alice Böhm

aus Saarbrücken

München, 2018

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. Ralf S. Mueller

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Ralf S. Mueller

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Bernd Kaspers

Tag der Promotion: 27.07.2018

**Für meine Mutter,
meine Schwester
und Elmar**

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	9
II.	LITERATURÜBERSICHT	11
1.	Physiologie der Schilddrüse	11
1.1.	Anatomie und Histologie der Schilddrüse	11
1.2.	Deiodierung	14
1.3.	Funktion der Schilddrüsenhormone	14
2.	Grundlagen der Hypothyreose.....	16
2.1.	Klassifikation	16
2.2.	Epidemiologie	17
2.3.	Allgemeine Pathogenese	18
2.4.	Genetische Faktoren	20
2.5.	Umweltfaktoren	20
2.6.	"Euthyroid sick syndrome"	21
2.7.	Klinik	23
3.	Diagnosestellung der Hypothyreose.....	28
3.1.	Übersicht Hormonparameter	28
3.2.	Gesamt-Thyroxin	29
3.3.	Freies Thyroxin	30
3.4.	Gesamt- und freies Triiodthyronin	30
3.5.	TSH-Stimulationstest	31
3.6.	TRH- Stimulationstest	32
3.7.	Thyreoglobulin - Autoantikörper	32
3.8.	Blutbild	33
3.9.	Serumbiochemie	33
3.10.	Urinanalyse	34
3.11.	Sonographie der Schilddrüse	34
3.12.	Biopsie der Schilddrüse	35
3.13.	Computertomographie, Magnetresonanztomographie und nuklearmedizinische Ansätze	35
3.14.	Genetische Vorsorgeuntersuchung	36
3.15.	Therapieversuch	37
3.16.	Enzymimmunoassay (EIA)	37

3.17.	Chemilumineszenz-Immunoassay (CLIA)	39
3.18.	Beeinflussende Faktoren der Labortests	40
4.	Therapie der Hypothyreose.....	41
4.1.	Medikamentelle Therapie	41
4.2.	Therapieversagen.....	44
4.3.	Therapiekontrolle	44
4.4.	Prognose.....	45
III.	MATERIAL UND METHODEN.....	46
1.	Tierpopulation	46
2.	Einschlusskriterien der Hunde.....	46
3.	Ausschlusskriterien der Hunde.....	46
4.	Aufklärung der Besitzer	47
5.	Durchführung der Probenverteilung.....	47
6.	Statistische Methoden.....	48
6.1.	Bland Altman-Plot	48
6.2.	Cohens Kappa-Koeffizient.....	49
6.3.	Spearman-Korrelationstest.....	51
6.4.	Intraassay-Variabilität.....	51
6.5.	Interassay-Variabilität.....	52
6.6.	Reproduzierbarkeit	52
IV.	ERGEBNISSE	53
1.	Der Bland Altman-Plot.....	55
2.	Der Cohens Kappa-Wert.....	57
3.	Spearman-Korrelationstest	57
4.	Intra- und Interassay-Variabilität	57
5.	Reproduzierbarkeit und Variabilität.....	58
V.	DISKUSSION	59
1.	Patientenauswahl.....	59
2.	Alter, Rassefaktoren und Geschlecht.....	59

3.	Transport der Proben.....	60
4.	Laborauswahl	60
5.	Messmethoden	61
6.	Mögliche Fehlerquellen	61
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	64
VII.	SUMMARY	65
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	66
IX.	ANHANG.....	79
X.	DANKSAGUNG.....	80

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ALT	Alaninaminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
AST	Aspartattransaminase
CK	Serumkreatinkinase
CLIA	Chemilumineszenz-Immunoassay
DLA	(dog leukocyte antigen) Hunde Leukozyten Antigen
EIA	Enzyme Immunoassay
EPO	Erythropoetin
ESS	Euthyroid sick syndrome
FRTL-5-Zellen	Fisher rat thyrocytes cell line no. 5
HHSA	Hypothalamus- Hypophysen-Schildrüsenachse
HLA	Humanem Leukozyten Antigen
IFN- γ	Interferon- gamma
IL-1 α	Interleukin-1- alpha
IL-1 β	Interleukin-1- beta
K	Cohens Kappa Koeffizient
LDH	Laktatdehydrogenase
MCSA	Maximal cross sectional area
PAS	Periodic acid-Schiff reaction
RIA	Radioimmunoassay
rT3	Reverses Triiodthyronin
sog.	sogenannt
TBG	Thyroxin-bindendes Globulin
TgAA	Thyroglobulinautoantikörper
TNF- α	Tumor Nekrose Faktor α
T2	Diiodthyronin
T3	Triiodthyronin
T4	Thyroxin
TRH	Thyrotropin Releasing Hormon
TSH	Thyreoidea-stimulierendem Hormon
TT4	Gesamt Thyroxin
γ -GT	γ -Glutamyltransferase

I. EINLEITUNG

Die Hypothyreose ist eine der häufigsten Endokrinopathien beim Hund (REESE et al., 2005; BIANCHI et al., 2015). Die Grundursache stellt eine Kombination aus umweltbedingten und genetischen Faktoren dar (REESE et al., 2005; BIANCHI et al., 2015). Eine erbliche Genese wird durch ein gehäuft familiäres Auftreten vermutet (GRAHAM et al., 2001; AHLGREN und UIMARI, 2016). Eine erhöhte Rasseprädisposition wurde bei den Rassen Rhodesian Ridgeback, Englischer Setter, Gordon Setter, Beagle, Bobtail, Riesenschnauzer, Dobermann, Hovawart und Boxer beschrieben (SCOTT und PARADIS, 1990; GRAHAM et al., 2001; ZIENER et al., 2015).

Ursächlich wird in den meisten Fällen von einem immunmedierten Geschehen oder einer idiopathischen Atrophie ausgegangen (GRAHAM et al., 2001; GRAHAM et al., 2007; SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Das vielfältige Krankheitsbild beschreibt Leitsymptome wie Apathie, Lethargie, Kälteintoleranz sowie Gewichtszunahme ohne vermehrte Futteraufnahme. Alopezie, rezidivierende Pyodermien und *Seborrhoea sicca oder oleosa* sind häufigere Hautsymptome (PANCIERA, 1999; SCOTT-MONCRIEFF, 2007).

In Deutschland wird für die Überprüfung der Schilddrüsenfunktion oftmals der Gesamt-Thyroxinwert (TT4-Wert) herangezogen. Allerdings wird dieser durch zahlreiche extrathyroidale Faktoren sowie individuelle physiologische oder pathologische Gegebenheiten beeinflusst, ein möglicher Grund, weshalb die canine Hypothyreose die am häufigsten fehldiagnostizierte Endokrinopathie in der Kleintiermedizin darstellt (PANCIERA, 1999; REESE et al., 2005; SCOTT-MONCRIEFF, 2007; MILLER et al., 2013). Verschiedene Rassen, wie zum Beispiel Windhunde oder Schlittenhunde weisen zum Beispiel einen physiologisch niedrigen TT4-Wert auf (PANCIERA, 1999). Bei etwa 95 % der Hypothyreose-Patienten lässt sich ein erniedrigter TT4-Wert feststellen (KEMPPAINEN, 2001), weshalb dieser allein nicht als sicheres Diagnostikum für eine Hypothyreose angesehen werden sollte (KEMPPAINEN, 2001).

In Deutschland gibt es für die TT4-Wertbestimmung bislang noch keine Studien über die Intra- und Interassay-Variabilität. Eine schlechte Übereinstimmung (eine hohe Intra- und Interassay-Variabilität) der aus demselben Serum bestimmten TT4-Werte würde die Verlässlichkeit dieser Laborbestimmung deutlich mindern.

Ohnehin wird von einigen Autoren die Notwendigkeit betont, die klinische Symptomatik des Patienten in Kombination mit den Laborwerten für die Diagnosesicherung dieses Krankheitsbildes zu betrachten. Zahlreiche weitere Laborparameter stehen neben dem TT4-Wert ergänzend zur Verfügung, um das Vorliegen einer caninen Hypothyreose zu überprüfen: Das freie T4, TRH, TSH, Anti-T4-Antikörper, T3, Anti-Thyreoglobulin-Antikörper und Anti-T3-Antikörper können evaluiert werden. Jenseits dieser Schilddrüsenparameter stellen Schilddrüsenfunktionstests aktuell den Goldstandard der Hypothyreosediagnostik dar: Hier stehen den Tierärzten sowohl ein TSH- als auch ein TRH-Stimulationstests zur Verfügung. Auch histopathologische Untersuchungen und die Sonographie der Schilddrüse sind hilfreiche, diagnostische Optionen (KEMPPAINEN, 2001; REESE et al., 2005; FERGUSON, 2007).

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Physiologie der Schilddrüse

1.1. Anatomie und Histologie der Schilddrüse

Die Schilddrüse (*Glandula thyreoidea*) befindet sich beim Hund dorsolateral der Trachea in Höhe der fünften bis neunten Trachealspange. Die Bezeichnung "Schilddrüse" trifft eigentlich nur beim Menschen zu, bei welchem sich das Organ tatsächlich auf dem Schildknorpel befindet (KÖNIG und LIEBICH, 2014). Das Organ ist von rotbrauner Farbe, mit glatter Oberfläche, derber Konsistenz und ist von einer dünnen, bindegewebigen Kapsel (*Capsula fibrosa*) umhüllt (NICKEL et al., 2004; KÖNIG und LIEBICH, 2014). Es besteht aus einem rechten (*Lobus dexter*) und einem linken Seitenlappen (*Lobus sinister*), die an ihren kaudalen Polen über einen bindegewebigen Isthmus verbunden sind, welcher wiederum die Trachea umgreift. Letzterer kann bei kleineren Hunden fehlen, bei großen Hunden enthält er möglicherweise auch Drüsengewebe (NICKEL et al., 2004). Die Seitenlappen sind beim Hund oval, länglich geformt und liegen der Trachea dorsolateral auf. Das Gewicht und die Größe der Schilddrüse sind ferner von Alter, Größe, Rasse und Geschlecht des Hundes abhängig (NICKEL et al., 2004).

Von der Kapsel aus ziehen zarte Bindegewebssepten in das Organinnere, welche die Schilddrüse in Lappen und Läppchen gliedern (LIEBICH, 2009). Das Parenchym (die Funktionseinheit der Schilddrüse) bilden die Schilddrüsenfollikel (*Follikuli*), welche von einem kubischen oder hochprismatischen Epithel ausgekleidet sind. Die Mikrovilli der Epithelzellen der Schilddrüsenfollikel bilden die Funktionseinheit für die Biosynthese der Schilddrüsenhormone. Parafollikuläre, calcitoninproduzierende C-Zellen befinden sich zwischen den Follikeln. Das über die Nahrung aufgenommene Iodid wird aktiv in die Epithelzellen transportiert. Die Epithelzellen der einschichtigen Wand sind zum Inneren des Organs hin polarisiert. Das Inkret der Schilddrüse, das Kolloid, ist eine gelatinöse Masse, die im Inneren der Follikel gespeichert wird. Es wird von den Epithelzellen produziert und kann histopathologisch mittels einer PAS-Färbung (*Periodic acid-Schiff-Reaktion*) oder einer azidophilen Färbung beurteilt werden (LIEBICH, 2009). Das Kolloid kann funktionsabhängig durch Wasserentzug eingedickt werden. Je nach Funktionszustand variiert entsprechend die Morphologie der Follikel und somit der Schilddrüse. Diese ist beispielsweise abhängig vom Sexualzyklus des Hundes und

von saisonalen Einflüssen. Die Schilddrüse kann größere Mengen von Schilddrüsenhormonen inaktiv speichern, weshalb das Organ auch als Speicher- oder Stapeldrüse bezeichnet wird (NICKEL et al., 2004). Allerdings benötigen Fleischfresser weniger Schilddrüsenhormon-Speicherkapazität als andere Tierarten, da sie die Schilddrüse ihrer Beute nutritiv aufnehmen. Es existieren drei Zustandsphasen der Schilddrüsenfollikel: Die Stapelform (und somit Speicherphase), die Reabsorptionsform und die Sekretionsform (oder Synthesephase). Jedoch befinden sich die Follikel nicht alle zur selben Zeit gleichen Funktionszustand (LIEBICH, 2009).

Die Follikel sind von einer Basalmembran umschlossen, welche ein Geflecht aus Lymphgefäß (Rete lymphocapillare), retikulären Fasern und fenestrierten Kapillaren (Rete capillare) enthält (LIEBICH, 2009). Die Epithelzellen der Follikel absorbieren aus den Kapillaren Monosaccharide, Aminosäuren und Iodid. Im rauen endoplasmatischen Retikulum wird Thyreoglobulin produziert und als Kolloid in den Follikeln gespeichert. Mittels Exozytose wird das Hormon in das Lumen der Follikel abgegeben (LIEBICH, 2009). Im endoplasmatischen Retikulum wird zeitgleich durch eine Peroxidase (Thyroidperoxidase) Iodid zu Iod oxidiert und gleichermaßen in das Lumen ausgeschleust. Dieses Enzym oxidiert Iodid in elementares Iod. Die Anlagerung des Iods an die Tyrosinmoleküle erfolgt an Position drei oder fünf. Zwei Diiodthyrosine kondensieren durch enzymatische Kopplung unter Alaninabspaltung zu Thyroxin (T4), und ein Monoiodthyrosinrest und Diiodthyrosin kondensieren zu Triiodthyronin (T3). Diese Verbindungen verbleiben zunächst im Kolloid an Thyreoglobulin gekoppelt. T4 wird nachfolgend durch 5'-Deiodierung zu T3 deiodiert. Das Verhältnis von T4 und T3 liegt im Körper des Hundes bei 13:1. Im Gegensatz zum Mensch, welcher 80 % des T3 aus extrathyroidaler Deiodination von T4 bezieht, sind beim Hund 40% bis 60% von extrathyroidaler Herkunft (FERGUSON, 2007). T3 wird vor allem extrathyroidal in Muskulatur, Niere und Leber synthetisiert und ist drei bis zehnfach wirksamer als T4 (GRÜNBAUM und ALEF, 2006). Bei ausgeprägter kataboler Stoffwechsellage, wie in Hungerzuständen, Erschöpfungszuständen sowie bei gravierenden nicht-thyroidalen Erkrankungen wird die inaktive Form des T3s gebildet, das reverse T3 (rT3) (GRÜNBAUM und ALEF, 2006). Dieser Mechanismus limitiert den Verbrauch von Energieressourcen des Organismus in Zeiten von niedrigerem Bedarf (KLINKE et al., 2009).

Die Freisetzung der Schilddrüsenhormone wird durch drei Mechanismen reguliert: Die Iod-Aufnahme durch Nahrung (bei Ioddefizit stagniert die Schilddrüsenhormonproduktion), die neuroendokrine Feedbackschleife durch die HHSA sowie durch den extra-thyroidalen Metabolismus von T4 zu T3 und T3 zu rT3 (KLINKE et al., 2009). Die Produktion von T4 und T3 wird über die Hypothalamus- Hypophysen-Schilddrüsenachse (HHSA) reguliert und unterliegt einem negativen Feedbackmechanismus, wobei besonders das aktive T3 die Ausschüttung des TRHs hemmt (GRÜNBAUM und ALEF, 2006). Bei Bedarf an aktiven Schilddrüsenhormonen steuert der Hypothalamus die pulsatile Ausschüttung des Tripeptids Thyreotropin Releasing Hormon (TRH), welches in den hypophysären Portalkreislauf zur Hypophyse gelangt (HEINRICH et al., 2014b). Die Synthese wird vorwiegend durch noradrenerge Stimuli reguliert und weniger durch die Feedbackkontrolle von T4 und T3 (KLINKE et al., 2009). In den Abendstunden erfolgt die höchste Freisetzung von TRH (HEINRICH et al., 2014a). Neben den Tageszeiten und den Jahreszeiten beeinflussen auch andere Faktoren wie Alter, Rasse, Geschlecht und Körpergewicht des Hundes den Gesamt-Thyroxinwert. (REIMERS et al., 1990; MILLER et al., 1992; SCOTT-MONCRIEFF, 2012). Durch eine Peptidase wird TRH aus seinem Vorläuferpeptid dem Pro-TRH abgespalten (KLINKE et al., 2009). In den Zellen der Hypophyse erfolgt die Bindung an einen membranständigen Rezeptor. Es erfolgt ein Calcium Einstrom in die Zellen sowie eine Freisetzung aus intrazellulären Calciumspeichern (KLINKE et al., 2009). Als Folge wird Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat hydrolytisch gespalten und stimuliert die Sekretion von TSH oder Prolactin (KLINKE et al., 2009). Durch diesen Stimulus wird thyreostimulierendes Hormon (TSH) von der Adenohypophyse sezerniert und setzt die Verflüssigung des Kolloids in Gang. Durch lysosomale Proteasen wird das Thyreoglobulin hydrolysiert. Vor allem Thyroxin und kleinere Mengen an Triiodthyronin werden aus den Epithelzellen der Follikel an die angrenzenden Kapillaren abgegeben (ENGELHARDT et al., 2015). Nachfolgend wird es durch Endozytose in Phagosomen absorbiert. Das Thyreoglobulin wird nun von den Epithelzellen der Follikel aufgenommen. Durch Proteolyse werden T3 und T4 abgespalten und in den Blutkreislauf eingespeist (KÖNIG und LIEBICH, 2014). Im Blut liegen die lipidlöslichen Schilddrüsenhormone an Präalbumine und Globuline gebunden vor. Thyroxin hat im Vergleich zu Triiodthyronin eine stärkere Affinität zu den Trägerproteinen und verfügt somit über eine längere Halbwertszeit. Triiodthyronin

ist das an den Endrezeptoren wirksame Schilddrüsenhormon. Es wird durch Deiodinasen aus Thyroxin erzeugt. Die Deiodierung erfolgt im peripheren Gewebe und das Iod kann für die Hormonsynthese wiederverwertet oder renal eliminiert werden (GRÜNBAUM und ALEF, 2006). Ein kleiner Teil der iodfreien Thyronine wird über Urin und Galle eliminiert (ENGELHARDT et al., 2015).

1.2. Deiodierung

Drei Isoenzyme, spezifische Deiodasen (Deiodase-1, Deiodase-2, Deiodase-3) steuern den Metabolismus der Schilddrüsenhormone (KLINKE et al., 2009). Deiodase-1 findet sich vor allem in der euthyreoten Schilddrüse, Niere und Leber, während Deiodase-2 häufiger in der hypothyreoten Schilddrüse, Lunge, braunem Fettgewebe, Gehirn, Hypophyse, Astrozyten und im Muskel vorgefunden wird. Deiodase-2 deiodiert intrazellulär T4 zu T3 wohingegen zirkulierendes T3 durch die Deiodase-1 gebildet wird (KLINKE et al., 2009). Die Deiodase-3 findet sich am häufigsten in auf Schilddrüsenhormone nicht ansprechende Geweben (HEINRICH et al., 2014a). Für Deiodase-1 besteht eine höhere Affinität zu T3, Typ zwei bindet vorrangig an T4 und Deiodase-3 ist für die Herunterregulation der Schilddrüsenhormone das ausschlaggebende Enzym. Sie wandelt Thyroxin in rT3 und T3 zu Diiodthyronin (T2) um, welches inaktiv ist (HEINRICH et al., 2014a).

1.3. Funktion der Schilddrüsenhormone

Die maßgebliche Funktion der Schilddrüsenhormone ist die Steigerung des Grundumsatzes des Körpers (MILLER et al., 2013). Ein Überschuss erzeugt eine Übererregbarkeit, ein Defizit eine Trägheit der Neuronen des zentralen Nervensystems. Bei Amphibien erzeugen sie die Anregung der Metamorphose. Beim Hund verursachen sie eine gesteigerte Herz- und Atemfrequenz. Durch die Stimulierung der Proteinbiosynthese des Wachstumshormons sind sie maßgeblich am Wachstum von Embryonen und Reifung deren Nervensysteme beteiligt. T4 und T3 haben des Weiteren eine sympathomimetische, permissive Wirkung über eine Steigerung der Menge an β -Adrenozeptoren und Reduktion der α -Rezeptoren vor allem am Herzen, aber auch in Lymphozyten, Fettgewebe und Muskulatur (KLINKE et al., 2009). So kann es bei einer Hyperthyreose zu starken Tachykardien und Arrhythmien kommen (KLINKE et al., 2009).

Bei Bedarf induzieren Schilddrüsenhormone den Abbau des Körper-Depotfetts, stimulieren die Glykogenolyse in Leber und Muskel, erhöhen die Kohlenhydratresorption im Darm und steigern die Diurese in der Niere (GRÜNBAUM und ALEF, 2006; ENGELHARDT et al., 2015). Auch die anagene Phase der Haarfollikel wird durch Schilddrüsenhormone initiiert (MILLER et al., 2013). Somit kommt es bei caninen Hypothyreose-Patienten häufiger dazu, dass Follikel im telogenen Stadium stagnieren, was in vermindertem Haarwachstum, Hypotrichose und Alopezie resultieren kann (MILLER et al., 2013). Eine Thyroxinsupplementierung kann im gesamten Körperbereich ein beschleunigtes Wachstum der Haare auslösen, und vor allem im Flankenbereich zu einer erhöhten Dichte an anagenen Haarfollikeln führen (GUNARATNAM, 1986). Als Ursache für die Flankenalopezie könnte eine lokal verminderte Deiodierung von Schilddrüsenhormonen verantwortlich sein (RUDAS et al., 1994).

Auf Zellebene werden vor allem der Verbrauch von Sauerstoff im Gewebe und die zytoplasmatische Proteinsynthese gesteigert (MILLER et al., 2013). Es wird angenommen, dass Schilddrüsenhormone bei Säugetieren maßgeblich für die Reifung und Differenzierung der Haut und ihrer physiologischen Funktion verantwortlich sind (MILLER et al., 2013). Schilddrüsenhormone sind somit auch ein entscheidender Faktor für die Hautwundheilung, da Triiodthyronin die Genexpression für die Keratinozytenproliferation stimuliert (SAFER et al., 2004). Mittels Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion im Mausmodel wurde eine höhere Genexpression für Keratin 6a und Keratin 17 bei gesunden Mäusen im Vergleich zu hypothyreoten Mäusen festgestellt (SAFER et al., 2004). Hypothyreosepatienten neigen des Weiteren zur Hämatombildung und weisen eine schlechtere Wundheilung auf (MILLER et al., 2013). Beim Menschen konnten Veränderungen der Thrombozytenqualität sowie ein Mangel an Gerinnungsfaktoren (VII, VIII, IX, X, XI und XII) sowie eine verlängerte Halbwertszeit der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren (II, VII, IX und X) nachgewiesen werden (FRANCHINI, 2004). Dies erklärt den erhöhten Bedarf an Warfarin zur Antikoagulationstherapie solcher Patienten (CHUTE et al., 1997). Da T4 die Produktion des Faktors VIII und dem Faktor-VIII-assoziierte Antigens stimuliert, kann es zu einer Verschlechterung der Koagulation bei Hunden mit *Von-Willebrand-Faktor*-Mangel kommen (MILLER et al., 2013).

2. Grundlagen der Hypothyreose

2.1. Klassifikation

Die canine Hypothyreose lässt sich sowohl nach dem Zeitpunkt ihres Auftretens (angeboren oder erworben) sowie dem Ort der Störung gliedern (primäre, sekundäre und tertiäre Hypothyreose). Bei der angeborenen (kongenitalen) Form (Kretinismus) handelt es sich um eine sehr seltene Erkrankung (REUSCH und BORETTI, 2006). Reusch et al. postulierten jedoch, dass ihre Inzidenz möglicherweise unterschätzt wird, da die meisten Patienten bereits direkt post partum versterben. Am häufigsten liegt ihr Ursprung in einer Dysgenesie der Schilddrüse (Aplasie, Ektasie oder Hypoplasie), einem Iodmangel (alimentär) oder einer unphysiologischen Hormonsynthese (Dyshormonogenese; Iodinationsdefekt), in selteneren Fällen ist sie durch eine Störung der Hypophyse sowie epiphysealen Dysgenese bedingt (REUSCH und BORETTI, 2006; SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Beim Toy Fox Terrier ist ein autosomal-rezessives, thyroidales Peroxidasedefizit beschrieben (FYFE et al., 2003). In den meisten Fällen liegt jedoch die erworbene Form einer primären Hypothyreose vor (SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Die Funktionsstörung der Schilddrüse selbst wird als primäre Hypothyreose bezeichnet, diese Form überwiegt beim Hund mit ungefähr 95 % der Fälle (FERGUSON, 2007; GRAHAM et al., 2007; SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Ursächlich liegen zumeist eine idiopathische Atrophie oder eine lymphozytäre Thyreoiditis zugrunde. Seltener liegt eine metastatische Invasion der Schilddrüse oder eine bilaterale Neoplasie vor (SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Eine Verminderung der Hormonproduktion ist erst klinisch feststellbar, nachdem 75% der Schilddrüse zerstört wurden (FERGUSON, 2007).

Der Mangel an Thyreotropin, die sekundäre Hypothyreose und somit zweite Form, wird nur selten beim Hund beschrieben (SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Ursächlich berichtet werden hypophysäre Missbildungen (Zysten oder Hypoplasien), hypophysäre Neoplasien oder Erkrankungen die zu einer Suppression thyreotroper Zellen der Hypophyse führen, wie zum Beispiel Hyperadrenokortizismus, ESS, sowie iatrogene Ursachen wie Hypophysektomien und Bestrahlungstherapien. Aus einer Dysfunktion der thyreotropen, hypophysären Zelllinien kann ein Mangel an TSH resultieren, welcher zu einer follikulären Atrophie der Schilddrüse führt (NELSON und GUILLERMO COUTO, 2010). Iatrogen kann die sekundäre Hypothyreose ferner zum Beispiel durch

Glukokortikoidgabe ausgelöst werden (NELSON und GUILLERMO COUTO, 2010). Die sekundäre Hypothyreose liegt bei weniger als 5% der Fälle vor (REUSCH und BORETTI, 2006).

Ein Mangel an Thyrotropin Releasing Hormon beim tertiären Hypothyreoidismus, wurde laut Scott-Moncrieff et al. bis 2007 noch nicht beschrieben (SCOTT-MONCRIEFF, 2007). In genau diesem Jahr beschrieben jedoch Shiel et al. einen Fall von tertiärem Hypothyreoidismus bei einer tumorösen Infiltration im Hypothalamus (SHIEL et al., 2007b).

Die canine Hypothyreose kann auch iatrogen (durch einen Tierarzt) verursacht werden. Eine chirurgische Exzision der Schilddrüse sowie eine Therapie mit, Radioiodtherapie (^{131}I) und anti-thyreoidale Medikamente (Thyreostatika) können eine Hypothyreose verursachen (SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Die Folgen können in einer primären oder sekundären Hypothyreose resultieren.

Tabelle 1: Die Formen der Hypothyreose und ihre möglichen zugrundeliegenden Ursachen

PRIMÄR	SEKUNDÄR	TERTIÄR	KONGENITAL
<ul style="list-style-type: none"> • Idiopathische Atrophie • Lymphozytäre Thyreoiditis • Tumoröser Zellabbau • Iatrogen (chirurgische Exzision, Radioiod-therapie, Thyreostatika) 	<ul style="list-style-type: none"> • Dysplasie der Hypophyse (Hypoplasie oder Zysten) • ESS • M. Cushing • hypophysäre Neoplasien • Iatrogen (Hypophys-ektomien, Bestrahlungs-therapien) 	<ul style="list-style-type: none"> • Mangel an TRH • Tumoröse Infiltration des Hypothalamus 	<ul style="list-style-type: none"> • Dysgenesie der Schilddrüse • Dyshormogenese • alimentärer Iodmangel

2.2. Epidemiologie

Für die Hypothyreose besteht keine Geschlechtsprädisposition, allerdings wird in manchen Veröffentlichungen von einem gehäuften Auftreten bei kastrierten Hunden (Hündinnen als auch Rüden) berichtet (PANCIERA, 1994b; MILLER et al., 2013). Eine englische Studie konnte dies nicht belegen (DIXON et al., 1999). Die canine Hypothyreose hat eine Prävalenz von 0,2 - 0,8 % der Gesamtpopulation (DIXON et al., 1999; SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Sie kann in jedem Alter auftreten, allerdings liegt das Durchschnittsalter der Diagnose bei sieben Jahren mit

einer Spanne zwischen 0,5 bis 15 Jahren (SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Der Krankheitsbeginn kann bei großen Rassen und Rassen mit Prädisposition früher beobachtet werden (im Alter von zwei bis drei Jahren) (MOONEY, 2011). Die erworbene Hypothyreose betrifft sämtliche Hunderassen (MILLER et al., 2013), jedoch ist bei den Rassen Gordon Setter, Dobermann, Englischer Setter, Beagle, Riesenschnauzer Bobtail, Rhodesian Ridgeback, Hovawart und Boxer eine erhöhte Prävalenz beschrieben (SCOTT und PARADIS, 1990; GRAHAM et al., 2001; ZIENER et al., 2015). Eine mögliche erbliche Komponente wird bei Vorliegen von gehäuft familiären Fällen vermutet (GRAHAM et al., 2001; AHLGREN und UIMARI, 2016). Für die kongenitale Hypothyreose liegt eine Rasseprädisposition beim Bullmastiff, Schottischer Hirschkopf, Mongrel, und Deutschem Schäferhund vor (BEALE et al., 1990; MILLER et al., 2013).

2.3. Allgemeine Pathogenese

Die Grundursache der caninen Hypothyreose ist entweder angeborenen oder erworbenen Ursprungs (MILLER et al., 2013). Die angeborene Hypothyreose ist assoziiert mit einem Defizit an funktionalem Schilddrüsengewebe. Dies liegt im Falle der seltenen angeborenen Formen der Agenesie, Dysgenesie oder Dyshormonogenese der Schilddrüse vor, die meistens zu einem frühen Tode kurz nach der Geburt resultieren (REUSCH und BORETTI, 2006).

Die erworbene Form liegt bei 90 % der Hypothyreosepatienten vor (MILLER et al., 2013). In den meisten Fällen handelt es sich entweder um eine idiopathische Atrophie (Verlust des Schilddrüsenparenchym und Ersatz durch Fettgewebe) oder eine lymphozytäre Thyreoiditis (REUSCH und BORETTI, 2006; GRAHAM et al., 2007). Der progressive Krankheitsverlauf resultiert im Verlust des thyroidalen Parenchym (REUSCH und BORETTI, 2006; GRAHAM et al., 2007). Die lymphozytäre Thyreoiditis liegt bei etwa 50 % der Fälle der erworbenen Hypothyreose vor (REUSCH und BORETTI, 2006; GRAHAM et al., 2007). Sie resultiert aus einer fortschreitenden, immunmedierten Zerstörung des Schilddrüsengewebes, welches schließlich progredient durch Bindegewebe ersetzt wird (MOONEY, 2011). Dieses Krankheitsbild ist histologisch durch eine multifokale Infiltration der Schilddrüse von Lymphozyten, Makrophagen und Plasmazellen gekennzeichnet (MOONEY, 2011). Im Blut zirkulierende Thyreoglobulin-Autoantikörper (TgAA) können als hinweisender Marker für eine lymphozytäre Thyreoiditis genutzt werden (MOONEY, 2011).

Die canine Hypothyreose wird in vier Stadien unterteilt. Das subklinische, stille Stadium, das Antikörper-positive, subklinische Stadium, das Antikörper-positive, overte Stadium und das nichtentzündliche, atrophische Stadium (GRAHAM et al., 2007).

Das stille Stadium zeichnet sich durch fokale, lymphozytäre Infiltrate des Parenchys und einem erhöhten TgAA-Marker-Wert im Serum als einzige Abnormalität aus (GRAHAM et al., 2007). Daraufhin folgt das Antikörper-positive, subklinische Stadium. Sollten die pathologischen Veränderungen bereits über 60 % des Organs betreffen, ist kompensatorisch oftmals auch das TSH erhöht. Dies führt zur vermehrten Stimulation des verbleibenden Parenchys und somit zur Hochregulation der Schilddrüsenhormonproduktion (GRAHAM et al., 2007). In dieser Phase verändert sich die Form der kuboidalen follikulären Epithelzellen der Schilddrüse zu kolumnären Zellen und die Basalmembran der Zellen verdickt sich (GOSSELIN et al., 1981; MOONEY, 2011). Es lassen sich erhöhte TgAA und erhöhtes TSH bei normalen Thyroxinkonzentrationen im Serum feststellen (GRAHAM et al., 2007). Die nächste Phase der Erkrankung ist durch im Serum erhöhte TgAA, erhöhtes TSH und bereits verminderte Thyroxinkonzentrationen geprägt. In dieser Phase sind bereits über 75% des Schilddrüsengewebes zerstört und bindegewebig ersetzt worden. Es liegen Hinweise dafür vor, dass im letzten Stadium der lymphozytären Thyreoiditis Entzündungszellen durch fibröses und fetthaltiges Gewebe ersetzt werden, was somit histologisch zu einem nichtentzündlichen Erscheinungsbild führen kann. In diesem Stadium liegen keine TgAA mehr vor, was anteilig dazu führen könnte, dass 50 % der caninen Hypothyreosepatienten mit lymphozytären Thyreoiditis vermeintlich keine Antikörper im Serum aufweisen. Das Fortschreiten der Krankheit, sowie der Zeitanteil der verschiedenen Phasen ist variabel (GRAHAM et al., 2007; MOONEY, 2011). Die zugrundeliegende Ursache ist zwar immunmedierten Ursprungs, jedoch ist die genaue Ätiologie noch unklar (GRAHAM et al., 2007). Beim Menschen werden in den lymphozytären Infiltraten B- und T-Zellen (CD4- und zytotoxische CD8-T-Lymphozyten) festgestellt. Studien zu proliferativen Reaktionen von im peripheren Blutkreislauf vorliegenden, mononukleären Entzündungszellen auf canines Thyreoglobulin bei TgAA-positiven hypothyreoten Hunden, lassen einen Verlust der Selbsttoleranz gegenüber

körpereigener CD4+-Zellen eine anteilige Rolle in der Pathogenese vermuten (GRAHAM et al., 2007).

Eine idiopathische Atrophie der Schilddrüse liegt bei den meisten Patienten mit einer nicht-entzündlichen Hypothyreose vor (MOONEY, 2011). Hierbei kommt es zur Degeneration von Follikelzellen und somit zum Verlust des thyroidalen Parenchyms und dem damit verbundenen Ersatz durch Fett- und Bindegewebe. Ob es sich hierbei um eine Folge der lymphozytären Thyreoiditis oder ein eigenes Krankheitsgeschehen im Sinne eines primär degenerativen Prozesses handelt, ist noch unbekannt. Bei wenigen Fällen stellte sich histopathologisch heraus, dass die lymphozytäre Thyreoiditis zu einer idiopathischen Atrophie geführt hatte (CONAWAY et al., 1985). Die beiden Krankheitsbilder liegen ungefähr in gleichem Verhältnis vor (GRAHAM et al., 2007).

2.4. Genetische Faktoren

Studien bezüglich Humanen Leukozyten-Antigens (HLA) sind der Fokus der zugrundeliegenden molekulären Ursache der caninen Hypothyreose. Eine Prädisposition für die Erkrankung durch das Vorliegen von Hunde Leukozyten-Antigen (DLA) ist der Focus aktueller Studien. Das DLA- DQA1*00101-Allel wurde als ein potentieller Risikofaktor einer caninen Hypothyreose bei Englischen Settern, Dobermann und Rhodesian Ridgebacks beschrieben (overall odds ratio 1/4 1.97; $P < 0.001$), allerdings nicht bei anderen prädisponierten Rassen wie dem Boxer (GRAHAM et al., 2007). Ferner kommt es auch bei nicht-betroffenen Individuen vor (GRAHAM et al., 2007).

2.5. Umweltfaktoren

Die canine Hypothyreose wird als komplexes, multifaktorielles Geschehen betrachtet. Das Zusammenspiel verschiedener Umwelt- und genetischer Faktoren, sowie deren Bedeutung für die Entwicklung der Erkrankung sind noch nicht gänzlich geklärt (MOONEY, 2011). Die Michigan State University stellte Untersuchungen zu prädisponierenden Faktoren wie Rasse, Saisonalität und Geographie an, welche die multifaktorielle Komponente untermauern (GRAHAM et al., 2007). Auch die Jahreszeit scheint einen Einfluss zu haben: Bei Hunden mit keinerlei Symptomen einer Thyreoiditis wurde der Anteil mit dennoch erhöhten TgAA vor allem im Sommer (Juli, August, September) beobachtet (GRAHAM et al., 2007; MOONEY, 2011). Scott-Moncrieff et al. 2006 berichteten von einem

Anstieg der mit Thyreoglobulin reagierenden, zirkulierenden Antikörper nach wiederholten Impfungen (SCOTT-MONCRIEFF et al., 2006). Hochdosierte Sulfonamide, sowie aggressive Schilddrüsentumore könnten ebenfalls Teil der Ätiologie der caninen Hypothyreose sein (MOONEY, 2011).

Neben den saisonalen Einflüssen wurden bei den Untersuchungen der Michigan State University auch geographische Einflüsse diskutiert. Es wurden höhere Konzentrationen von TgAA in Proben aus Minnesota, Colorado, Wyoming, Vermont und North Dakota im Vergleich zu Michigan festgestellt (Odds ratios: 1,19–1,41; $P < 0,05$). Bei Proben aus Virginia, Massachusetts, Florida, Tennessee North Carolina, Maryland, South Carolina, Texas, Kentucky, West Virginia und Alabama (Odds ratios: 0,39–0,79; $P < 0,05$) waren die Werte deutlich niedriger. Ob es sich hierbei um realistische, klinisch-relevante Unterschiede handelt, muss noch geprüft werden (GRAHAM et al., 2007).

2.6. "Euthyroid sick syndrome"

Das "euthyroid sick syndrome" (ESS) ist die Folge eines nicht-thyroidalen Einflusses auf die Schilddrüse, welcher in niedrigen Schilddrüsenhormonkonzentrationen bei euthyreoten, sprich Hunden mit physiologischer Schilddrüsenfunktion (MOONEY, 2011), resultiert (NELSON und GUILLERMO COUTO, 2010). Aufgrund der erniedrigten Thyroxin- und möglicherweise niedrigeren freien Thyroxinwerte (fT4) kann es zu Fehldiagnosen der caninen Hypothyreose kommen (KANTROWITZ et al., 2001). Ursächlich ist der Regulationsmechanismus des Körpers, während Krankheitsperioden die Schilddrüsenhormonkonzentrationen zu senken. Die Freisetzung von Iodthyronin und T3 kann *in vitro* bei kultivierten, humanen Thyreozyten durch Zytokine (IFN- γ , IL-1 β , TNF- α , und IL-1 α) gehemmt werden (PAPANICOLAOU, 2000). Für IL-1 und TNF- α konnte bei In-Vitro-Modellen zur Untersuchung von Thyreozytenfunktionen mit Rattenschilddrüsenzelllinien, *Fisher rat thyrocytes cell line no. 5* (FRTL-5 Zellen), eine Verminderung der basalen sowie der TSH angeregten intrazellulären Aufnahme von Iodid nachgewiesen werden (PAPANICOLAOU, 2000). Es wird postuliert, dass diese Zytokine die Iodaufnahme durch Modulation der mRNA Genexpression eines Na/I Symporters beeinflussen (PAPANICOLAOU, 2000). Die verminderte Konzentration von T3 und der Anstieg von rT3 beim ESS lassen sich am wahrscheinlichsten durch eine erniedrigte Aktivität von Deiodase-1 zurückführen (PAPANICOLAOU, 2000). Der

genaue Mechanismus ist nach bestem Wissen der Autorin noch nicht erforscht jedoch haben die oben genannten pro-inflamatorischen Zytokine eine potente Wirkung auf die HHSA, welche über eine gesteigerte Glukokortikoid Sekretionsstimulation wiederum einen Effekt auf die Deiodase-1 Aktivität haben könnte (PAPANICOLAOU, 2000; MILLER et al., 2013). Möglicherweise wird somit die Senkung von T3, T4 und r T3 durch eine Inhibition mehrerer Iodothyronindeiodinasen verursacht (MILLER et al., 2013).

Als Folge der verminderten T3 und T4 Sekretion kommt zu einer Reduktion des zellulären Metabolismus. Der Grad der Senkung der Schilddrüsenhormonkonzentrationen geht mit der Schwere der nicht-thyroidalen Erkrankung einher (NELSON und GUILLERMO COUTO, 2010). Bei systemischen Erkrankungen, wie zum Beispiel Herz-, Nieren- oder Lebererkrankungen, sowie Endokrinopathien wie Hyperadrenokortizismus und Diabetes mellitus, als auch bei Neoplasien wie Hodentumoren, können deutlich erniedrigte T4-Werte (unter 0,5 – 1 µg/dl) gemessen werden (KANTROWITZ et al., 2001; NELSON und GUILLERMO COUTO, 2010). Die Gabe von Medikamenten wie zum Beispiel Clomipramin, Phenobarbital, Sulfonamiden, Ketoprofen, Trimethoprim-sulfadiazin und Glukokortikoiden kann ebenfalls zu einer Senkung der Thyroxinkonzentrationen führen (GOOKIN et al., 1999; DAMINET und FERGUSON, 2003). Sulfonamide können laut Daminet et al. 2003 sogar zu einer klinischen Hypothyreose führen (DAMINET und FERGUSON, 2003).

Diagnostisch lässt sich das ESS meist durch die kombinierte Bestimmung niedriger T4-Werte mit erhöhten TSH-Konzentrationen (was deutlich hinweisend für eine Hypothyreose ist) abgrenzen (DIXON et al., 1999). Der fT4-Wert nach Equilibrium-Dialyse kann ebenfalls hilfreich sein. Das Prinzip dieses Tests beruht auf der Trennung von fT4 und gebundenem T4 und Serumproteinen mittels einer semipermeablen Membran und nachfolgender Bestimmung des fT4 im Dialysat. Der angeschlossene Radioimmunoassay (RIA) lässt T4 mit radioaktiven T4 um spezifische Bindungsstellen konkurrieren. T4 Antikörper können diesen Test nicht beeinflussen (MORITZ et al., 2013). Als Goldstandard gilt aktuell der TSH-Stimulationstest nach Injektion von 0,1 I.E./kg rekombinantem, humanem TSH (PARADIS M, 1996; RAMSEY et al., 1997; PANCIERA, 1999).

2.7. Klinik

Die klinischen Anzeichen einer Hypothyreose können schleichend und graduell einsetzen. Das Krankheitsbild kann sich als variabel und unspezifisch darstellen, da Schilddrüsenhormone auf fast jedes Organ endokrin einwirken (SCOTT-MONCRIEFF, 2007). In über 60 % der Fälle präsentiert sich die canine Hypothyreose als eine Kombination aus dermatologischer Manifestation und reduziertem Metabolismus, wobei die dermatologische Komponente häufig prominenter ausfällt (MOONEY, 2011). Die klinischen Anzeichen sind jedoch vielfältig und beinhalten neurologische Störungen, reproduktive Abnormalitäten und kardiovaskuläre Ausprägungen (SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Bei über 85 % der Hunde mit Hypothyreose sind dermatologische Symptome vorhanden (PANCIERA, 2001b). Wie oben genannt, benötigt der Körper für die Initiation des anagenen Haarwachstumsstadiums Schilddrüsenhormone. Aus diesem Grunde entstehen beim Mangel an Schilddrüsenhormonen Hypotrichose, häufig bilateral-symmetrische Alopezie vor allem am lateralen Stamm, ventralen Thorax und Schwanz (sog. Rattenschwanz) sowie schlechter Haarwuchs nach dem Scheren (PANCIERA, 2001b; SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Somit verbleibt das Haar über einen unphysiologisch langen Zeitraum im telogenen Stadium. Das Resultat ist häufig ein stumpfes Fell (PANCIERA, 2001b). Manche Patienten entwickeln ein feineres Haarkleid durch den Ersatz der Primärhaare durch Grannenhaare (PANCIERA, 2001b). Das sogenannte „Welpenfell“ ist ein klassisches Symptom der Hypothyreose (SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Bei manchen Rassen, wie beispielsweise dem Irischen Setter kann eine Haarretention auftreten. Folglich entsteht eine Hypertrichose und das Fell wird dichter (PANCIERA, 2001b). Die alopezischen Stellen wie auch haarärmere Bereiche, wie die Inguinalgegend und Achseln neigen zur anschließenden Hyperpigmentation. Bei experimentell induziertem Hypothyroidismus beim Beagle wurden mehr telogene Follikel und weniger Haarschäfte beobachtet als in der Kontrollgruppe (CREDILLE et al., 2001). Keratinisierungsdefekte wie exzessive Schuppenbildung, Hyperkeratose, *Seborrhoea sicca oder oleosa* können die ersten Anzeichen der Hypothyreose darstellen (PANCIERA, 2001b; SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Aufgrund dieser Keratinisierungsdefekte und erhöhter Sebumproduktion tritt bei bis zu 25% der Hunde mit Hypothyreose eine Otitis externa auf (PANCIERA, 2001b). Komedonen und schlechtere Wundheilung sowie Hämatombildungen wurden ebenfalls dokumentiert (SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Durch eine Akkumulation von

Mucin in der Dermis kann zeitweise ein Myxödem beobachtet werden, welches dem Patienten einen traurigen Gesichtsausdruck verleiht (PANCIERA, 2001b). In seltenen Fällen kann sich das Mucin auch oberflächlicher ablagern und Vesikel bilden (MILLER und BUERGER, 1990). Pyodermien kommen bei 10 % bis 23 % der Patienten vor (PANCIERA, 1994b; DIXON et al., 1999; SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Infestationen mit *Malassezia pachydermatis* und Demodikose des adulten Hundes werden ebenfalls beobachtet (SCOTT-MONCRIEFF, 2007); Juckreiz liegt ausschließlich bei bestehenden Sekundärinfektionen vor (SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Je nach Rasse, Schweregrad und Dauer der Hypothyreose stellen sich die dermatologischen Symptome unterschiedlich dar (CREDILLE et al., 2001; SCOTT-MONCRIEFF, 2007).

Bei kardiovaskulären Störungen in Zusammenhang mit der caninen Hypothyreose kommt es zu EKG-Störungen wie erhöhten Amplituden der P- und R-Wellen inversen T- Zacken, sowie Sinusbradykardien (PANCIERA, 2001b). Auch ein atrioventrikulärer Block I. und II. Grades oder (seltener) ein verminderter Herzspitzenstoß oder Bradykardien, die nicht Sinusknoten-abhängig sind möglich. Die Kontraktilität und diastolische Funktion können verändert sein (PANCIERA, 2001b). Bereits bestehende kardiovaskuläre Abnormitäten werden möglicher Weise durch die Hypothyreose verstärkt (SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Der Schweregrad dieser kardiovaskulären Veränderungen scheint jedoch minimal zu sein. Anders als beim Menschen existieren bislang nur einzelne Fallberichte über Herzversagen aufgrund der caninen Hypothyreose (PANCIERA, 2001b). Bei einem Bericht über zwei Doggen mit diagnostizierter primärer Hypothyreose ließ sich das Herzversagen mittels Levothyroxinsubstitution lindern (PHILLIPS und HARKIN, 2003). Beim Dobermann wurde ein Zusammenhang zwischen der häufig auftretenden Hypothyreose und dilatativer Kardiomyopathie vermutet, dies konnte aber nicht bewiesen werden (CALVERT et al., 1998; PANCIERA, 2001b). Das seltene Auftreten von Atherosklerose als Folge caniner Hypothyreose lässt sich durch das Vorliegen einer vermutlichen Hypercholesterolemie erklären, wodurch es auch zu kardiovaskulären Folgeerscheinungen wie Vorhofflimmern und verminderter linksventrikulärer Funktion kommen kann (SCOTT-MONCRIEFF, 2007).

Neurologische Symptome entstehen durch eine Axonopathie und Demyelinisierung, welche im zentralen oder peripheren Nervensystem auftreten

können (PANCIERA, 2001b). Die Pathogenese dieser peripheren Neuropathien ist unbekannt, jedoch wird eine Schwann-Zell-Dysfunktion oder eine metabolische Störung im axonalen Transport vermutet (BEGHI et al., 1989). In 2 % der neurologisch betroffenen Fälle mit hypothyroiden Polyneuropathie kommt es zu klinischen Symptomen (PANCIERA, 2001b). Fazialisparese, Larynxparalyse oder Vestibularsyndrom sind potentielle Symptome bei 4 % der Patienten (PANCIERA, 2001b). Eine Kombination aus peripherem Vestibularsyndrom und Fazialislähmung ist eine seltene Erscheinung. Allerdings tritt bei etwa 70% der Hypothyreosepatienten mit peripherem Vestibularsyndrom auch eine Fazialisparese in Erscheinung (PANCIERA, 2001b). Bei fehlender Otitis externa, peripherem Vestibularsyndrom und Fazialislähmung ist eine Hypothyreoseabklärung daher anzuraten (PANCIERA, 2001b). Anorexie, Depression und muskuläre Denervation sind ebenfalls dokumentiert (PANCIERA, 2001b). Des Weiteren kann vermehrt zerebrospinale Flüssigkeit gebildet werden (PANCIERA, 2001b). Weitere neurologische Symptome wie zervikale Spondylomyelopathien, Verhaltensprobleme oder Megaösophagus sind nicht sicher mit der caninen Hypothyreose in Zusammenhang zu bringen (PANCIERA, 2001b). Histopathologisch zeigen betroffene Nervenstränge Abnormitäten ihrer Myelinstruktur sowie internodale kugelförmige Veränderungen und interkalierte Internodien (SCOTT-MONCRIEFF, 2007). In Muskelbiopsien konnten neurogene Atrophien nachgewiesen werden. Nach ein bis zwei Monaten Therapie erholen sich die meisten Patienten rasch (SCOTT-MONCRIEFF, 2007).

Als reproduktive Störungen werden beim Rüden, Ratten, Ziegen und Menschen Libidomangel, Hodenatrophie, Azoospermie und Hypospermie berichtet (JOHNSON et al., 1999; JOHNSON, 2002). Die zugrundeliegende Ursache ist bislang noch unbekannt (JOHNSON et al., 1999). Jedoch ist die direkte Verbindung zwischen Hypothyreose und mangelnder Fertilität nicht immer signifikant darstellbar (PANCIERA et al., 2012). So konnte in einer prospektiven Studie mit induzierter Hypothyreose weder mangelnde Spermaqualität noch Libidomangel festgestellt werden (JOHNSON et al., 1999; SCOTT-MONCRIEFF, 2007; PANCIERA et al., 2012). Bei weiblichen Hunden hingegen kann die Hypothyreose zu stillem Östrus, Azyklie, verlängerten Interöstrusintervallen, spontanen Aborten, längeren Östrusblutungen, kleineren Würfen, Galaktorrhoe, Uterusschwäche und Gynäkomastie führen (JOHNSON et al., 1999; SCOTT-MONCRIEFF, 2007; PANCIERA et al., 2012). Für das Symptom der lebensschwachen Welpen liegen

nur schwache Beweise vor (JOHNSON et al., 1999; SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Variable hämatologische Symptome werden beschrieben: Die Serumcholesterinwerte sind bei 72%, die Triglyzeridwerte bei 53% der Patienten aufgrund von einer verminderten Plasmaclearance erhöht (BORETTI et al., 2003). Jedoch können Triglyzeride auch aufgrund der Nahrungsaufnahme und variablen nicht-thyroidalen Erkrankungen erhöht sein (MILLER et al., 2013). 32% der Patienten zeigen eine Hypercholesterinämie, bei 36% lässt sich des Weiteren eine in der Regel leichte bis mittelgradige normochrome, normozytäre Anämie feststellen (PANCIERA, 2001b; REUSCH und BORETTI, 2006). In selten Fällen stellt sich diese als mikrozytär und hypochrom dar (REUSCH und BORETTI, 2006). Die Lebensdauer der Erythrozyten ist im Vergleich zu ihrer Produktion nicht vermindert (PANCIERA, 2001a). Die Anämie ist weniger auf einen niedrigeren Grundumsatz zurückzuführen als auf eine Verminderung des Plasma Erythropoetins (EPO), einen reduzierten Effekt der Erythrozyten-Progenitor-Zellen auf EPO sowie den fehlenden Einfluss von Schilddrüsenhormons auf hematopoetische Stammzellen zurückzuführen (PANCIERA, 2001a). Bei 43% lassen sich erhöhte Fruktosaminwerte nachweisen (DIXON et al., 1999). Reusch et al. beschreiben bei 70 % der Hunde mit Hypothyreose erhöhte Fruktosaminwerte (REUSCH und BORETTI, 2006). Bei 49% traten gesteigerte Glukosewerte auf (DIXON et al., 1999). 88% der Patienten zeigen erhöhte Triglyzeride (DIXON et al., 1999). Abnorme Blutungsneigungen werden häufig einem Mangel an von-Willebrandt-Faktor zugeschrieben (PANCIERA, 2001b). Allerdings ist dies auf eine Studie zurückzuführen, bei der die Hälfte der Hunde aus Dobermännern bestanden, die nachweislich auch im euthyreoten Zustand zu 70 % einen von-Willebrandt-Faktor Mangel vorweisen (BROOKS et al., 1992; PANCIERA, 2001b). Die Anzahl der Thrombozyten sowie ihre Größe kann bei hypothyreoten Hunden vermindert sein, jedoch scheint die Plättchenaggregation physiologisch zu funktionieren (PANCIERA, 2001b).

Seltene gastrointestinale Symptome sind durch eine verminderte mechanische und myoelektrische Ansprechbarkeit des Magens und Dünndarms begründet (KOWALEWSKI und KOLODEJ, 1977). Diarrhoe und Obstipation sind beschrieben (PANCIERA, 2001b). Von akuter Pankreatitis und bakterielle Überbesiedlung des Dünndarms wurde ebenfalls berichtet, was allerdings als tatsächliche Folge der caninen Hypothyreose noch genauer zu überprüfen gilt (PANCIERA, 2001b).

Ophthalmologische Symptome werden in Zusammenhang mit der caninen Hypothyreose diskutiert. Hierbei kommen korneale Ulzerationen und Lipidosen, *Keratoconjunctivitis sicca*, Augenlidödeme, chronische Uveitiden sowie Retinaödeme in Betracht (PANCIERA, 2001a). Ob und wie diese Symptome eine Folge der Erkrankung sind, bleibt unklar (PANCIERA, 2001b).

Selten können, basierend auf myxödematösem Koma (Myxödemkoma) kognitive Störungen auftreten. Das Myxödemkoma ist eine seltene aber lebensgefährliche Komplikation der Hypothyreose einhergehend mit Stupor, Hypothermie, Bradykardie, Schwäche, Hypotension, Inappetenz, Pleura Erguss, Lungenödem und Hypoxämie aufgrund von Myxödemen der Atemmuskulatur (PANCIERA, 2001a; SCOTT-MONCRIEFF, 2007). Sie kommt gehäuft beim Dobermann Pinscher vor (PANCIERA, 2001a). Das Myxödemkoma ist ein tiermedizinischer Notfall (HENIK und DIXON, 2000; MILLER et al., 2013). Es entsteht durch die Bildung von Myxödemen in Gehirn sowie einer schweren Hyponatriämie (GRECO, 1997). Die Hyponatriämie ist eine Folge von vermehrtem Gesamtkörperwasser aufgrund der Anreicherung von hydrophilen Ablagerungen im Gewebe, sowie einer verminderten renalen Exkretion (GRECO, 1997). Eine Beatmung, Breitspektrumantibiotika, intravenöse Steroide und Wärme können von Nöten sein (HENIK und DIXON, 2000; MILLER et al., 2013).

Verhaltensstörungen, basierend auf der caninen Hypothyreose sind kontrovers diskutiert (PANCIERA, 2001b). Berichte basieren auf Linderung von Verhaltensauffälligkeiten nach einer Thyroxintherapie. Beaver et al. 2003 berichten von einem Russischen Wolfshund, welcher nach Thyroxintherapie seine Besitzeraggression ablegte (BEAVER und HAUG, 2003). Bei einem Fallbericht traten Aggressivität in Kombination mit Polyneuropathie auf, welche nach Therapie mittels L-Thyroxin verschwanden (INDRIERI et al., 1987). Des Weiteren existieren diverse Fallberichte über Aggressivität in vermuteter Abhängigkeit von Hypothyreose (FATJO et al., 2002; BEAVER und HAUG, 2003; FATJO et al., 2003; RADOSTA et al., 2012).

Die kongenitale Hypothyreose resultiert aufgrund der hypo- und epiphysealen Dysgenese in mentaler Retardierung, einer verzögerten Reifung des Skeletts, sowie in einem gedrungenen, unproportionalen Wachstum (Zwergenwachstum). Betroffene Tiere können Ataxie, Begriffsstutzigkeit, Makroglossie, verzögerte Zahnung sowie große, kurze Köpfe und breite Hälse aufweisen. Dies kann vom Zwergenwuchs durch einen Wachstumshormonmangel abgegrenzt werden, da

dieser in einem vergleichsweise proportional nur geringeren Wachstum resultiert. Beim Toy Fox Terrier und Ratten Terrier wurde eine autosomal rezessive Erblichkeit für einen kongenitale Schilddrüsen Peroxidase Mangel festgestellt. Ein Gen Test hierfür ist an der Fakultät für *Comparative Medical Genetics* der Michigan State University verfügbar (SCOTT-MONCRIEFF, 2007).

3. Diagnosestellung der Hypothyreose

Die Diagnosestellung der caninen Hypothyreose kann sich aufgrund des variablen und vielfältigen Erscheinungsbildes der Erkrankung als kompliziert erweisen (FERGUSON, 2007). Die sicherste Diagnose basiert auf der histopathologischen Untersuchung einer Schilddrüsenbiopsie, was aufgrund der Invasivität der Methode allerdings klinisch selten Anwendung findet (MILLER et al., 2013). Aus klinischer Sicht sollte kein Test als alleiniges (solitäres) Diagnostikum für die canine Hypothyreose eingesetzt werden, da jeder Test eine individuelle Fehlermarge aufweist (MILLER et al., 2013). Stattdessen erscheint die Diagnose durch eine Kombination von klinischer Präsentation des Patienten und Laboruntersuchungen empfehlenswert. Mögliche Anhaltspunkte sind Historie, allgemeine und dermatologische Untersuchung, Serumbiochemie, Hämatologie, Urinanalyse und Schilddrüsenfunktionstests.

3.1. Übersicht Hormonparameter

Es wird davon ausgegangen, dass die freie Hormonfraktion eine aussagekräftige Darstellung der Menge an Schilddrüsenhormon, welches dem Gewebe zur Verfügung steht, darstellt (FERGUSON, 2007). Die Bindungsaffinität von Thyroxin und seine bindenden Proteine ist niedriger als beim Menschen (FERGUSON, 2007). Dass an die Proteine gebundene Thyroxin bildet ein Hormonreservoir für die Bereitstellung der Schilddrüsenhormone an die Gewebe. Diese Bindungsstärke wird teilweise auch durch Krankheit oder Medikamente beeinflusst. Der Hund verfügt im Vergleich zum Menschen über 85% weniger Thyroxin-bindendes Globulin (*TBG*) und zirkulierendes T4 und T3 binden an andere Plasmaproteine wie zum Beispiel Transthyretin (FERGUSON, 2007). Aus dieser geringeren Bindungsaffinität resultieren oftmals niedrigere Gesamt-Thyroxinwerte, wohingegen die freie Fraktion des zirkulierenden T4 höher ist als beim Menschen (FERGUSON, 1984).

3.2. Gesamt-Thyroxin

Das Gesamt-Thyroxin besteht aus dem kleineren aktiven Anteil, der freien Thyroxinfaktion und dem größeren Anteil (dem zirkulierenden Speicher im Blut) der proteingebundenen Fraktion. Da T4 das Hauptsekretionsprodukt der Schilddrüse darstellt, ist es geeignet, die Schilddrüsenaktivität zu evaluieren (KEMPPAINEN, 2001). Die Testverfahren sind vergleichsweise preisgünstig und gut verfügbar (KEMPPAINEN, 2001). *In-house* Messverfahren (in der eigenen Praxis) werden zunehmend durchgeführt, jedoch bedarf es noch der Überprüfung der Genauigkeit solcher Messverfahren (KEMPPAINEN, 2001; LURYE et al., 2002). Als Messmethoden stehen der Radioimmunassay (RIA), der Chemilumineszenz-Immunoassay (CLIA) und der Enzymimmunoassay (EIA) zur Verfügung. Ein niedriger Gesamt-Thyroxinwert ist in vielen Fällen aussagekräftig, um euthyreote von hypothyreoten Hunden zu unterscheiden (FERGUSON, 2007). Allerdings ist der Gesamt-Thyroxinwert durch multiple äußere und innere Faktoren beeinflussbar und kann zu Fehldiagnosen führen (KANTROWITZ et al., 2001). Im Gegensatz zu der Annahme, dass bei euthyreoten Hunden ein physiologischer Gesamt-Thyroxinwert bestehen müsse, kann dieser auch niedrig oder grenzwertig sein (KEMPPAINEN, 2001). Die alleinige Messung des Gesamt-Thyroxinwertes ist somit nur aussagekräftig, wenn der Wert im oberen Referenzbereich oder darüber liegt (FERGUSON, 2007). 95 % der hypothyreoten Hunde zeigen niedrige Gesamt-Thyroxinwerte, jedoch ist dies nicht ausreichend, um die Diagnose sicher zu stellen (KEMPPAINEN, 2001). Bei einer Iodinsuffizienz weisen 80% der Hunde niedrigere Thyroxinkonzentrationen auf, aber keine reduzierten Triiodthyroninwerte (MILLER et al., 2013). Dieser Nährstoffmangel ist jedoch in Deutschland sehr selten. Bis zu 11% der hypothyreoten Hunde weisen physiologische Gesamt-Thyroxinwerte auf (PETERSON et al., 1997; FERGUSON, 2007; MOONEY, 2011). Weitere Untersuchungen sollten bei Verdacht auf Hypothyreose durchgeführt werden, sobald ein niedriger Gesamt-Thyroxinwert vorliegt (KEMPPAINEN, 2001). fT4 nach Equilibrium-Dialyse oder ein TSH Stimulationstest können weitere Hinweise geben (KEMPPAINEN, 2001). Hunde mit Thyroxin-Antikörpern können (bei weniger als 1 % der Fälle) falsch negative Ergebnisse aufweisen, was die Diagnostik weiter verkomplizierenden kann. Kemppainen et al. 2001 beschreiben den Nutzen der Gesamt-Thyroxinmessung folgendermaßen: Als erster Hinweis für die Hypothyreose ist ein niedriger Wert

aussagekräftig, jedoch sollte die Klinik mit weiteren Laborwerten zu diagnostischen Zwecken vervollständigt werden.

3.3. Freies Thyroxin

Die dem Gewebe zur Verfügung stehende Hormonmenge, sowie der klinische Zustand der Hypothyreose des Tieres lassen sich mit dem freien Thyroxinwert (fT4) bestimmen (FERGUSON, 2007). Das Messverfahren ist allerdings weithin nicht gebräuchlich und wird eher als zusätzliches Diagnostikum angewandt, aufgrund des laboratorischen Aufwandes, der noch niedrigen Verfügbarkeit und der hohen Kosten (MOONEY, 2011). Hypothyreote Hunde zeigen in den meisten Fällen ein niedriges freies Thyroxin, wobei bis zu 20 % der Patienten im unteren Referenzbereich liegen (PETERSON et al., 1997; DIXON und MOONEY, 1999; MOONEY, 2011). Allerdings zeigen auch weniger als 10 % der euthyreoten Hunde fT4-Werte unter dem Referenzbereich (DIXON und MOONEY, 1999). Im Gegensatz zum Gesamt-Thyroxin wird das freie Thyroxin weniger durch Autoantikörper oder diverse extra-thyroidale Faktoren beeinflusst (FERGUSON, 2007; MOONEY, 2011). Für niedrige Gesamt-T4 Konzentrationen wird eine hohe Spezifität berichtet (DIXON und MOONEY, 1999). Rassespezifisch kann das freie Thyroxin vergleichbar dem Gesamt-Thyroxin erniedrigt sein (SHIEL et al., 2007a). Die fT4-Konzentration im Serum kann unter dem Einfluss von Langzeitantikonvulsiva, Trimethoprim-potenzierten Sulphonamiden und Glukokortikoiden analog dem TT4-Wert verringert sein (DAMINET und FERGUSON, 2003). Die Spezifität von fT4 für die Diagnose von caniner Hypothyreose ist hoch (MOONEY, 2011). Unter 10% euthyreoter Hunde, welche auf Hypothyreose getestet wurden zeigten niedrige fT4 Werte (MOONEY, 2011). Des Weiteren werden fT4 Konzentrationen vergleichsweise wenig von extrathyroidalen Faktoren im Gegensatz zu Gesamt-Thyroxin beeinflusst (MOONEY, 2011). Dies gilt selbst in Anwesenheit von T4 Autoantikörpern. Schlussfolgernd ist das freie Thyroxin als Einzelwert der diagnostisch Aussagekräftigste (MOONEY, 2011).

3.4. Gesamt- und freies Triiodthyronin

Das Gesamt-Triiodthyronin wird selten als diagnostischer Faktor der caninen Hypothyreose verwendet, da es häufig erst im späten Stadium als erniedrigter Wert im Blut auffällt (KEMPPAINEN, 2001). Über 90 % der hypothyreoten Hunde

zeigen somit ein physiologisches Gesamt-Triiodthyronin, was mit der kompensatorischen Mehrproduktion der Schilddrüse sowie der Umwandlung aus Thyroxin im Gewebe begründet werden kann (PETERSON et al., 1997; MOONEY, 2011). Die Sensitivität ist niedrig (FERGUSON, 2007). Über 40% der TgAA-positiven hypothyreoten Patienten weisen auch Triiodthyronin-Antikörper auf, was den Gesamt-Triiodthyronin Wert zusätzlich erhöhen kann (GRAHAM et al., 2007). Trotz dem geringen diagnostischen Wert des Gesamt Triiodthyronins existieren im Gegensatz zum Gesamt-Thyroxin und fT4 keine Rasse-bedingten Abweichungen der Werte von der Norm (SHIEL et al., 2007a). Auch das freie Triiodthyronin (fT3) ist diagnostisch nur von geringer Aussagekraft (FERGUSON, 2007).

3.5. TSH-Stimulationstest

Beim TSH-Stimulationstest wird die Reaktion der Schilddrüse auf exogen verabreichtes TSH festgestellt. Vor Testbeginn wird eine Blutprobe zur Kontrolle des vorliegenden Gesamt-Thyroxinwertes abgenommen. Sechs Stunden nach der intravenösen Applikation von 0,1 IU/kg bovinem TSH wird dieser Wert nochmals kontrolliert. Rekombinantes, humanes TSH, wird aufgrund seiner Kostspieligkeit selten verwendet und mit 50µg pro Hund injiziert und stellt den Goldstandard der Hypothyreosediagnostik dar (SAUVE und PARADIS, 2000; BORETTI et al., 2006). Aktuell ist in Deutschland kein Präparat, das bovines TSH enthält zugelassen. Euthyreote Hunde zeigen einen signifikanten Anstieg an Gesamt-T4, wohingegen hypothyreote Patienten keinen oder einen nur geringen Anstieg vorweisen.

Da die meisten Patienten mit caniner Hypothyreose sukzessive Einbußen des negativen Feedbackmechanismus durch Schilddrüsenhormone zeigen, steigt folglich das TSH als übergeordnetes, stimulierendes Hormon im Regelfall an (MOONEY, 2011). In 60 % bis 85 % der Hypothyreose-Patienten ist der TSH-Wert über dem Referenzbereich (PETERSON et al., 1997; SCOTT-MONCRIEFF et al., 1998; DIXON und MOONEY, 1999; BORETTI und REUSCH, 2004). Ursächlich für diesen Umstand kann eine zentrale Hypothyreose anstatt einer thyroidalen sein. Auch zeigen 10 % bis 30 % der euthyreoten Hunde Werte oberhalb des Referenzbereiches (RAMSEY et al., 1997). Die Gabe von Trimethoprim-potenzierten Sulfonamiden kann den TSH-Wert erhöhen (GRAHAM et al., 2007). Des Weiteren kann dieser bei hypothyreoten Hunden auch im oberen Referenzbereich fluktuieren (BRUNER et al., 1998). Experimentell, durch

chirurgische Thyroidektomie erzeugter Hypothyreoidismus bei gesunden Beageln führte vorerst zum Anstieg des Hormons und anschließend zum Abfall und bei manchen Hunden lagen nach drei Jahren wieder Werte innerhalb des Referenzbereiches vor (DIAZ-ESPINEIRA et al., 2008). Die Sensitivität des TSH-Stimulationstest variiert in klinischen Studien von 63 % bis 87 % und respektive von 75 % bis 93 % (PETERSON et al., 1997; RAMSEY et al., 1997; SCOTT-MONCRIEFF et al., 1998; DIXON und MOONEY, 1999; MILLER et al., 2013). Um die Sensitivität zu erhöhen kann der TSH-Wert mit dem Gesamt-T4 oder dem fT4 Wert kombiniert werden. Ein TSH-Wert über dem Referenzbereich in Kombination mit einem niedrigen Thyroxinwert ist ein signifikanter Hinweis auf einen primären Hypothyreoidismus (DIXON und MOONEY, 1999; BORETTI und REUSCH, 2004). Ein großer Vorteil besteht darin, dass der TSH-Wert nur minimal durch nicht-thyroidalen Erkrankungen beeinflusst wird (GRAHAM et al., 2007).

3.6. TRH- Stimulationstest

Beim TRH-Stimulationstest wird vor und nach der Injektion von humanem TRH, Thyroxin gemessen (MOONEY, 2011). Bei euthyreoten Hunden sollte sich der Thyroxinwert mindestens verdoppeln (MILLER et al., 2013). Es existieren verschiedene Protokolle zur Anwendung des TRH. Bereits geringe Dosen von 10 µg /kg stimulieren signifikant die Sekretion von TSH (MOONEY, 2011). Bei Hunden erfolgt der TSH-Peak 20 Minuten nach der intravenösen Verabreichung von TSH (MOONEY, 2011). Im Gegensatz zu hypothyreoten Menschen, welche nach TRH-Gabe einen starken, anhaltenden TSH-Anstieg zeigen, reagieren Hunde nur mit einem geringfügigen TSH-Konzentrationsanstieg (SCOTT-MONCRIEFF et al., 1998; MOONEY, 2011). Schlussfolgernd ist der Test für die canine Hypothyreose eher von geringem diagnostischen Wert, darüber hinaus ist TRH schlecht verfügbar (KEMPPAINEN, 2001).

3.7. Thyreoglobulin - Autoantikörper

Thyreoglobulin-Autoantikörper können den Gesamt-Thyroxinwert beeinflussen. Die Bestimmung ihrer Konzentration bietet zwar keine Hinweise über die noch vorhandene Funktionsfähigkeit der Schilddrüse, jedoch lassen sich durch das Vorhandensein von Autoantikörpern Rückschlüsse auf mögliche Ursachen ziehen (MOONEY, 2011). Das Vorkommen von TgAAs bei nicht-thyroidalen Erkrankungen ist unwahrscheinlich (DIXON und MOONEY, 1999). Als häufige

Folge einer lymphozytären Thyroiditis sind sie oft im Blut erhöht bevor die Hypothyreose klinisch wird (GRAHAM et al., 2007). TgAAs bieten sich wegen ihrer hohen Spezifität als ergänzendes Diagnostikum in Kombination mit beispielsweise freiem Thyroxin vor allem dann an, wenn die TSH- und Gesamt-Thyroxin-Konzentration keine klaren Hinweise liefern (MOONEY, 2011).

3.8. Blutbild

Das Blutbild kann in seltenen Fällen (30 % der caninen Hypothyreosefälle) eine leichte bis mittelgradige normozytäre, nicht-regenerative, normochrome Anämie aufweisen (PANCERA, 1994b). Außerdem kann eine mikro- oder makrozytäre, hypochrome Anämie, durch einen möglicherweise vorliegenden Folsäure- oder Vitamin B12-Mangel entstehen (MILLER et al., 2013).

3.9. Serumbiochemie

Im Serum eines caninen Hypothyreosepatienten lassen sich sowohl in 72 % der Fälle erhöhte Cholesterinwerte als auch je nach Autor bei 53% bis 88% der Fälle erhöhte Triglyzeridwerte feststellen (DIXON et al., 1999; BORETTI et al., 2003). Ursächlich ist eine bei Hypothyreosepatienten vorliegende niedrigere Plasma Clearance (Eliminierung einer Substanz aus dem Blutplasma) sowie eine verminderte Nierenperfusion im Gegensatz zu gesunden Hunden (MILLER et al., 2013). Plasmalinolen- und Ölsäuren nehmen zu, Arachdionsäure, Dihomo- γ -linolensäure Konzentrationen sinken (MILLER et al., 2013). In einer Studie mit 50 Patienten traten bei 49% der Patienten erhöhte Glukosewerte auf (DIXON et al., 1999). Die Serumkreatinkinase (CK) kann in 35 % der Fälle mit oder ohne einhergehende Myopathie mild erhöht sein (DIXON et al., 1999). Ein hoher Anstieg der Aspartattransaminase (AST) war bei 15% der Hunde sowie die γ -Glutamyltransferase (γ -GT) bei 21% feststellbar (DIXON et al., 1999). Unphysiologisch gesteigerte Konzentrationen der Alaninaminotransferase (ALT) und Laktatdehydrogenase (LDH) resultieren vermutlich aus hypothyroidale Myopathien oder degenerativen Prozessen in der Leber (Zirrhose oder Steatosis hepatis) (MILLER et al., 2013). Bei Diabetespatienten kann eine Insulinresistenz durch eine Hypothyreose getriggert werden (FORD et al., 1993; MILLER et al., 2013).

3.10. Urinanalyse

In den meisten Fällen sind die Ergebnisse einer Urinanalyse von hypothyreoten Patienten eher unspezifisch. Jedoch kann es in seltenen Fällen mit Pyodermien oder lymphozytärer Thyroiditis zu Proteinurie sowie einer Immunkomplexglomerulonephritis kommen (MILLER et al., 2013).

3.11. Sonographie der Schilddrüse

Mittels Hochfrequenz-Schallköpfen (mit mindestens 10 MHz) lässt sich die Schilddrüse durch ihre oberflächliche Lage (1,5 – 2 cm tief) unter der Haut gut darstellen (TAEYMAN et al., 2007). Euthyreote wie auch Hunde mit ESS weisen im Vergleich zum Musculus sternothyroideus, eine hyperechogene Echotextur der Schilddrüse auf. Die Schilddrüse des euthyreoten Hundes ist von einer glatten Kapsel umgeben und die Schilddrüsenlappen weisen eine dreieckige Form im Querschnitt sowie eine spindelförmige Struktur im Längsschnitt auf (MOONEY, 2011). Die Größe der Schilddrüse variiert mit der Rasse (BROMEL et al., 2005). Signifikant niedriger ist die Echogenität von TgAA-negativen als auch TgAA-positiven Hunden (REESE et al., 2005). Reese et al. 2005 berichten, dass sich sowohl das Schilddrüsenvolumen als auch die Maximal Cross Sectional Area (MCSA) signifikant bei hypothyreoten und euthyreoten Hunden unterscheiden. Hypothyreote Hunde weisen ein vermindertes Volumen sowie eine geringere Breite, Höhe und Länge des Organs auf. Im Gegensatz dazu zeigen Hunde mit ESS in Vergleich zu euthyreoten Hunden keinerlei Unterschiede in den Größendimensionen der Schilddrüse (REESE et al., 2005). Durch eine hohe Sensitivität (98%) ist die Sonographie der Schilddrüse ein gutes Diagnostikum um zwischen dem ESS und der caninen Hypothyreose zu unterscheiden (REESE et al., 2005). Ein weiterer Vorteil dieser Diagnostikmethode ist die geringe Invasivität und Belastung des Patienten, da in den wenigsten Fällen eine Sedation oder Anästhesie notwendig sind. Eine Limitation dieser Messmethodik ist die Abhängigkeit der Qualität der Untersuchung von der Erfahrung und den sonographischen Fähigkeiten des Untersuchers (MOONEY, 2011).

3.12. Biopsie der Schilddrüse

Die Biopsie der Schilddrüse kann ein gutes Diagnostikum zur Differenzierung zwischen primärer und sekundärer Hypothyreose darstellen (MILLER et al., 2013). Ein deutlicher Verlust von follikulärem Epithel lässt auf eine primäre Hypothyreose, mit in der Regel zugrundeliegender lymphozytärer Thyroiditis schließen (MILLER et al., 2013). Euthyreote Hunde, welche mit Medikamenten wie beispielsweise Glukokortikoiden behandelt wurden, weisen vermehrt kolloidale Tröpfen im Zytoplasma pro Follikelzelle auf, was wiederum Rückschlüsse auf eine verminderte lysosomale Hydrolyse des Kolloids zulässt (WOLTZ et al., 1983). Diese Patienten weisen meist zusätzlich niedrige basale Gesamt-T3- und TT4-Werte kombiniert mit physiologischen Ergebnissen von TSH- und TRH-Stimulationstests auf (MILLER et al., 2013). Bei Verabreichung von Sulfonamiden, sowie bei Patienten mit sekundärer Hypothyreose zeigen die Schilddrüsenfollikel eine starke Kolloidfüllung, wodurch das Epithel abgeflacht erscheint, wobei oft auch eine fehlende Vakuolisierung des Kolloids festgestellt werden kann (MILLER et al., 2013). Die medikamentelle Beeinflussbarkeit der Histologie sowie die hohe Invasivität und Kostenintensität dieser Methode limitiert den Nutzen und Einsatz in der täglichen Praxis. Für eine onkologische Abklärung erscheint diese Methode allerdings sinnvoll. Eine alternative Feinnadelaspiration bietet hierfür meist nicht genügend Aussagekraft durch die oftmals starke Blutkontamination des gewonnenen Gewebes.

3.13. Computertomographie, Magnetresonanztomographie und nuklearmedizinische Ansätze

Magnetresonanzverfahren sowie Computertomographie sind beim Hund als Diagnostikum der Hypothyreose aktuell noch sehr aufwendige und kostenintensive Verfahren, die aufgrund der technischen und finanziellen Gegebenheiten auch nur einzelnen (zumeist) Tierkliniken vorbehalten sind (MOONEY, 2011). Des Weiteren wurden diese Methoden bislang nur an euthyreoten Hunden getestet (TAEYMANS et al., 2008a; TAEYMANS et al., 2008b).

Nuklearmedizinische Möglichkeiten wie die Aufnahme von Technetium 99M ($^{99M}TcO_4^-$) in der Schilddrüse werden von einzelnen Autoren als neuer Goldstandard postuliert (DIAZ ESPINEIRA et al., 2007). Hypothyreote Patienten nehmen zwischen 0,03 % bis zu 0,26% des $^{99M}TcO_4^-$ in einer Stunde auf. Im

Gegensatz dazu liegt die Absorption nach einer intravenösen Injektion bei euthyreoten Patienten mit niedrigen Thyroxinkonzentrationen zwischen 0,39% bis 1,86% pro Stunde (MOONEY, 2011). So entsteht keine Überlappung der Werte der zwei Gruppen (MOONEY, 2011). Das Technetium wird bei diesem Verfahren mit einer Dosis von 140–160 MBq intravenös verabreicht. Die Aufnahme nach intravenöser Injektion des Stoffes unterscheidet sich verlässlich bei hypo- und euthyreoten Hunden. Die Methode scheint von physiologisch niedrigen TT4-Werten nicht beeinflusst zu werden und stellt so eine vielversprechende Diagnostikmöglichkeit bei beispielsweise Windhunden dar (MOONEY, 2011). So kann beispielsweise bei Greyhounds, welche rassetypisch niedrigere Schilddrüsenhormonkonzentrationen als viele andere Hunderassen aufweisen, zwischen hypo- und euthyreot differenziert werden (PINILLA et al., 2009). Da bei Menschen die Aufnahme des Technetiums durch diverse nicht-thyroidale Erkrankungen verändert werden kann, bedarf es in der Tiermedizin hierfür noch weiterführender Untersuchungen (MOONEY, 2011).

3.14. Genetische Vorsorgeuntersuchung

Eine genetische Vorsorgeuntersuchung stellt einen interessanten Faktor für Hundezüchter dar, da die meisten Hunde vor der klinischen Manifestation der Erkrankung bereits im Zuchteinsatz sind. Stammbaumanalysen mit TgAA-Auffälligkeiten können Hinweise auf die Heritabilität der caninen Hypothyreose bieten (FERGUSON, 2007). Eine neue Studie mit Dobermännern zeigte eine Verbindung zwischen einem seltenen Major-Histokompatibilitätskomplexes (MHC) und dem haplotypen Allel des Hunde-Leukozyten-Antigens (DLA) (KENNEDY et al., 2006). Momentan existieren in der Tiermedizin allerdings noch keine zuverlässigen genetischen Tests dieser Art. Dennoch ist das TT4 bei einigen Laboratorien bereits ein Parameter der in das Standardrepertoire bei Gesundheitsprofilen aufgenommen wurde (FERGUSON, 2007). Eine Vorsorgeuntersuchung mit einem Thyroxinwert im Referenzbereich (dessen wissenschaftliche Verlässlichkeit allerdings noch ermittelt werden müsste) wurde als Zuchteinschlusskriterium in Betracht gezogen (FERGUSON, 2007).

3.15. Therapieversuch

Ein Therapieversuch mit Levothyroxin wird von einigen Autoren als mögliche Diagnostikoption beschrieben, wenn zwar klinisch eindeutige Symptome vorliegen, jedoch die Laborwerte keine schlüssige Diagnose zulassen (FERGUSON, 2007). Zuvor sollte eine nicht-thyroidale Erkrankung jedoch ausgeschlossen werden (FERGUSON, 2007). Zur Minimierung des Risikos einer Versuchstherapie, sollte der Patient bei sonst gutem Allgemeinbefinden sein, sprich kein Verdacht auf weitere Erkrankungen zusätzlich zur Hypothyreose vorliegen (FERGUSON, 2007).

Ein Therapieversuch sollte erst dann in Erwägung gezogen werden, wenn entweder ein niedriger Gesamt-Thyroxinwert vorliegt, ein normaler Gesamt-Thyroxinwert in Kombination mit einem niedrigen TSH-Wert, oder ein normaler Gesamt-Thyroxinwert bei positiven TgAAs. Im Falle einer Linderung der klinischen Symptome, kann eine Provokation durch Absetzen der Medikation zur Diagnoseerhöhung durchgeführt werden, bei welchem das Wiederkehren der Hypothyreosesymptome als diagnostisch angesehen wird (FERGUSON, 2007; SCOTT-MONCRIEFF, 2012).

Vor allem Patienten mit *saisonaler Flankenalopecia*, schlechter Fellqualität und Polyneuropathien scheinen von einer Versuchstherapie zu profitieren, was jedoch auch bei euthyreoten Patienten der Fall sein kann. (FERGUSON, 2007). Falls nach Abschluss des Therapieversuchs erneut eine weiterführende Diagnostik angestrebt wird, sollte diese für verlässliche Testresultate erst sechs bis acht Wochen nach Absetzen der Schilddrüsenhormone erfolgen (FERGUSON, 2007).

3.16. Enzymimmunoassay (EIA)

Im Enzymimmunoassay macht man sich die molekulare Erkennungsfähigkeit von Antikörpern zu Nutze. Er wird in der Diagnostik häufig für die Bestimmung von Hormonkonzentrationen oder beispielsweise Tumormarkern verwendet (WISDOM, 1976). Hierbei existieren fünf verschiedene Formen des EIA: Den kompetitiven EIA, den Immunoenzymometricassay, den Homogeneous-EIA für Haptene, den Sandwich-EIA und den EIA für Antikörper (WISDOM, 1976).

Bei der kompetitiven Form konkurriert das gesuchte Antigen mit einem markierten Laborantigen. Die Menge an markiertem Antigen, lässt sich nach der Bindung berechnen, wenn die Ausgangskonzentration bekannt ist.

Der Immunoenzymometricassay misst die Menge an reagierendem Enzym nach der Bindung eines gesuchten unmarkierten Antigens. Das gesuchte Antigen befindet sich in einer Probenflüssigkeit und bindet an seinen Bindungspartner in einer festen Phase (Solide Phase). Hierfür werden häufig Mikrotiterplatten, mit vorgefertigten Kavitäten, aus Kunststoff verwendet. Ein Überschuss an markierten Laborantikörpern reagiert nach Inkubation mit einem Überschuss an Solide-Phase-Antigen. Dieses Solide-Phase-Antigen reagiert mit dem freien markierten Antikörper. Nachdem die solide Phase separiert wurde, wird die Enzymaktivität, welche mit den flüssige-Phase-Antigenen reagiert hat, gemessen (WISDOM, 1976).

Für die Bestimmung der Gesamt-Thyroxinkonzentration im Serum wird der Homogene EIA verwendet (HORNEY et al., 1999). Das im Serum enthaltene Antigen konkurriert mit einer vordefinierten Konzentration enzym-markierten Antigens um die Bindungsstellen an einer konstanten Menge an Antikörpern. Der enzym-markierte Ligand setzt daraufhin ein Substrat um (WIRNT, 1990). Somit kann der Trennschritt wie beim klassischen Immunoassay entfallen, da die Bindung des Antikörpers an das enzymmarkierte Antigen die Aktivität des Enzyms verändert. Das ermöglicht den Ablauf beider Reaktionen in homogener Lösung (FRIEMEL, 1991). Der gebundene Anteil, der Komplex aus enzym-markierte Ligand und Antikörper kann keine Katalyse mehr bewirken. So ist die Antigenkonzentration in der Serumprobe direkt proportional zur ermittelten Enzymaktivität (WIRNT, 1990).

Beim Sandwich EIA werden statt einem Antigen zwei unterschiedliche Überschuss-Antikörper zum gesuchten Analyt verwendet: Es entsteht eine deutlichere Markierung des gesuchten Antigens durch die zwei daran bindenden Antikörper, als nur mit einem (WISDOM, 1976). Auf einer Mikrotiterplatte werden Antikörper befestigt, welche an das gesuchte Antigen binden. Nach dem Abwaschen der nicht kompatiblen Antigene erfolgt die Erkennung durch einen weiteren Antikörper der Epitope des Antigens erkennt. Diese sind kovalent an das Enzym (zum Beispiel E. coli-p-Galactosidase, tierische oder pflanzliche Enzyme wie Meerrettich-Peroxidase) fixiert (HORNEY et al., 1999). Nach einem weiteren Waschgang wird ein Enzymsubstrat hinzugefügt (o-Nitrophenyl-P-D-Galactopyranosid), welches nach Bindung der Enzyme zu einem Farbumschlag, welcher proportional zur Menge der gebundenen Antikörper steht, führt (HORNEY et al., 1999). Im Gegensatz zum Radio-Immunoassay findet keine Bearbeitung von

radioaktiven Substanzen statt, was die Gefahr für das Personal reduziert und somit auch bei entsprechendem Equipment *in-house* durchgeführt werden (HORNEY et al., 1999). Laut Horney et. al liegt die generelle Korrelation zwischen RIA und EIA zwischen 0,88 und 0,97 für Hunde und Katzen (HORNEY et al., 1999). Des Weiteren wird der EIA im Gegensatz zum RIA seltener durch Autoantikörper des Patienten beeinflusst (HORNEY et al., 1999). Die niedrigere Interferenz von T4 Autoantikörpern beim EIA im Gegensatz zum RIA könnte teilweise an den unterschiedlichen verwendeten Antikörpern liegen. Beim RIA wird ein polyklonaler Antikörper eingesetzt. Der EIA beinhaltet einen monoklonalen Antikörper, welcher weniger anfällig für Kreuzreaktivitäten ist (HORNEY et al., 1999).

3.17. Chemilumineszenz-Immunoassay (CLIA)

Der Chemilumineszenz-Immunoassay wurde für die Bestimmung von Hormonkonzentrationen im Blut entwickelt (SINGH et al., 1997) und ist ein verlässlicher diagnostischer Test um Thyroxinkonzentrationen im Serum zu messen. Laut Angaben einiger Laboratorien liegt die Sensitivität zwischen 89 % und 100% und die Spezifität zwischen 75 % bis 82% (2001). Die Sensitivität des CLIA wird dem RIA gegenüber als mindestens genauso verlässlich eingestuft (DUDLEY, 1990). Singh et al. 1997 berichteten allerdings von einer niedrigeren Thyroxinmessung des CLIA (bis zu 40 %) im Vergleich zum RIA bei Hunden (SINGH et al., 1997). Im Gegensatz zum EIA wird beim CLIA Chemilumineszenz als Reaktionsvorgang verwendet. Hierbei wird ein Elektron in einen angeregten Energiezustand versetzt. Die Energie, welche bei der Rückkehr in den Ursprungszustand frei wird, wird als Photon freigesetzt (DODEIGNE et al., 2000). Ein Markerenzym konvertiert ein Substrat zu einem Produkt welches Photonen im ultravioletten, sichtbaren Bereich emittiert, anstatt einen Farbumschlag zu erzeugen. Das erzeugte Licht ist invers proportional zur Menge des gemessenen Hormons im Serum (STURGESSION et al., 1986). Die meisten Assays verwenden Luminol, seine Derivate, tris (2,2'-bipyridyl) Ruthenium (II) (Ru(bpy)) oder Aryl-Acridinium-Ester (WEEKS et al., 1986; LEE, 1997; RONALD und STIMSON, 1998). Die Chemilumineszenz wird luminometrisch gemessen (WEEKS et al., 1986). Das Prinzip basiert auf der Messung von Photonen, welche zu elektrischen Impulsen konvertiert werden (DUDLEY, 1990). Der Nachteil des Luminols ist seine Beeinflussbarkeit der Lichtemission durch Polypeptide und Proteine, sowie

die Notwendigkeit von Katalysatoren (DUDLEY, 1990). Aryl-Acridinium-Ester sind lange haltbar und benötigen keinerlei Katalysatoren und zeigen kaum verminderte Emissionen durch Faktoren, die Luminol beeinflussen würden (DUDLEY, 1990). Bei tris (2,2'-bipyridyl)-Ruthenium (II) (Ru(bpy)) handelt es sich um eine elektrochemisch ausgelöste Chemilumineszenz.

Auch sehr geringe Mengen an Hormon können beim CLIA bei einer breiten Messspanne noch gemessen werden (DUDLEY, 1990; KNIGHT, 1999). Im Gegensatz zu anderen Immunoassays ist zumindest der homogene CLIA durch das Fehlen von Wasch- und Trennschritten weniger zeitintensiv (KNIGHT, 1999). Es gibt zwei verschiedene Formen des CLIA: Den homogenen und den heterogenen Chemilumineszenz-Assay. Bei ersterem wird Licht durch die Bindung eines Chemilumineszenz-markierten Antigens und eines Antikörpers emittiert. Beim heterogenen CLIA ist in Analogie zum EIA ein weiterer Wasch- und Trennschritt notwendig.

Wie auch der EIA benötigt dieses Verfahren keine radioaktiven Stoffe und ist relativ kostengünstig (WEEKS et al., 1986; KNIGHT, 1999). Die Marker sind stabil, sicher und benötigen keine hochaufwendigen Apparaturen (RONALD und STIMSON, 1998). Ronald et al. 1998 berichteten von einer höheren Sensitivität des Verfahrens gegenüber herkömmlichen Enzymmarkern (RONALD und STIMSON, 1998). Der Hauptvorteil der Chemilumineszenz ist eine kurze Inkubationszeit und große Stabilität der Reagenzien, sowie eine lang andauernde, lineare Photonemission (DODEIGNE et al., 2000). Laut Ohlhafer et al. 2014 ergab sich für Thyroxinbestimmungen beim EIA und CLIA beim Meerschweinchen eine gute Übereinstimmung (OHLHAFER und WEIS, 2014). Labor 2 und 3 verwendeten den Immulite 2000 von Siemens für ihren CLIA.

3.18. Beeinflussende Faktoren der Labortests

Messtechnische Schwankungen können für variable Laborergebnisse verantwortlich sein. Verlässlichere Ergebnisse erhält man möglicherweise dank einer häufiger durchgeföhrten, internen Validierung der Messmethodik. Der T4-CLIA erzielt nach Angaben verschiedener Laboratorien eine Spezifität von 75-82% und eine Sensitivität von 89-100 % (2001). Für den EIA auf T4 konnte auch in der Literatur keine Spezifität oder Sensitivität angegeben werden. Präzisere und fortschrittlichere Geräte und Technologien können zu einer verbesserten Reproduzierbarkeit beitragen.

4. Therapie der Hypothyreose

4.1. Medikamentelle Therapie

Nach erfolgreicher Diagnosestellung und Ausschluss von Differentialdiagnosen kann die canine Hypothyreose behandelt werden. Orales Levothyroxin ist das Medikament der Wahl (MILLER et al., 2013). Die Therapie der primären und sekundären caninen Hypothyreose läuft im Wesentlichen vergleichbar ab. Ein Ansprechen auf die Therapie aller klinischen Hypothyreosesymptome des Patienten ist ein deutlicher Hinweis auf die Korrektheit der Diagnosestellung (MILLER et al., 2013). Euthyreote Hunde zeigen zwar manchmal eine Verbesserung der Fellqualität und des Hautzustandes, allerdings ist dies nicht von Dauer (MILLER et al., 2013). Der Körper reagiert unterschiedlich rasch auf die Schilddrüsenhormonsupplementation. Nach Therapiebeginn verschwinden Symptome wie Lethargie und Depression meistens in den ersten zwei bis vier Wochen (MILLER et al., 2013). In der Regel spricht die Haut langsamer auf die Therapie an (MILLER et al., 2013). In den meisten Fällen verschwinden die durch die Hypothyreose verursachten Läsionen nach Therapieadministration innerhalb von drei Monaten (MILLER et al., 2013). Sollte dies nicht komplett der Fall sein, beispielsweise bei Narbengewebe, dürften sich jedoch wenigstens keine neuen Hautläsionen bilden. Das Haarkleid verliert in der Anfangsphase der Therapie seine sich in der telogenen Wachstumsphase befindlichen Haare. Es kann zur Erstverschlechterung des Haarkleids, Haarverlust bis zur Alopezie kommen. Dieser Zustand ist jedoch temporär (MILLER et al., 2013).

An der Medizinischen Kleintierlink der Ludwig-Maximillian Universität München wird momentan Forthyron® ad us. vet. der Firma Eurovet (Dr. E. Graeub AG) eingesetzt. Der Wirkstoff ist Natriumlevothyroxin, welcher im peripheren Gewebe, wie das körpereigene Thyroxin zum aktiven Hormon Triiodthyronin metabolisiert wird. Die Empfehlungen bezüglich der initiale Dosis, sowie der Applikationsfrequenz (einmalige bzw. zweimalige täglichen Gabe) divergieren stark (REUSCH und BORETTI, 2006). Laut Dixon et al. ist die adäquate Initialdosierung 20 µg/kg Levothyroxin einmal täglich (DIXON et al., 2002). Die Dosierung wurde bei nur 35% der Studienpatienten hoch korrigiert aber bei der einmaligen Gabe belassen. Im Gegensatz dazu empfehlen Nachreiner et al. eine häufigere Frequenz (zweimal täglich) (NACHREINER et al., 1993). Auch ein universitäres Symposium in Kalifornien (Davis) im Jahre 1996, sowie die Klinik

für Kleintiermedizin in Zürich entschieden sich zu einer initialen Dosis von 20 µg/kg Levothyroxin zweimal täglich (REUSCH und BORETTI, 2006). Reusch et al. sprechen zusätzlich von einer besseren Bioverfügbarkeit sowie die Tabletten entweder kontinuierlich im Abstand zur Futtergabe zu verabreichen oder ohne Futter (REUSCH und BORETTI, 2006). Miller et al. empfehlen eine Dosis von 20 µg/kg zweimal täglich zu Therapiebeginn (MILLER et al., 2013). Nach Besserung raten sie, die Dosis auf einmal täglich zu reduzieren. Dies sei der Besitzercompliance dienlich. Da die Therapie der caninen Hypothyreose lebenslang erforderlich ist und täglich, zuverlässig erfolgen sollte, sei eine gute Besitzercompliance sehr zuträglich (MILLER et al., 2013). Sollte daraufhin eine Verschlechterung des klinischen Bildes zu bemerken sein, ist die zweimal tägliche Administration der Medikation empfehlenswert (MILLER et al., 2013). Aus pharmakologischer Sicht bietet die zweimalige Verabreichung eine bessere Mimikry des physiologischen Stoffwechsels der Schilddrüsensekretion. Das Medikament wird im Gegensatz zum menschlichen Organismus vom caninen Metabolismus schlechter verstoffwechselt. Des Weiteren ist eine höhere Dosierung beim Hund als beim Menschen erforderlich, da dieser über eine niedrigere Halbwertszeit des Thyroxins verfügt. Bei Hunden liegt die metabolische Metabolisierungsrate bei zehn bis sechzehn Stunden, beim Menschen hingegen bei sieben Tagen (MILLER et al., 2013). Die Verstoffwechselung ist individuell variabel und bedarf daher in der Anfangsphase einer wiederholten Anpassung (NACHREINER et al., 1993). Die Aufnahme scheint auf nüchternen Magen höher zu sein (MILLER et al., 2013). Der Gipfel der Thyroxinkonzentration tritt nach vier bis sechs Stunden nach Tabletteneingabe ein (NACHREINER et al., 1993). Durch die hohe Metabolisierungsrate kommt es selten zu Nebenwirkungsanzeichen einer Hyperthyreose, wie Hecheln, Unruhe, Schlaf- und Rastlosigkeit, Angstzuständen, Durchfall, Fieber, Polyphagie, Polydipsie, Polyurie, Juckreiz, Tachykardien und Hitzeintoleranz. Sollte es zu Nebenwirkungen kommen, sind diese (nach erfolgreicher Anpassung der Therapie) meist transient (HANSEN et al., 1992). Der Besitzer sollte bei einem Präparat bleiben, soweit dieses einen Therapieerfolg erzielt. Es wird postuliert, dass die Bioverfügbarkeit von Levothyroxin nach Hersteller teils deutlich variiert (NACHREINER und REFSAL, 1992).

Patienten mit kardiologischen Symptomen sollten zunächst vorsichtig mit einer niedrigen Dosis Levothyroxin eingestellt werden, da Schilddrüsenmedikamente ein Herzversagen triggern können (PANCIERA, 1994a). Empfohlen werden 5 µg/kg

Körpergewicht alle 12 Stunden über zwei Wochen. Falls darauf keine kardialen Nebenwirkungen entstehen, kann die Dosis auf 10 und dann 15 µg /kg (alle 12 Stunden über zwei Wochen) sukzessive gesteigert werden bis der Patient seine benötigte Erhaltungsdosis erhält (MILLER et al., 2013). Des Weiteren raten sie bei Patienten mit Diabetes mellitus, M. Addison, Herzerkrankungen sowie Niereninsuffizienz und Lebererkrankungen eine geringere Dosierung von 5 µg/kg 2x täglich anzustreben (REUSCH und BORETTI, 2006). Hierbei alle zwei Wochen eine Dosissteigerung durchgeführt werden (REUSCH und BORETTI, 2006). Laut Miller et al. sollten Hunde mit Hypoadrenocortizismus bis zur medikamentellen Stabilisierung nicht mit Schilddrüsenhormonen supplementiert werden (MILLER et al., 2013).

Eine Störung in der Umwandlung von T3 zu T4 ist beim Hund zwar noch nicht beschrieben, allerdings kann alternativ zur Levothyroxintherapie auch eine Therapie mit Triiodthyronin versucht werden. Diese Variante ist kostenintensiver als die konventionelle Levothyroxintherapie. Zu Beginn erhalten die Patienten alle acht Stunden 4 bis 6 µg Triiodthyronin pro kg Körpergewicht per os. Im Falle eines Myxödemkomas kann alternativ zu niedrigen parenteralen (intravenösen) Dosen von Levothyroxin (1,0 µg /kg) (HENIK und DIXON, 2000) auch Triiodthyronin, über eine Magensonde, oral verabreicht werden (MILLER et al., 2013).

Des Weiteren kann die Administration von Schilddrüsenhormonen die Verstoffwechselung anderer Medikamente beeinflussen und somit eine Dosisanpassung von zum Beispiel Insulin, Phenytoin und Phenobarbital erforderlich machen (MILLER et al., 2013).

Eine Thyroxin-Therapie bei euthyreoten Hunden kann in manchen Fällen in einer tatsächlichen sekundären Hypothyreose resultieren. Der Körper beginnt in diesem Fall etwa vier Wochen nach Therapiebeginn die TSH-Produktion zu reduzieren, wodurch die Schilddrüse mit einer verminderten Ansprechbarkeit auf Schilddrüsenhormone reagieren kann. Diese sekundäre Hypothyreose kann in einzelnen Fällen nicht-reversibel sein und eine lebenslange Therapie erfordern (MILLER et al., 2013).

4.2. Therapieversagen

Verschiedene Gründe können zu einem schlechten Ansprechen auf die Hormon supplementierung führen: Eine falsche Dosierung und ein mangelhaftes Besitzermanagement können das Therapieversagen erklären (MILLER et al., 2013). Zu geringe Dosen, eine unzuverlässige Administration, eine zu wenig frequentierte Verabreichung oder eine mindere Bioverfügbarkeit können ein Therapieversagen begründen (MILLER et al., 2013). Erfolgt die Tablettenadministration zum Beispiel nicht täglich, oder in zu großem Abstand ist der kann der Thyroxin Spiegel im Laufe des Tages potentiell unter den Referenzbereich fallen. Somit kann keine optimale Wirkung erzielt werden. Auch kann die Gabe mit zu viel Futter eine Problematik darstellen. Dies kann die Aufnahme des Medikaments möglicherweise beeinträchtigen (MILLER et al., 2013). Der Behandlungszeitpunkt sowie der Abstand der Tablettenadministration zur Futteraufnahme sollte optimaler Weise täglich zur gleichen Zeit angestrebt werden (CLINIPHARM, 2008). Setzt der Besitzer die Thyroxin Tablette mit zu großem zeitlichen Abstand zur Eingabe dem Sonnenlicht, Hitze oder Licht aus kann auch dies die Wirksamkeit des Medikaments herabsetzen. Der Hersteller von Forthyron® ad us. vet. Tabletten der Firma Eurovet (Dr. E. Graeb AG) empfiehlt das Medikament nicht über 25°C aufzubewahren, nicht dem Licht auszusetzen, sowie bereits angebrochene Tabletten nicht länger als vier Tage lang im Blister zu verwahren (CLINIPHARM, 2008). Die häufigste Ursache jedoch ist eine Fehldiagnose der caninen Hypothyreose. Eine andere Endokrinopathie kann der Grund für die Hautsymptomatik darstellen. Beispielsweise können bei manchen Patienten der Morbus Cushing und die Hypothyreose ein ähnliches klinisches Bild hervorrufen.

4.3. Therapiekontrolle

Der Nutzen der Post-Pill Kontrolle bei der Anpassung der Therapie der caninen Hypothyreose ist diskutabel (MILLER et al., 2013). Der Post-Pill Wert misst die Thyroxin Spitzenkonzentration im Blutserum, welche vier bis sechs Stunden nach Verabreichung von Levothyroxin auftritt (NACHREINER und REFSAL, 1992). Zur ersten Anpassung der Therapie wird dieser zwei bis vier Wochen post Therapiebeginn empfohlen (MILLER et al., 2013). Bei Therapieerfolg bis hin zur klinischer Remission aller Symptome der Hypothyreose und gleichzeitigem Ausbleiben von Nebenwirkungen ist die Aussagekraft des Post-Pill Wertes von

einigen Autoren als gering angesehen (MILLER et al., 2013). Bei Hunden wird der TT4 Spitzenserumwert vier bis sechs Stunden nach Tablettengabe beobachtet, weshalb das Ergebnis dieser Messung in diesem Zeitrahmen am oberen Referenzbereich erwartet werden (NACHREINER et al., 1993). Es wird eine optimale Thyroxinkonzentration im oberen Normalbereich angestrebt (30 - 47 nmol/l) (CLINIPHARM, 2008). Eine einmalige Administration der Schilddrüsenhormone resultiert in einem höheren Gipfel als die zweimalige Verabreichung (NACHREINER et al., 1993). Allerdings resultiert aus einer einmaligen Gabe ebenfalls das potentielle Risiko des Absinkens des Serum Thyroxins unter den Referenzbereich.

4.4. Prognose

Die Prognose der caninen Hypothyreose hängt von der vorliegenden Form der Erkrankung ab. So haben die primäre, sekundäre und tertiäre Hypothyreose unterschiedliche prognostische Ausblicke. Bei adäquater und an den Patienten adaptierter Therapie hat die primäre, canine Hypothyreose eine gute Prognose. Hypothyreote Hunde haben unter Therapie weder Einbuße an Lebensqualität noch eine verminderte Lebenserwartung (MEEKING, 2005). Die sekundäre Hypothyreose hat je nach Einzelfall eine schlechtere Prognose: Die Lebenserwartung des Patienten kann bei Zerstörung des Hypophysenvorderlappens deutlich vermindert sein (REUSCH und BORETTI, 2006). Die kongenitale Hypothyreose hat je nach Patient eine sehr variable, oft bis hin zu infauste Prognose, abhängig von ihrem klinischen Ausmaß: Welpen versterben häufig rasch nach der Geburt oder in Abhängigkeit von ihren Gelenks- und Knochenveränderungen wenige Zeit danach (REUSCH und BORETTI, 2006). Die Prognose der durch chirurgische Exzision der Schilddrüse verursachten iatrogenen Hypothyreose ist gut, da sie sich aufgrund von verbliebenem Restgewebe meist nicht permanent manifestiert und somit reversibel ist (SCOTT-MONCRIEFF, 2007).

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Tierpopulation

Die Tierpopulation entstammte dem Patientengut der Medizinischen Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München sowie der Praxen weiterer Mitglieder der Deutschen Gesellschaft für Veterinärdermatologie, den Kollegen Drs. Helmes & Schütterle (Alfter), Dr. Fischer (Korneuburg), Drs. Krämer & van Well (Rodewald), Drs. Greim & Salzer (Rossbach-Wied), Dr. Küblböck (Schwarzenberg), Dr. Sandmann (Neuss) und Drs. Sappert & Buck (Marktoberdorf). Insgesamt wurden 57 privat gehaltene Hunde mit einem klinisch konkreten Verdacht auf Schilddrüsenunterfunktion oder nachgewiesener Hypothyreose in die Studie eingeschlossen.

2. Einschlusskriterien der Hunde

Die teilnehmenden 57 Hunde wiesen mindestens zwei der zehn Leitsymptome der caninen Hypothyreose auf: Gewichtszunahme bei normaler Nahrungszufuhr, Alopezie, Schuppenbildung, Hypotrichose, Wundheilungsstörungen, Apathie, Kälteintoleranz, Lethargie, rezidivierende Infektionen der Haut oder der Ohren der Demodikose des adulten Hundes.

3. Ausschlusskriterien der Hunde

Hunde, die nicht mindestens zwei der oben genannten klinischen Anzeichen einer Hypothyreose aufwiesen, konnten nicht in die Studie inkludiert werden. Des Weiteren wurden Proben, welche nicht zu den vorher festgelegten drei Standardlaboratorien versandt wurden, nicht in die statistische Auswertung aufgenommen. 57 Hunde wurden in die Studie inkludiert, wobei nicht die Proben aller Patienten für alle Analysen verwendet wurden. Letztendlich konnten somit Serumproben von 41 Patienten evaluiert werden. In fünf Fällen gehörte eines der Blutproben auswertenden Labore nicht zu den für die Studie ausgewählten Laboren. In elf anderen Fällen gingen individuelle Proben beim Transport verloren.

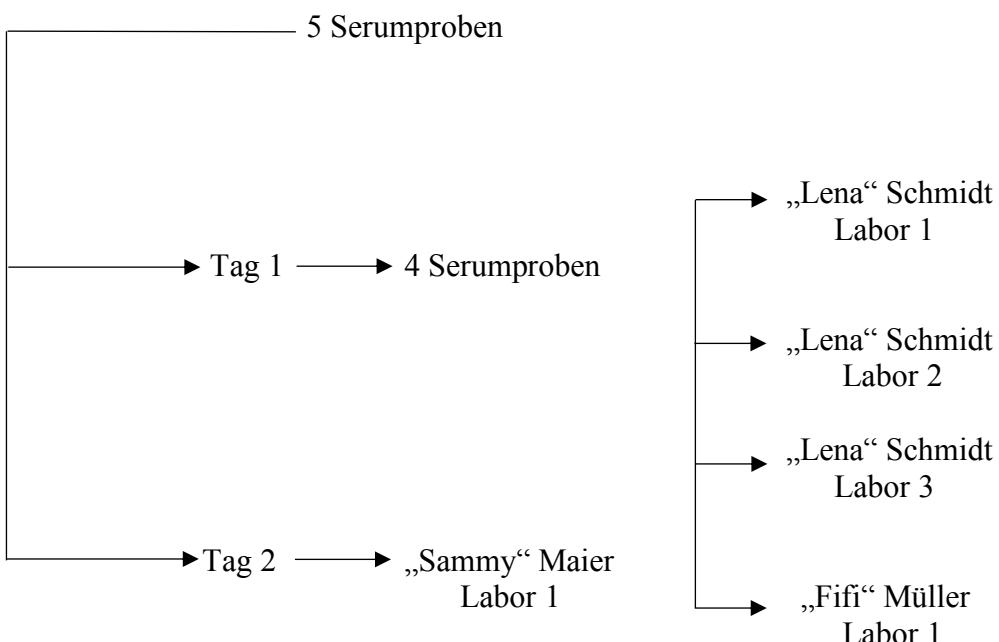
4. Aufklärung der Besitzer

Nach gründlicher Anamnese mit den Patientenbesitzern, welche den konkreten Verdacht auf das Vorliegen einer caninen Hypothyreose erzeugte, wurde den Patienten Blut entnommen. Nur wenn mindestens zwei der zehn Leitsymptome (siehe oben) zutrafen, sodass eine Überprüfung der Schilddrüsenparameter klar klinisch indiziert war, wurden die Hunde in die Studie inkludiert und den Besitzern die kostenfreie Blutentnahme und Kontrolle des TT4-Wertes angeboten. Gemeinsam mit dem Besitzer wurde das Formblatt 1 ausgefüllt (Anhang 1):

5. Durchführung der Probenverteilung

Die Studie wurde prospektiv, verblindet und multizentrisch konzipiert. Den Patienten wurden jeweils 10-15 ml venöses Blut zur Laborüberprüfung der Schilddrüsenwerte abgenommen. Dieses wurde nach einer Ruhephase binnen zwei Stunden zentrifugiert. Anschließend wurde das Serum in fünf Mikroreaktionsgefäß zu je 1 ml abgefüllt und bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt. Die fünf Serumproben wurden mit drei unterschiedlichen Patientennamen etikettiert und an je ein Labor versandt. Hierbei wurde je eine Probe an jedes der drei Labore geschickt; die zwei übrigen Serumproben wurden zusätzlich am selben Tag und einen Tag später (bis maximal drei Tage im Falle eines am Freitag gewonnenen Serums) an randomisiert eines der Labore zur Validierung der Werte geschickt.

Abbildung 1: Flussdiagramm Ablauf des Probenversandes



6. Statistische Methoden

Die statistische Auswertung erfolgte mittels eines Bland-Altman Plots, um einen Vergleich der Labortests untereinander durchzuführen. Die Intraassay-Variabilität berechnet die Streuung der Gesamt-Thyroxin Werte mehrerer Messungen aus einem Serum (mit unterschiedlichen Namen beschriftet) bei einem Labor am einem Tag. Die Interassay-Variabilität bestimmt die Streuung der Gesamt-Thyroxinwerte aus einem Serum (mit unterschiedlichen Namen beschriftet) bei einem Labor an unterschiedlichen Tagen. Der Cohen's Kappa Test überprüfte die Intra- und Interassay-Übereinstimmung der Labore. Die Korrelation der Werte der verschiedenen Labore und die Übereinstimmung der Ergebnisse der Labore untereinander (unter, über oder innerhalb des Referenzbereichs) wurden mittels eines Spearman Korrelationstests berechnet.

Für die statistische Auswertung wurde kommerzielle Statistiksoftware (Graphpad Prism 6 for Mac, Graphpad Software™, San Diego, USA) verwendet.

6.1. Bland Altmann-Plot

Der Bland-Altman Plot ist eine graphische Darstellungsmethode für den Vergleich von Labortests untereinander. Er wurde von John Martin Bland und Douglas G. Altman entwickelt (BLAND und ALTMAN, 1986). Sie postulierten, dass der Korrelationskoeffizient für den Vergleich zweier Messmethoden keine ausreichende Methode sei (BLAND und ALTMAN, 1986). Der Bland-Altman Plot, ein modifiziertes Punktdiagramm stellt die Messdifferenzen graphisch anschaulich dar und kann auch bei sehr unterschiedlichen Werten den funktionalen Zusammenhang verdeutlichen. Dazu werden in einem Kartesischen Koordinatensystem für die beiden Messmethoden die Differenzen gegenüber den Mittelwerten der Messungen aufgetragen. Als horizontale, unterbrochene Linie wird der Mittelwert der Abweichungen sowie die Mittelwertlinie ($\pm 1,96 \times$ Standardabweichung der Differenzen) markiert (BLAND und ALTMAN, 1999). Das somit entstandene, gekennzeichnete Areal auf dem Diagramm bezeichnet man als *limits of agreement* (KWIECIEN et al., 2011). Dieser Bereich beschreibt die nicht-korrigierbaren Abweichungen. Um von einer guten Übereinstimmung sprechen zu können dürfen nicht mehr als 5 % der Werte außerhalb der *limits of agreement* liegen. Je mehr „Ausreißer“ außerhalb dieses Areals liegen, desto mehr differieren die zwei Tests untereinander. Bland-Altman Plots zeigen die

Streuungsbreite der Abweichungen auf. Nach logarithmischer Auswertung kann optisch anschaulich dargestellt werden ob die Schwankung von der Höhe der Werte abhängig ist.

6.2. Cohens Kappa-Koeffizient

Der Cohens Kappa-Koeffizient (k) wurde 1960 von Jacob Cohen für nominale Skalierungen entwickelt (COHEN, 1960). Bei Forschungsarbeiten wird Cohens Kappa häufig als Maß der Übereinstimmungen der Bewertung zweier kategorialer Stichproben verwendet (KWIECIEN et al., 2011). Bestimmt wird die normierte Differenz zwischen tatsächlichen und den durch Zufall verursachten Urteilsübereinstimmungen (KWIECIEN et al., 2011). Das Prinzip beruht auf der Reproduzierbarkeit zweier Beurteilungen (von Cohen als *Judges* bezeichnet, im Deutschen *Kodierer* oder *Rater*) derselben Messmethode (Interrater-Reliabilität) (COHEN, 1960; HAMMANN et al., 2014a). Die Intrarater-Reliabilität bezieht sich auf denselben Beurteiler, der zu zwei unterschiedlichen Zeitpunkten eine Messmethode vergleicht (HAMMANN et al., 2014a). In beiden Fällen misst der Cohens Kappa-Koeffizient den Grad der Übereinstimmung. Liegt eine komplette Übereinstimmung vor, liegt der Cohens Kappa-Koeffizient bei 1,0 (KWIECIEN et al., 2011). Sollte die Zahl der zufällig möglichen Übereinstimmungen mit der Zahl der beobachteten Ergebnisse übereinstimmen, so liegt k bei 0,0. Ist die Urteilsübereinstimmung noch geringer als durch den Zufall gegeben, so fällt k negativ aus. In diesem Fall bewerten die zwei *Judges* gegenläufig (KWIECIEN et al., 2011). k wird mittels einer Kontingenztafel ermittelt (KWIECIEN et al., 2011).

Tabelle 2: Kontingenztafel für den Cohens Kappa-Koeffizienten

		Rater 1		Anteil
		A	B	
Rater 1	A	a	b	(a+b)/n
	B	c	d	(c+d)/n
Anteil		(a+c)/n	(b+d)/n	n = a+b+c+d

Die Formel für die Berechnung des Cohens Kappa-Koeffizienten lautet:

$$K = (P_0 - P_e) / (1 - P_e)$$

P_0 ist der Anteil der tatsächlichen Übereinstimmungen (an der Gesamtheit der Kodierungen) und P_e der Anteil der zufälligen Übereinstimmungen (HAMMANN et al., 2014a).

Wobei:

$$P_0 = (\sum \text{ der Übereinstimmungen (a+d)}) / \text{Gesamtzahl (n)}$$

Der Wert P_0 wird um den Faktor der zufälligen Übereinstimmungen (P_e) angepasst:

$$P_e = (R1_A \times R2_A) + (R1_B \times R2_B)$$

Wenn *Rater 1* in der Hälfte seiner Bewertungen Kategorie A wählt ($R1_A$) und *Rater 2* gleichermaßen in der Hälfte seiner Bewertungen Kategorie A ($R2_A$) wählt, so verhält sich die Wahrscheinlichkeit der zufälligen Übereinstimmungen beim Wählen der Kategorie $R1_A \times R2_A$, hier 25%. Selbiges trifft bei zufälligen Übereinstimmungen der Kategorie B zu (HAMMANN et al., 2014b).

Anschließend werden die Randsummen wie folgt berechnet:

$$P_e = \left(\frac{(a + b)}{n} \times \frac{(a + c)}{n} \right) + \left(\frac{(b + d)}{n} \times \frac{(c + d)}{n} \right)$$

Tabelle 3: Grad der Übereinstimmung (Cohens Kappa-Koeffizient)

$k < 0,1$	Keine Übereinstimmung
$0,1 < k < 0,4$	Schwache Übereinstimmung
$0,4 < k < 0,6$	Deutliche Übereinstimmung
$0,6 < k < 0,8$	Starke Übereinstimmung
$0,8 < k < 1,0$	(Fast) vollständige Übereinstimmung

6.3. Spearman-Korrelationstest

Der Spearman-Korrelationskoeffizient, oder Rangkorrelationskoeffizient (r_{Sp}) nach Charles Spearman dient der Erfassung der Korrelation von nicht-parametrischen Daten (PREL DU et al., 2010). Bei diesem Test werden die Korrelation zwischen den *Rängen* der Datenpunkte berechnet (ENGELHARDT, 2017). Der Test prüft ob zwei Variablen in monotonem Zusammenhang zueinanderstehen, folglich ihre Assoziationsstärke: Wenn die eine Variable größer wird, sollte die andere dies ebenso tun und umgekehrt. Der Spearman-Korrelationstest misst die nur mindestens ordinal-skalierten Variablen und ist somit unempfindlich gegenüber schießen Verteilungen und „Ausreißern“.
Der Koeffizient kann zwischen -1 und +1 liegen und berechnet sich wie folgt: (n steht für die Anzahl der Variablen)

$$r_{Sp} = \frac{\sum_{i=1}^n (\text{rang}(xi) - \overline{\text{rang}(x)})(\text{rang}(yi) - \overline{\text{rang}(y)})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (\text{rang}(xi) - \overline{\text{rang}(x)})^2} \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^n (\text{rang}(yi) - \overline{\text{rang}(y)})^2}}$$

(ENGELHARDT, 2017)

Der Zusammenhang zwischen den zwei Variablen ist umso stärker, je näher die Werte an 1 liegen (PREL DU et al., 2010). Falls alle Ränge nur einmal auftreten kann die vereinfachte Formel angewandt werden (JANEDU, 2017):

$$r_{Sp} = 1 - (6 \times \sum \text{Quadrierte Rangdifferenzen}) / [n \times (n^2 - 1)]$$

6.4. Intraassay-Variabilität

Um die Streuung der Gesamt-Thyroxin Werte mehrerer Messungen aus einem Serum (mit unterschiedlichen Namen beschriftet) bei einem Labor am einem Tag zu untersuchen, wurde die Intraassay-Variabilität mittels einer kommerziellen Statistiksoftware (Graphpad Prism 6, Graphpad Software, San Diego, USA) berechnet. Die Intraassay-Variabilität gibt innerhalb eines Versuches die Streuung der Messwerte bei multiplen Messdurchläufen wieder. Er lässt sich durch die Kalkulation von Varianz und Mittelwert der Differenzen aller erfassten Messungen bei einem Datenerfasser ermitteln.

6.5. Interassay-Variabilität

Die Streuung der Gesamt-Thyroxinwerte aus einem Serum (mit unterschiedlichen Namen beschriftet) bei einem Labor an unterschiedlichen Tagen wurde durch die Interassay-Variabilität bestimmt. Wie der Intraassay wurde er mittels kommerzieller Statistiksoftware (Graphpad Prism 6, Graphpad Software, San Diego, USA) berechnet.

6.6. Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit ist das Maß der Genauigkeit der Messungen der einzelnen Labore. Bei einem wiederholten Messvorgang bedeutet dies, identische Ergebnisse mit jedem Messversuch herstellen zu können.

IV. ERGEBNISSE

Insgesamt wurden 57 Hunde mit Verdacht auf canine Hypothyreose in die Studie eingeschlossen. 16 Patienten wurden nachträglich exkludiert, da Einzelmessungen fehlten oder die von den anderen Zentren genutzten Labore unterrepräsentiert waren. Somit wurden 41 Patienten in die statistische Auswertung einbezogen.

25 Ergebnisse lagen entweder bei allen Laboren einheitlich innerhalb oder unterhalb des Normalbereichs. Bei zwei Patienten ermittelten zwei Labore einen zu niedrigen und ein Labor einen Wert im Referenzbereich. 13 Proben resultierten mit einem zu niedrigen Wert bei einem Labor während die Ergebnisse der anderen Laboratorien im Referenzbereich lagen (Tabelle 4). Je 16 der inkludierten Seren wurden zur Anonymisierung mit drei unterschiedlichen Namen verblindet (am gleichen und Folgetag) an eines der Labore 1 und 3 geschickt. Zu Labor 2 wurden 15 Proben dreifach (und verblindet) versandt (Tabelle 5).

Tabelle 4: Thyroxinproben von 41 Hunden, bei denen jeweils eine Probe an drei verschiedene Laboratorien geschickt wurden (Referenzwerte für Labor 1: 1,5 – 4,5 µg/dl, für Labor 2: 1,3 - 4,5 µg/dl, Labor 3: 1.0 – 4.0 µg/dl))

Labor 1 1,5 – 4,5 µg/dl	Labor 2 1,3 - 4,5 µg/dl	Labor 3 1.0 – 4.0 µg/dl
4,3	4,0	3,1
1,4	1,5	1,4
1,7	2,4	2,3
2,2	2,9	3,2
1,8	3,2	1,8
1,1	1,3	1,4
1,3	1,5	1,0
3,7	4,6	3,3
0,7	0,6	0,6
1,1	1,0	0,9
1,1	1,4	1,1
1,2	1,8	1,2
0,7	0,2	0,3
1,4	1,3	0,7
1,1	1,3	1,0
4,5	5,9	4,9
1,5	2,0	1,6
1,3	1,8	1,3
1,2	1,4	1,1
2,1	3,1	2,3
1,9	2,4	1,4
0,9	1,5	1,2
1,3	2,0	2,0

3,7	4,9	5,4
1,0	1,2	2,2
1,6	1,7	2,6
2,6	2,9	3,2
1,8	2,0	2,4
0,9	0,8	0,9
1,4	2,2	2,1
1,4	1,0	1,0
1,4	2,2	1,7
1,8	1,8	1,6
1,4	1,7	1,9
1,8	2,1	2,0
5,9	6,6	7,6
4,6	5,2	6,7
6,5	8,5	8,9
2,1	2,6	2,4
1,7	2,4	2,1
2,5	3,0	2,7

Tabelle 5: Thyroxinwerte einer identischen Probe bei drei verschiedenen kommerziellen Laboren in µg/dl.

Labor 1			Labor 2			Labor 3		
Probe 1 Tag 1	Probe 2 Tag 1	Probe 3 Tag 2	Probe 1 Tag 1	Probe 2 Tag 1	Probe 3 Tag 2	Probe 1 Tag 1	Probe 2 Tag 1	Probe 3 Tag 2
4,3	3,0	3,1	2,4	2,2	2,4	3,2	2,6	1,9
1,4	1,6	1,6	1,8	1,9	1,9	1,0	1,1	1,0
1,1	2,3	1,9	0,2	0,2	0,3	1,1	1,1	0,8
1,8	1,0	1,9	1,3	1,4	1,4	2,3	2,4	0,6
1,3	1,2	3,5	5,9	5,9	6,0	1,4	2,0	1,9
3,7	3,5	1,2	2,0	1,8	2,1	1,2	0,9	1,6
0,7	1,2	0,7	1,8	1,7	1,7	2,0	1,7	1,6
1,1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	5,4	4,8	4,5
1,4	1,7	1,5	0,8	0,8	0,8	2,2	2,2	2,2
1,4	1,6	1,4	3,2	3,3	3,4	2,6	1,9	1,7
5,9	6,0	5,9	4,0	3,9	3,8	3,2	3,1	2,8
4,6	5,1	4,6	1,8	1,5	1,6	2,4	2,4	2,4
6,5	6,6	6,5	1,6	1,3	1,6	0,9	0,8	1,0
2,1	2,1	1,9	2,4	2,1	2,1	1,6	1,9	1,8
1,7	1,6	1,6	0,9	1,0	0,9	1,9	1,2	1,1
2,5	2,6	2,4				2,0	2,00	2,9

1. Der Bland Altman-Plot

Um bei Bland Altman von einer guten Übereinstimmung der einzelnen Messverfahren sprechen zu können, müssen 95% der Werte innerhalb des Areals der *limits of agreement* liegen (siehe oben). In unserer Studie lagen mehr als 5% der Werte deutlich außerhalb dieses Bereiches (Abbildungen 2-4). Der Bland Altman Plot ergab für Labor 1 und Labor 2: Bias $-0,4454 \pm 0,506$, für Labor 1 und Labor 3: Bias $0,3085 \pm 0,7274$, und für Labor 2 und Labor 3: Bias $-0,1368 \pm 0,6039$. Der Bland Altman Plot von Labor 1 und Labor 2 zeigt ein Areal von 2 Standardabweichungen von 0,655 bis 1,545, wobei nur ein Ausreißer auftrat, welcher circa 2 μg Unterschied zum Mittelwert der Abweichungen entfernt liegt. Bei Labor 1 und Labor 3 liegt das Areal zwischen 1,77 und 1,15 mit drei Ausreißern (1,15; 2,00 und 2,20 μg vom Mittelwert der Abweichungen). Der Bland Altman Plot von Labor 2 und Labor 3 weist ein *limits of agreement*-Areal zwischen 1,08 und 1,35 μg auf mit 2 Ausreißer-Werten (1,40 und 1,37 μg von den Mittelwerten der Abweichungen).

In einem weiteren Diagramm (Abbildung 5) wurden diese Werte nochmals graphisch kompakt dargestellt. Der größte Ausreißer der Messungen bei Labor 1 lagen für die Intraassay-Variabilität bei 1,3 $\mu\text{g}/\text{dl}$ und für die Interassay-Variabilität bei 2,5 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Bei Labor 2 bestand eine sehr niedrige Streuung mit keinen augenscheinlichen Ausreißern. Untersuchungen bei Labor 3 ergaben die größte Abweichung für die Intraassay-Variabilität bei 0,8 $\mu\text{g}/\text{dl}$ und 1,9 $\mu\text{g}/\text{dl}$ für die Interassay-Variabilität.

Abbildung 2: Bland-Altman Plot zur Beurteilung der Übereinstimmung der Messmethoden von Labor 1 und 2

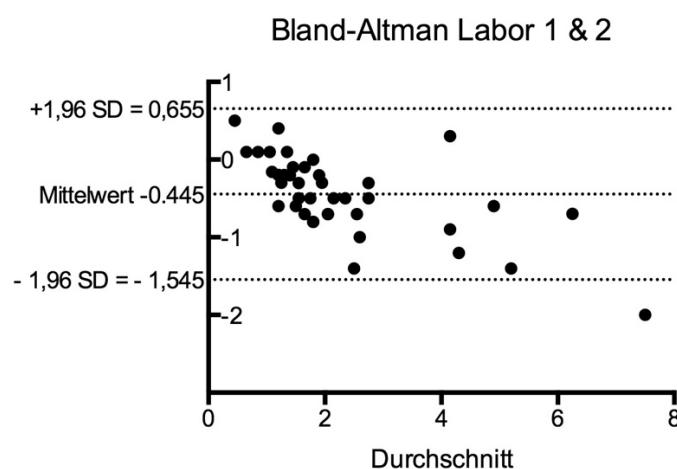


Abbildung 3: Bland-Altman Plot zur Beurteilung der Übereinstimmung der Messmethoden von Labor 1 und 3
Bland-Altman Labor 1 & 3

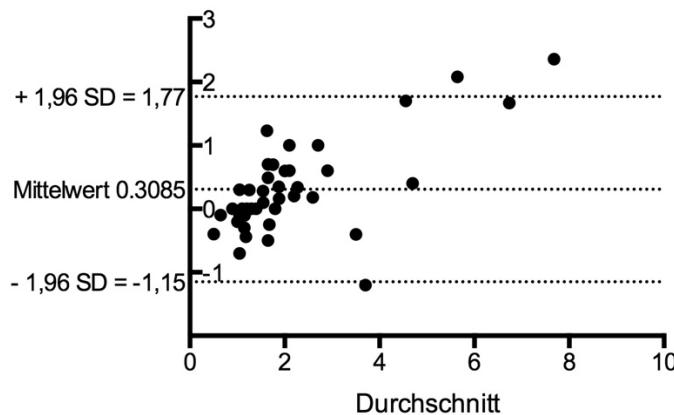


Abbildung 4: Bland-Altman Plot zur Beurteilung der Übereinstimmung der Messmethoden von Labor 2 und 3
Bland-Altman Labor 2 & 3

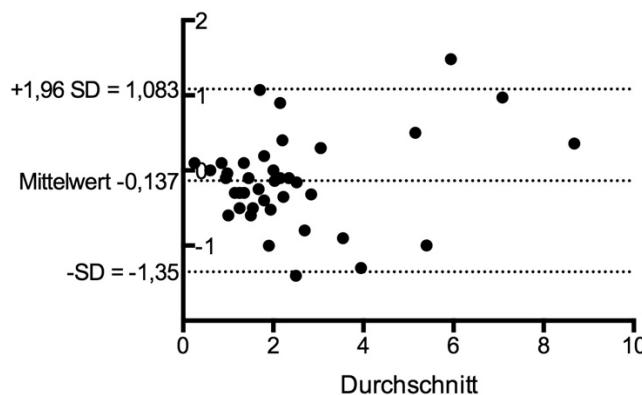
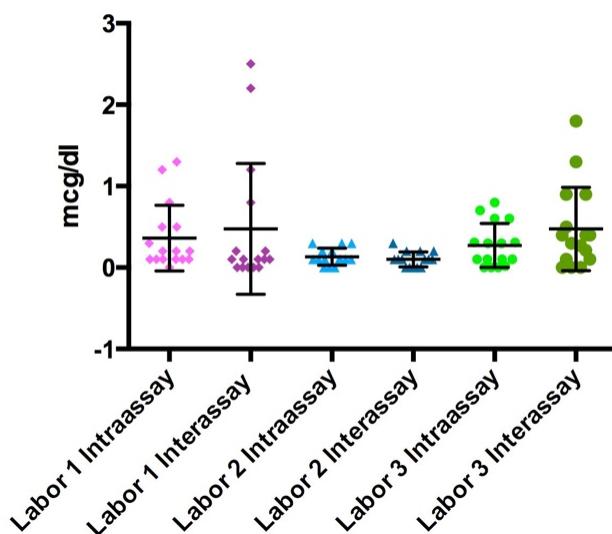


Abbildung 5: Intra- und Interassay-Variabilitäts-Unterschiede der Thyroxinmessung bei drei verschiedenen Laboren
Intra- und Interassay



2. Der Cohens Kappa-Wert

Der Cohens Kappa-Wert betrug für die Intra- und Interassay-Übereinstimmung 0,33 (schwache Übereinstimmung) bei Labor 1, 1,0 bei Labor 2 (vollständige Übereinstimmung), und 0,37 (Intra-) respektive 0,19 (Interassay-Übereinstimmung) bei Labor 3 (schwache Übereinstimmung) (Tabelle 6). Die Übereinstimmung zwischen den Laboren 1 und 2, sowie den Laboren 1 und 3 war gering ($\kappa=0,30$ und $0,25$ respektive), wohingegen zwischen den Laboren 2 und 3 eine sehr hohe Übereinstimmung bestand ($\kappa=0,68$).

Tabelle 6: Referenzbereiche des Übereinstimmungsgrades (Cohens Kappa-Wert)

$k < 0,1$	Keine Übereinstimmung
$0,1 < k < 0,4$	Schwache Übereinstimmung
$0,4 < k < 0,6$	Deutliche Übereinstimmung
$0,6 < k < 0,8$	Starke Übereinstimmung
$0,8 < k < 1,0$	(fast) vollständige Übereinstimmung

3. Spearman-Korrelationstest

Die Korrelation zwischen den Laboratorien ist mit einem Korrelationskoeffizient von $r=0,92$ für die Labore 1 und 2, $r=0,858$ für die Labore 1 und 3 und $r=0,879$ für die Labore 2 und 3 als gut zu beurteilen (jeweils $p<0,0001$).

4. Intra- und Interassay-Variabilität

Die Intraassay-Variabilität der Labore 1, 2 und 3 betrug 13,6%, 5% und 10,4%, während die Interassay-Variabilität bei 17,2%, 5,1% und 17,4% lag (Tabelle 7). Tabelle 5 und 6 zeigen die Intra- und Interassay-Variabilität in Bezug auf die Referenzbereiche. Bei der Intraassay-Variabilität wurden bei Labor 1 fünf Werte einmal im hypothyreoten und einmal im euthyreoten Bereich gemessen. Bei Labor 2 wurden keine Werte in beiden Bereichen festgestellt. Labor 3 lieferte einen Wert einmal im hypothyreoten und einmal im euthyreoten Bereich. Für die Interassay-Variabilität lagen bei Labor 1 fünf Werte einmal im hypothyreoten und einmal im euthyreoten Bereich. Bei Labor 2 wurde kein Wert in beiden Bereichen festgestellt. Bei Labor 3 lagen drei Werte einmal im hypothyreoten sowie einmal im euthyreoten Bereich.

Tabelle 7: Inter- und Intra-Assay-Variabilität der Thyroxinmessung bei drei Laboren

	Labor 1	Labor 2	Labor 3
Durchschnittliche Intra-Assay Abweichung \pm Standardabweichung der Unterschiede	0.36 ± 0.4	0.13 ± 0.1	0.27 ± 0.27
Durchschnittliche Inter-Assay Abweichung \pm Standardabweichung der Unterschiede	0.48 ± 0.8	0.1 ± 0.09	0.47 ± 0.51

5. Reproduzierbarkeit und Variabilität

Insgesamt ist die Reproduzierbarkeit der TT4-Werte der Labore untereinander als gut zu bewerten, wohingegen die Variabilität bei einigen Proben in den Laboren 1 und 3 ausgeprägt war.

V. DISKUSSION

1. Patientenauswahl

Die Patienten entstammten dem Patientengut der Medizinischen Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München sowie weiteren Tierarztpraxen in Deutschland. Die Auswahl der Praxen und somit ihre geographische Lage erfolgten zufällig. Auch die Anzahl der Patienten, die die einzelnen Tierarztpraxen einsandten, wurde nicht standardisiert. Labor 1, 2 und 3 betreiben verschiedene Laboratorien innerhalb Deutschlands, diese wurden allerdings unter den Sammelbegriffen Labor 1, 2 und 3 zusammengefasst, diese Vorgehensweise vernachlässigt die Unterschiede der einzelnen Standorte der Labore. Eine größere, bundesweit nach Bundesländern aufgeschlüsselte Studie mit mehr Laboratorien würde über die regionalen Unterschiede der einzelnen Laboratorien differenzierte Schlussfolgerungen zulassen, war aber aus finanziellen Gründen nicht möglich.

Die Stärke des klinischen Verdachts auf canine Hypothyreose wurde nicht unterschiedlich bewertet. Ob es sich bei der eingesandten Probe um eine Post-Pill Kontrolle oder einen Erstverdacht handelte, wurde bewusst nicht in die Auswertung einbezogen, da es nicht Ziel dieser Studie, war die Laboruntersuchung auf Übereinstimmung mit der klinischen Diagnose zu bewerten.

Von den 57 in die Studie aufgenommenen Patienten konnten 41 Serumproben in die statistische Auswertung inkludiert werden. Weitere größer angelegte Studien mit höheren Patientenzahlen sollten zur Überprüfung dieser Ergebnisse durchgeführt werden.

2. Alter, Rassefaktoren und Geschlecht

Da kein Mindestalter für die Patienten in den Einschlusskriterien festgelegt wurde, besteht in dieser Studie eine hohe Altersvarianz. Da die canine Hypothyreose in jedem Alter auftreten kann, wurde dies nicht als kritisch bewertet, auch wenn die meisten Hypothyreose-Patienten älter als drei Jahre sind. Folglich war auch der Großteil der in diese Studie inkludierten Patienten über einem Alter von 3 Jahren. Außerdem war das Ziel der Studie nicht, den diagnostischen Wert des Tests zu bestimmen.

In diese Studie wurden aufgrund des physiologisch niedrigen TT4-Wertes keine Windhunde oder Huskies inkludiert.

3. Transport der Proben

Der Versand der Serumproben erfolgte entweder direkt am Tag der Blutentnahme oder bei Probenentnahme an einem Freitag, Wochenende oder Feiertag wurde die Serumprobe am nächstfolgenden Werktag versandt. Dieses Procedere sollte den klassischen Klinikalltag und Probenversand einer Tierarztpraxis widerspiegeln.

Labor 1 betreibt einen eigenen Kurierdienst für die tägliche Abholung der Laborproben von der Medizinischen Kleintierklinik und anderen Praxen, wohingegen der Versand an die Labore 2 und 3 mittels der deutschen Post erfolgte (ebenfalls analog zum gängigen Procedere in der Kleintierpraxis). Somit ergab sich eine unterschiedlich lange Transportdauer und Lagerung der einzelnen Proben. Behrend et al. 1998 stellten fest, dass ungekühltes in Plastikbehältnissen gelagertes Serum bis zu fünf Tage lang ohne deutliche Verschiebung der Laborwerte evaluiert werden kann (BEHREND et al., 1998). Reimers et al. berichteten, dass selbst kurze Phasen von 20-22 °C keinen Effekt auf Serumkonzentrationen von Thyroxin haben (REIMERS et al., 1991).

Die höchsten Intra- und Interassay-Variabilitäten und somit größten Abweichungen bei den einzelnen Laboratorien traten bei Labor 1 auf, welches die Proben mittels eigenem Kurier abholt (was die Lagerungs- und Transportzeit verkürzt). Somit erscheinen unterschiedliche Transportwege sowie Lagerungszeiten als beeinflussender Faktor der Ergebnisse als unwahrscheinlich.

4. Laborauswahl

Bei den drei für diese Studie herangezogenen Laboratorien handelt es sich um die drei größten und häufigsten innerhalb Deutschlands genutzten tiermedizinisch-operierenden Labore. In einer Vorauswahl wurden die für diese Studie verwendeten Laboratorien hinsichtlich ihrer Frequentierung ausgewählt. Die 16 nachträglich exkludierten Patientenserien wurden zu Laboratorien versandt, deren Frequentierung für eine statistische Auswertung nicht ausreichend war. Die Seren wurden gleichermaßen auf die Labore 1 bis 3 aufgeteilt. Die Labore 1 und 3 wurden mit jeweils 16 Proben beliefert, Labor 2 erhielt 15 Proben.

5. Messmethoden

Labor 1 wies die höchsten Abweichungen und größte Intra- und Interassay-Variabilität auf. Dieses Labor verwendete einen EIA (Microgencis Assay) zur Auswertung des TT4-Wertes. Das verwendete Gerät war der 3 AU5800 von Beckman Coulter. Dieses Labor machte keine Angaben über die Spezifität und Sensitivität ihres Assays. Die Labore 2 und 3 verwendeten jeweils einen CLIA (unter Verwendung des Immulite 2000 von Siemens) und gaben eine Sensitivität von 89-100% und eine Spezifität von 75-82% für diesen Test an.

Der Unterschied in der Variabilität der Ergebnisse können des Weiteren auch durch messtechnische Schwankungen zustande kommen. Innerhalb eines Assays lagen die Werte im selben Labor einmalig gleichzeitig im Referenzbereich und bei der Evaluierung am darauffolgenden Tag unterhalb des Referenzbereiches. Im Vergleich mit Labor 1 und 3 waren die Ergebnisse von Labor 2 hierbei am besten. Diese Ergebnisse könnten auf einer öfter durchgeföhrten, internen Validierung der Messmethodik bei Labor 2 beruhen. Außerdem könnten präzisere, moderne Messmethoden und Maschinen zu einer höheren Reproduzierbarkeit der Laborwerte führen.

6. Mögliche Fehlerquellen

Der TT4-Wert kann durch diverse Faktoren beeinflusst werden, was im schlimmsten Falle zu einer Fehldiagnose der caninen Hypothyreose führen kann (PARADIS M, 1996; RAMSEY et al., 1997; PANCIERA, 1999; FERGUSON, 2007). Beispielweise können adipöse Hunde einen erhöhten Gesamt-Thyroxinwert vorweisen (FERGUSON, 2007). Hunde die unter nicht-thyroidalen Erkrankungen wie zum Beispiel Nephropathien, Hyperadrenokortizismus, Leberfunktionsstörungen, Enteropathien, Dehydratation oder einer Umverteilung von Proteinen in den Extravasalraum (z.B. bei Vaskulitiden) leiden, können Gesamt-Thyroxinwerte unterhalb des Normalbereiches aufweisen (PANCIERA, 1999; FERGUSON, 2007). Zahllose Medikamente können ebenfalls zu einem erniedrigten Gesamt-Thyroxinwert führen: Hierzu gehören Sulfonamide, Clomipramin, Ketoprofen und Glukokortikoide (KEMPPAINEN, 2001; FERGUSON, 2007; MOONEY, 2011). Arbeits- und Sporthunde, sowie bestimmte Rassen (Greyhounds, Huskies) weisen häufig physiologisch Gesamt-Thyroxinwerte unterhalb des Referenzbereiches auf (PANCIERA, 1999).

Ferguson et al. 2007 sprechen im Gegenzug dazu von circa 15 % der hypothyreoten Patienten, welche keine erniedrigten Gesamt-Thyroxinwerte aufweisen (FERGUSON, 2007). Kemppainen et al. 2001 berichteten vergleichend von 95 % der hypothyreoten Patienten mit erniedrigte Gesamt-Thyroxinwerten, jedoch betont auch dieser Autor, dass dieser Wert nicht aussagekräftig genug ist, um die Diagnose der Hypothyreose zu sichern (KEMPPAINEN, 2001). Die Kombination aus einem hohen TSH-Wert und gleichzeitig niedrigem Gesamt-Thyroxinwertes hingegen sind als ein guter Indikator für das Vorliegen einer caninen Hypothyreose zu erachten (DIXON und MOONEY, 1999). Bei einem niedrigen Gesamt-Thyroxinwert und gleichzeitig physiologischen TSH-Wert sollte das potentielle Vorliegen einer anderen, nicht-thyroidalen Erkrankung (wie zum Beispiel beim ESS in Betracht gezogen werden (REESE et al., 2005). Eine kompensatorische Phase der progressiven Thyreoiditis, sowie eine Rekonvaleszenzphase nach einer nicht-thyroidalen Erkrankung kann sich durch einen erhöhten TSH-Wert in Kombination mit einem physiologischen T4-Wert äußern (2001), wobei Thyreoglobulin-Antikörper zur Differenzierung dieser Zustände von Nutzen sein können. Eine Erhöhung des Thyreoglobulin-Antikörperwertes kann ein Anzeichen für eine Thyreoiditis (unabhängig von TSH- und T4-Wert) sein. Allerdings lässt sich anhand dieses einen Wertes über das Voranschreiten der Erkrankung und den Gewebefunktionsverlust nur wenig sagen (DIXON und MOONEY, 1999; FERGUSON, 2007). Aufgrund dieser physiologischen Zusammenhänge erscheint eine Kombination aus TSH-Wert, Gesamt-Thyroxinwert und der klinischen Präsentation des Patienten sinnvoll (PANCIERA, 1999).

Den Goldstandard der caninen Hypothyreosediagnostik stellt aktuell der TSH-Stimulationstest dar, bei dem 0.1 I.E./kg rekombinantes, humanes TSH intravenös verabreicht werden (PARADIS M, 1996; RAMSEY et al., 1997; PANCIERA, 1999). Wie oben beschrieben werden hierfür vor der Injektion und sechs Stunden hinterher die Gesamt Thyroxinkonzentrationen festgestellt. Allerdings wird auch dieser Test als Goldstandard mittlerweile in Frage gestellt (FERGUSON, 2007).

Liegen untypische Anzeichen einer Hypothyreose wie zum Beispiel Neuropathien, Megaösophagitiden oder eine die Hypothyreosediagnostik-verfälschende Medikamentenhistorie oder nicht-thyroidale Krankheiten vor, kann die Equilibrium-Dialyse des fT4-Wertes zur Differenzierung einer Hypothyreose von Nutzen sein. Nach Erhalt der Therapie und Heilung der nicht-thyroidalen Erkrankung und Absetzen der Medikamente, welche den Gesamt-Thyroxinwert

beeinflussen könnten sollte eine Reevaluierung des Patienten auf die Wahrscheinlichkeit einer Hypothyreose erfolgen (PANCIERA, 1999).

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Diese prospektive, verblindete, multizentrische Studie untersuchte für den Gesamt-Thyroxinwert im Serum von Hunden die Intra- und Inter-Assay-Variabilität bei drei kommerziellen, deutschen, veterinärmedizinischen Laboren. Insgesamt war die Korrelation der Gesamt-Thyroxinwerte bei den drei Laboratorien als sehr gut einzustufen. Die Werte lagen bei über zwei Dritteln der Patienten bei allen drei Laboratorien entweder einheitlich unter- oder innerhalb des Normalbereichs. Der Cohen's-Kappa-Koeffizient von Labor 2 zeigte eine perfekte Übereinstimmung und daher eine vollständige Korrelation der Intra- und Interassay-Reliabilität. Labor 1 und 3 zeigten bei der Evaluation der Übereinstimmung schlechtere Resultate. Hier ergaben sich bei einigen Proben Werte, welche bei Labor 1 und 3 bei einem der durchgeführten Assays bei einem Labor im Referenzbereich und gleichzeitig am selben Tag oder im selben Assay unterhalb des Referenzbereichs lagen, was zu einer schlechteren Übereinstimmung führte. Schlussfolgernd ließen sich Unterschiede in der Intra- und Interassay-Variabilität bei den drei Laboratorien feststellen. Die Diagnosestellung der caninen Hypothyreose sollte stets aufgrund der zutreffenden klinischen Symptomatik, Laborergebnissen und im Zweifelsfall die Besserung auf Levothyroxin beruhen.

VII. SUMMARY

This prospective, blinded, multicenter study evaluated the intra- and interassay variability of total thyroxin measurements at three German commercial veterinary laboratories. In conclusion, the correlation of thyroxin values was rated as very good. The data revealed that over two thirds of all patients' results were either uniformly within or beneath the reference area. The Cohen's Kappa Value of laboratory 2 showed a perfect accordance and complete correlation of the intra- and interassay reliability, whereas laboratory 1 and 3 showed less accuracy regarding that point. Several samples evaluated by these laboratories showed results from within the reference value and at the same day below the reference area. This led to the conclusion of a lesser reliability for these laboratories. In summary, the results of intra- and interassay variability of the three laboratories differed. To validate the diagnosis of canine hypothyroidism, matching clinical symptoms should be combined with measurements of laboratory values and in case of doubt amelioration after levothyroxine supplementation.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Ahlgren J, Uimari P. Heritability of hypothyroidism in the Finnish Hovawart population. *Acta Vet Scand* 2016; 58: 39-44.

Beale KM, Halliwell RE, Chen CL. Prevalence of antithyroglobulin antibodies detected by enzyme-linked immunosorbent assay of canine serum. *J Am Vet Med Assoc* 1990; 196: 745-8.

Beaver BV, Haug LI. Canine behaviors associated with hypothyroidism. *J Am Anim Hosp Assoc* 2003; 39: 431-4.

Beghi E, Delodovici ML, Bogliun G, Crespi V, Paleari F, Gamba P, Capra M, Zarrelli M. Hypothyroidism and polyneuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1989; 52: 1420-3.

Behrend EN, Kemppainen RJ, Young DW. Effect of storage conditions on cortisol, total thyroxine, and free thyroxine concentrations in serum and plasma of dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 212: 1564-8.

Bianchi M, Dahlgren S, Massey J, Dietschi E, Kierczak M, Lund-Ziener M, Sundberg K, Thoresen SI, Kampe O, Andersson G, Ollier WE, Hedhammar A, Leeb T, Lindblad-Toh K, Kennedy LJ, Lingaas F, Rosengren Pielberg G. A Multi-Breed Genome-Wide Association Analysis for Canine Hypothyroidism Identifies a Shared Major Risk Locus on CFA12. *PLoS One* 2015; 10: 1-16.

Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1: 307-10.

Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res* 1999; 8: 135-60.

Boretti FS, Breyer-Haube I, Kaspers B, Reusch CE. Clinical, hematological, biochemical and endocrinological aspects of 32 dogs with hypothyroidism. Schweiz Arch Tierheilkd 2003; 145: 149-56, 58-59.

Boretti FS, Reusch CE. Endogenous TSH in the diagnosis of hypothyroidism in dogs. Schweiz Arch Tierheilkd 2004; 146: 183-8.

Boretti FS, Sieber-Ruckstuhl NS, Willi B, Lutz H, Hofmann-Lehmann R, Reusch CE. Comparison of the biological activity of recombinant human thyroid-stimulating hormone with bovine thyroid-stimulating hormone and evaluation of recombinant human thyroid-stimulating hormone in healthy dogs of different breeds. Am J Vet Res 2006; 67: 1169-72.

Bromel C, Pollard RE, Kass PH, Samii VF, Davidson AP, Nelson RW. Ultrasonographic evaluation of the thyroid gland in healthy, hypothyroid, and euthyroid Golden Retrievers with nonthyroidal illness. J Vet Intern Med 2005; 19: 499-506.

Brooks M, Dodds WJ, Raymond SL. Epidemiologic features of von Willebrand's disease in Doberman pinschers, Scottish terriers, and Shetland sheepdogs: 260 cases (1984-1988). J Am Vet Med Assoc 1992; 200: 1123-7.

Bruner JM, Scott-Moncrieff JC, Williams DA. Effect of time of sample collection on serum thyroid-stimulating hormone concentrations in euthyroid and hypothyroid dogs. J Am Vet Med Assoc 1998; 212: 1572-5.

Calvert CA, Jacobs GJ, Medleau L, Pickus CW, Brown J, McDermott M. Thyroid-stimulating hormone stimulation tests in cardiomyopathic Doberman pinschers: a retrospective study. J Vet Intern Med 1998; 12: 343-8.

Chute JP, Ryan CP, Sladek G, Shakir KM. Exacerbation of warfarin-induced anticoagulation by hyperthyroidism. Endocr Pract 1997; 3: 77-9.

CliniPharm C, Tierarzneimittel Kompendium der Schweiz Forthyron® 400 ad us. vet., Tabletten. Winterthurerstrasse 260, 8057 Zürich, Schweiz Institut für Veterinärpharmakologie- und toxikologie 2008:

Co.KG LfkDG. Hypothyreose des Hundes? Aktuelle Tipps zur Testbewertung. Co.KG LG, ed. Steubenstraße 4 • 97688 Bad Kissingen: Labor für klinische Diagnostik GmbH & Co.KG 2001: http://www.laboklin.de/pdf/de/news/laboklin_aktuell/lab_akt_0104.pdf. 4.

Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and psychological measurement* 1960; 20: 37-47.

Conaway DH, Padgett GA, Bunton TE, Nachreiner R, Hauptman J. Clinical and histological features of primary progressive, familial thyroiditis in a colony of borzoi dogs. *Vet Pathol* 1985; 22: 439-46.

Credille KM, Slater MR, Moriello KA, Nachreiner RF, Tucker KA, Dunstan RW. The effects of thyroid hormones on the skin of beagle dogs. *J Vet Intern Med* 2001; 15: 539-46.

Daminet S, Ferguson DC. Influence of drugs on thyroid function in dogs. *J Vet Intern Med* 2003; 17: 463-72.

Diaz Espineira MM, Mol JA, Peeters ME, Pollak YW, Iversen L, van Dijk JE, Rijnberk A, Kooistra HS. Assessment of thyroid function in dogs with low plasma thyroxine concentration. *J Vet Intern Med* 2007; 21: 25-32.

Diaz-Espineira MM, Galac S, Mol JA, Rijnberk A, Kooistra HS. Thyrotropin-releasing hormone-induced growth hormone secretion in dogs with primary hypothyroidism. *Domest Anim Endocrinol* 2008; 34: 176-81.

Dixon RM, Mooney CT. Evaluation of serum free thyroxine and thyrotropin concentrations in the diagnosis of canine hypothyroidism. *J Small Anim Pract* 1999; 40: 72-8.

Dixon RM, Reid SW, Mooney CT. Epidemiological, clinical, haematological and biochemical characteristics of canine hypothyroidism. *Vet Rec* 1999; 145: 481-7.

Dixon RM, Reid SW, Mooney CT. Treatment and therapeutic monitoring of canine hypothyroidism. *J Small Anim Pract* 2002; 43: 334-40.

Dodeigne C, Thunus L, Lejeune R. Chemiluminescence as diagnostic tool. A review. *Talanta* 2000; 51: 415-39.

Dudley RF. Chemiluminescence Immunoassay: An Alternative to RIA. *Laboratory Medicine* 1990; 21: 216-22.

Engelhardt A. Spearman-Korrelation / Rangkorrelation. WordPress - Crashkurs Statistik 2017: <http://www.crashkurs-statistik.de/spearman-korrelation-rangkorrelation/>.

Engelhardt W, Breves G, Diener M, Gäbel G (2015) *Physiologie der Haustiere*. Enke, Stuttgart

Fatjo J, Stub C, Manteca X. Four cases of aggression and hypothyroidism in dogs. *Vet Rec* 2002; 151: 547-8.

Fatjo J, Amat M, Manteca X. Animal behavior case of the month. Aggression in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2003; 223: 623-6.

Ferguson DC. Thyroid function tests in the dog. Recent concepts. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1984; 14: 783-808.

Ferguson DC. Testing for hypothyroidism in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2007; 37: 647-69.

Ford SL, Nelson RW, Feldman EC, Niwa D. Insulin resistance in three dogs with hypothyroidism and diabetes mellitus. *J Am Vet Med Assoc* 1993; 202: 1478-80.

Franchini M. Hemostasis and thyroid diseases revisited. *J Endocrinol Invest* 2004; 27: 886-92.

Friemel H. Immunelektrophorese. In: *Immunologische Arbeitsmethoden*: Gustav Fischer Verlag 1991: 98-187.

Fyfe JC, Kampschmidt K, Dang V, Poteet BA, He Q, Lowrie C, Graham PA, Fetro VM. Congenital hypothyroidism with goiter in toy fox terriers. *J Vet Intern Med* 2003; 17: 50-7.

Gookin JL, Trepanier LA, Bunch SE. Clinical hypothyroidism associated with trimethoprim-sulfadiazine administration in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 214: 1028-31, 1.

Gosselin SJ, Capen CC, Martin SL. Histologic and ultrastructural evaluation of thyroid lesions associated with hypothyroidism in dogs. *Vet Pathol* 1981; 18: 299-309.

Graham PA, Nachreiner RF, Refsal KR, Provencher-Bolliger AL. Lymphocytic thyroiditis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2001; 31: 915-33.

Graham PA, Refsal KR, Nachreiner RF. Etiopathologic findings of canine hypothyroidism. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2007; 37: 617-31.

Greco DS. Endocrine emergencies. II. Adrenal, thyroid, and parathyroid disorders *Compend Contin Educ* 1997; 19: 1-8.

Grünbaum EG, Alef M. Klinik der Hundekrankheiten: Enke 2006: 1005-15.

Gunaratnam P. The effects of thyroxine on hair growth in the dog. J Small Anim Pract 1986; 27: 17-29.

Hammann M, Jördens J, H. S (2014a) Übereinstimmung zwischen Beurteilern: Cohens Kappa (κ). In: Methoden in der naturwissenschaftsdidaktischen Forschung. Springer. 439-48

Hammann M, Jördens J, Schecker H (2014b) Übereinstimmung zwischen Beurteilern: Cohens Kappa (κ). In: Methoden in der naturwissenschaftsdidaktischen Forschung. 439-48

Hansen SR, Timmons SP, Dorman DC. Acute overdose of levothyroxine in a dog. J Am Vet Med Assoc 1992; 200: 1512-4.

Heinrich PC, Müller M, Graeve L (2014a) Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie Springer. 1073

Heinrich PC, Müller M, Graeve L. Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie: Springer 2014b: 512.

Henik RA, Dixon RM. Intravenous administration of levothyroxine for treatment of suspected myxedema coma complicated by severe hypothermia in a dog. J Am Vet Med Assoc 2000; 216: 713-7, 685.

Horney BS, MacKenzie AL, Burton SA, Olexson DW, Mitton KL, Coty WA, Rinne SG. Evaluation of an automated, homogeneous enzyme immunoassay for serum thyroxine measurement in dog and cat serum. Vet Clin Pathol 1999; 28: 20-8.

Indrieri RJ, Whalen LR, Cardinet GH, Holliday TA. Neuromuscular abnormalities associated with hypothyroidism and lymphocytic thyroiditis in three dogs. J Am Vet Med Assoc 1987; 190: 544-8.

Janedu U. Spearman-Korrelation. Welt der BWL - Betriebswirtschaft in der Praxis 2017: <http://www.welt-der-bwl.de/Spearman-Korrelation>.

Johnson C, Olivier NB, Nachreiner R, Mullaney T. Effect of ¹³¹I-induced hypothyroidism on indices of reproductive function in adult male dogs. *J Vet Intern Med* 1999; 13: 104-10.

Johnson CA. Thyroid issues in reproduction. *Clin Tech Small Anim Pract* 2002; 17: 129-32.

Kantrowitz LB, Peterson ME, Melian C, Nichols R. Serum total thyroxine, total triiodothyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations in dogs with nonthyroidal disease. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 219: 765-9.

Kemppainen RJ. Diagnosis of Canine Hypothyroidism. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2001; 31: 951-62.

Kennedy LJ, Quarmby S, Happ GM, Barnes A, Ramsey IK, Dixon RM, Catchpole B, Rusbridge C, Graham PA, Hillbertz NS, Roethel C, Dodds WJ, Carmichael NG, Ollier WE. Association of canine hypothyroidism with a common major histocompatibility complex DLA class II allele. *Tissue Antigens* 2006; 68: 82-6.

Klinke R, Pape HC, Kurtz A, Silbernagl S. Die Hormone der Schilddrüse: T3 und T4. In: *Physiologie*: Thieme 2009: 549-53.

Knight AW. A review of recent trends in analytical applications of electrogenerated chemiluminescence. *Trends Anal Chem* 1999; 18: 47-62.

König HE, Liebich H (2014) Anatomie der Haussäugetiere. Schattauer, Stuttgart. 804

Kowalewski K, Kolodej A. Electrical and mechanical activity of isolated canine stomach perfused with fluorocarbon emulsion. *Surg Gynecol Obstet* 1977; 145: 347-52.

Kwiecien R, Kopp-Schneider A, Blettner M (2011) Konkordanzanalyse. Deutsches Ärzteblatt. 515 - 21

Lee WY. Tris (2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) electrogenerated chemiluminescence in analytical science. *Microchimica Acta* 1997; 127: 19-39.

Liebich H (2009) Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel, Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis. Schattauer

Lurye JC, Behrend EN, Kemppainen RJ. Evaluation of an in-house enzyme-linked immunosorbent assay for quantitative measurement of serum total thyroxine concentration in dogs and cats. *J Am Vet Med Assoc* 2002; 221: 243-9.

Meeking SA. Thyroid disorders in the geriatric patient. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2005; 35: 635-53.

Miller AB, Nelson RW, Scott-Moncrieff JC, Neal L, Bottoms GD. Serial thyroid hormone concentrations in healthy euthyroid dogs, dogs with hypothyroidism, and euthyroid dogs with atopic dermatitis. *Br Vet J* 1992; 148: 451-8.

Miller WH, Griffin CE, L. CK. Muller and Kirk's Small Animal Dermatology 7ednSt. Louis, Missouri Elsevier Mosby 2013: 501-13.

Miller WH, Jr., Buerger RG. Cutaneous mucinous vesiculation in a dog with hypothyroidism. *J Am Vet Med Assoc* 1990; 196: 757-9.

Mooney CT. Canine hypothyroidism: a review of aetiology and diagnosis. *N Z Vet J* 2011; 59: 105-14.

Moritz A, Kraft W, Dürr UM (2013) Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. Schattauer

Nachreiner RF, Refsal KR. Radioimmunoassay monitoring of thyroid hormone concentrations in dogs on thyroid replacement therapy: 2,674 cases (1985-1987). J Am Vet Med Assoc 1992; 201: 623-9.

Nachreiner RF, Refsal KR, Ravis WR, Hauptman J, Rosser EJ, Pedersoli WM. Pharmacokinetics of L-thyroxine after its oral administration in dogs. Am J Vet Res 1993; 54: 2091-8.

Nelson RW, Guillermo Couto C (2010) Innere Medizin der Kleintiere. Urban & Fischer Verlag Elsevier 1600

Nickel R, Schummer A, Seiferle E (2004) Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Parey, Leipzig

Ohlhafer I, Weiß M. Bestimmung des Referenzbereichs für mittels Enzymimmunoassay (EIA) ermittelte Thyroxin(T4)-Werte im Plasma von Meerschweinchen. Der Praktische Tierarzt 2014; 94: 1070-5.

Panciera DL. An echocardiographic and electrocardiographic study of cardiovascular function in hypothyroid dogs. J Am Vet Med Assoc 1994a; 205: 996-1000.

Panciera DL. Hypothyroidism in dogs: 66 cases (1987-1992). J Am Vet Med Assoc 1994b; 204: 761-7.

Panciera DL. Is it possible to diagnose canine hypothyroidism? J Small Anim Pract 1999; 40: 152-7.

Panciera DL. Conditions associated with canine hypothyroidism. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2001a; 31: 935-50.

Panciera DL. Conditions associated with canine hypothyroidism. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2001b; 31: 935-50.

Panciera DL, Purswell BJ, Kolster KA, Werre SR, Trout SW. Reproductive effects of prolonged experimentally induced hypothyroidism in bitches. *J Vet Intern Med* 2012; 26: 326-33.

Papanicolaou DA. Euthyroid Sick Syndrome and the Role of Cytokines. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 2000; 1: 43-8.

Paradis M PN, Larivière N, Fontaine M. Serum-free thyroxine concentrations, measured by chemiluminescence assay before and after thyrotropin administration in healthy dogs, hypothyroid dogs, and euthyroid dogs with dermatopathies. *Can Vet J* 1996; 37: 289-94.

Peterson ME, Melian C, Nichols R. Measurement of serum total thyroxine, triiodothyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations for diagnosis of hypothyroidism in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1997; 211: 1396-402.

Phillips DE, Harkin KR. Hypothyroidism and myocardial failure in two Great Danes. *J Am Anim Hosp Assoc* 2003; 39: 133-7.

Pinilla M, Shiel RE, Brennan SF, McAllister H, Mooney CT. Quantitative thyroid scintigraphy in greyhounds suspected of primary hypothyroidism. *Vet Radiol Ultrasound* 2009; 50: 224-9.

Prel du JB, Röhrlig B, Hommel G, Blettner M (2010) Auswahl statistischer Testverfahren. In: Übersichtsarbeit Teil 12 der Serie zur Bewertung wissenschaftlicher Publikationen. *Deutsches Ärzteblatt*. 343-8

Radosta LA, Shofer FS, Reisner IR. Comparison of thyroid analytes in dogs aggressive to familiar people and in non-aggressive dogs. *Vet J* 2012; 192: 472-5.

Ramsey IK, Evans H, Herrtage ME. Thyroid-stimulating hormone and total thyroxine concentrations in euthyroid, sick euthyroid and hypothyroid dogs. *J Small Anim Pract* 1997; 38: 540-5.

Reese S, Breyer U, Deeg C, Kraft W, Kaspers B. Thyroid sonography as an effective tool to discriminate between euthyroid sick and hypothyroid dogs. *J Vet Intern Med* 2005; 19: 491-8.

Reimers TJ, Lawler DF, Sutaria PM, Correa MT, Erb HN. Effects of age, sex, and body size on serum concentrations of thyroid and adrenocortical hormones in dogs. *Am J Vet Res* 1990; 51: 454-7.

Reimers TJ, Lamb SV, Bartlett SA, Matamoros RA, Cowan RG, Engle JS. Effects of hemolysis and storage on quantification of hormones in blood samples from dogs, cattle, and horses. *Am J Vet Res* 1991; 52: 1075-80.

Reusch CE, Boretti FS. Hypothyreose beim Hund. *fachpraxis* 2006: 2-12.

Ronald A, Stimson WH. The evolution of immunoassay technology. *Parasitology* 1998; 117 13-27.

Rudas P, Bartha T, Toth J, Frenyo VL. Impaired local deiodination of thyroxine to triiodothyronine in dogs with symmetrical truncal alopecia. *Vet Res Commun* 1994; 18: 175-82.

Safer JD, Crawford TM, Holick MF. A role for thyroid hormone in wound healing through keratin gene expression. *Endocrinology* 2004; 145: 2357-61.

Sauve F, Paradis M. Use of recombinant human thyroid-stimulating hormone for thyrotropin stimulation test in euthyroid dogs. *Can Vet J* 2000; 41: 215-9.

Scott DW, Paradis M. A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: Small Animal Clinic, University of Montreal, Saint-Hyacinthe, Quebec (1987-1988). *Can Vet J* 1990; 31: 830-5.

Scott-Moncrieff JC, Nelson RW, Bruner JM, Williams DA. Comparison of serum concentrations of thyroid-stimulating hormone in healthy dogs, hypothyroid dogs, and euthyroid dogs with concurrent disease. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 212: 387-91.

Scott-Moncrieff JC, Glickman NW, Glickman LT, HogenEsch H. Lack of association between repeated vaccination and thyroiditis in laboratory Beagles. *J Vet Intern Med* 2006; 20: 818-21.

Scott-Moncrieff JC. Clinical signs and concurrent diseases of hypothyroidism in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2007; 37: 709-22.

Scott-Moncrieff JC. Thyroid disorders in the geriatric veterinary patient. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2012; 42: 707-25.

Shiel RE, Brennan SF, Omodo-Eluk AJ, Mooney CT. Thyroid hormone concentrations in young, healthy, pretraining greyhounds. *Vet Rec* 2007a; 161: 616-9.

Shiel RE, Acke E, Puggioni A, Cassidy JP, Mooney CT. Tertiary hypothyroidism in a dog. *Ir Vet J* 2007b; 60: 88-93.

Singh AK, Jiang Y, White T, Spassova D. Validation of nonradioactive chemiluminescent immunoassay methods for the analysis of thyroxine and cortisol in blood samples obtained from dogs, cats, and horses. *J Vet Diagn Invest* 1997; 9: 261-8.

Sturgess ML, Weeks I, Mpoko CN, Laing I, Woodhead JS. Chemiluminescent labeled-antibody assay for thyroxin in serum, with magnetic separation of the solid-phase. *Clin Chem* 1986; 32: 532-5.

Taeymans O, Daminet S, Duchateau L, Saunders JH. Pre- and post-treatment ultrasonography in hypothyroid dogs. *Vet Radiol Ultrasound* 2007; 48: 262-9.

Taeymans O, Dennis R, Saunders JH. Magnetic resonance imaging of the normal canine thyroid gland. *Vet Radiol Ultrasound* 2008a; 49: 238-42.

Taeymans O, Schwarz T, Duchateau L, Barberet V, Gielen I, Haskins M, Van Bree H, Saunders JH. Computed tomographic features of the normal canine thyroid gland. *Vet Radiol Ultrasound* 2008b; 49: 13-9.

Weeks I, Sturgess ML, Woodhead JS. Chemiluminescence immunoassay: an overview. *Clin Sci (Lond)* 1986; 70: 403-8.

Wirnt R. *Klinische Chemie und Mikroskopie*: Springer 1990: 360.

Wisdom GB. Enzyme-immunoassay. *Clin Chem* 1976; 22: 1243-55.

Woltz HH, Thompson FN, Kemppainen RJ, Munnell JF, Lorenz MD. Effect of prednisone on thyroid gland morphology and plasma thyroxine and triiodothyronine concentrations in the dog. *Am J Vet Res* 1983; 44: 2000-3.

Ziener ML, Dahlgren S, Thoresen SI, Lingaas F. Genetics and epidemiology of hypothyroidism and symmetrical onychomadesis in the Gordon setter and the English setter. *Canine Genet Epidemiol* 2015; 2: 12-20.

IX. ANHANG

Formblatt 1 : Vor der Blutentnahme mit dem Besitzer auszufüllen

Datum:

Praxis/Klinik:

Name des Hundes:

Name des Besitzers:

Namen auf der zweiten Probe:

Namen auf der dritten Probe:

Namen auf der vierten Probe:

Namen auf der fünften Probe:

Name des kontoinhabenden Tierarztes:

Telefon und Email des Tierarztes:

Name der Bank: BLZ/BIC:

Kontonummer/IBAN:

Anamnesedaten

Rasse: Alter (in Jahren):

Geschlecht: Hauptproblem:

Welche der nachfolgenden Symptome treten auf?

- Wunde Stellen Krusten Schuppen Haarausfall Geruch
- Durchfall Ohrentzündungen Gewichtsabnahme Gewichtszunahme
- Riesenhunger Trinkt mehr als üblich Sonstiges:

In welchem Alter begann das Problem?

In welcher Jahreszeit?

Andere Tests?

Resultate?

Andere Erkrankungen und Probleme?

Benützte Medikamente: Shampoos Spülungen Puder Sprays

Cremes Tabletten Injektionen Ohrentropfen Augentropfen

Letzte Tablette gegeben am: ____ / ____ / ____

Effekt:

Letzte Injektion gegeben am: ____ / ____ / ____

Effekt:

X. DANKSAGUNG

Mein Dank gilt den Studienpatienten und ihren Besitzern für die Teilnahme an dieser Studie, sowie den Kollegen Drs. Krämer & van Well /Rodewald Drs. Helmes & Schütterle/Alfter, Dr. Küblböck/ Schwarzenberg, Dr. Fischer/Korneuburg, Drs. Sappert & Buck/Marktoberdorf, Drs. Greim & Salzer/Rossbach-Wied, Dr. Sandmann/Neuss für die multizentrische Einsendung ihrer Daten.

Ich bedanke mich bei Dr. Christoph J. Klinger, Amelie von Voigts-Rhetz, Dr. Janine Classen, Laura Udraité-Vovk und Natalie K.Y. Gedon aus der Abteilung für Dermatologie und Allergologie der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München, für das unvergleichlich sympathische Arbeitsklima, ihre Geduld mit mir und dafür, dass sie ihr faszinierendes Wissen mit mir geteilt haben.

Mein Dank gilt des Weiteren meinen Kommilitoninnen Linda Böswald und Carina Eggers, die mich treu auf meinem Weg durch das Studium begleitet haben und mich in meinen Bestrebungen, mich für den Bereich der Dermatologie zu spezialisieren, stets bestärkt haben.

Auch bei Dr. Sonya Bettenay, meinem dermatologischen Lichtblick während meines Internships, möchte ich mich sehr herzlich für die fürsorgliche Ausbildung während dieser Zeit bedanken - unbestritten die klügste Frau, die ich kenne.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Ralf S. Mueller, für seine unermüdliche Unterstützung, seinen Enthusiasmus, seine Genialität und vor allem für das Wecken meiner Faszination an der Dermatologie.