

2m11.2568.11

Université de Montréal

Influence de la prednisonne et du phénobarbital sur la fonction thyroïdienne canine

par

Sylvie Daminet

Département de sciences cliniques
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M.Sc.)
en sciences cliniques vétérinaires

Décembre 1997

© Sylvie Daminet, 1997



SF 3575 1116
607
U34
1998
V.004

Université de Montréal

Influence de la prévalence et du phénotypage sur la fonction (p) rénale chez

par

Zywie Damin

et

Département de sciences cliniques
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maîtrise en sciences (M.Sc.)
en sciences cliniques vétérinaires

December 1997

*25141-Départ. 1997



Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

Influence de la prednisonne et du phénobarbital sur la fonction thyroïdienne canine

présenté par:

Sylvie Daminet

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Dr Philippe Pibarot, président-rapporteur

Dre Manon Paradis, directrice de recherche

Dr Christopher Price, codirecteur

Dre Andée Quesnel, membre du jury

Mémoire accepté le: 06.01.1998

Sommaire

Plusieurs médicaments, dont la prednisone et le phénobarbital, affectent la fonction thyroïdienne de l'humain et du rat, ce qui peut rendre l'évaluation de la fonction thyroïdienne difficile. Les effets de la prednisone sur la fonction thyroïdienne canine ont été étudiés partiellement. En effet, les glucocorticoïdes diminuent les concentrations sériques de thyroxine totale (T4T) et de thyroxine libre (T4L), mais leurs effets sur la thyrotropine (TSH) restent inconnus. Bien que le phénobarbital soit souvent cité comme un médicament qui potentiellement peut affecter la fonction thyroïdienne canine, aucune étude n'est disponible sur ce sujet. Le but de ce projet était donc de déterminer les effets de la prednisone et du phénobarbital sur la fonction thyroïdienne canine, et en particulier sur la TSH.

Vingt-six chiens de race Beagle furent divisés aléatoirement en 3 groupes. Les chiens du groupe 1 (contrôle) reçurent un placebo. Les chiens du groupe 2 reçurent du phénobarbital (30 à 45 mg). Les chiens du groupe 3 reçurent de la prednisone (15 mg). Tous ces traitements furent administrés oralement, deux fois par jour et ce pendant les 3 premières semaines du projet. Des échantillons sanguins pour déterminer les concentrations sériques de T4T, T4L et TSH furent prélevés aux temps 0, 48 heures, 1, 3, 4, 5 et 6 semaines. Les niveaux sériques de phénobarbital furent déterminés pour les chiens du groupe 2 après 1 et 3 semaines de traitement.

Les concentrations sériques en T4T étaient significativement diminuées 1 et 3 semaines après le début de l'administration de la prednisone. Les concentrations sériques en T4L étaient significativement diminuées après 3 semaines de prednisone. L'administration de phénobarbital, malgré l'obtention des niveaux thérapeutiques sériques, n'a pas affecté les valeurs de T4T, T4L, ni de TSH. Aucun des traitements n'a affecté les concentrations en TSH de façon significative.

En conclusion, la détermination de la TSH semble être plus fiable que la T4T et la T4L pour évaluer la fonction thyroïdienne chez le chien recevant de la prednisone. Dans notre étude, le phénobarbital n'a pas affecté la fonction thyroïdienne canine de façon significative.

TABLE DES MATIERES

Sommaire	iii
Table des matières	v
Liste des tableaux	ix
Liste des figures	x
Liste des sigles et abréviations	xii
Dédicaces	xiv
Remerciements	xv

CHAPITRE PREMIER - REVUE DE LA LITTERATURE 1

1. La physiologie de la glande thyroïde 2

1.1. La synthèse des hormones thyroïdiennes 2

1.2. Le transport des hormones thyroïdiennes en circulation 5

1.3. La dégradation des hormones thyroïdiennes 6

1.4. Le mécanisme d'action des hormones thyroïdiennes 6

1.5. Les effets des hormones thyroïdiennes sur le métabolisme 7

1.6. La régulation de la fonction thyroïdienne 9

2. Les tests évaluant la fonction thyroïdienne canine 11

2.1. La thyroxine totale de base 11

2.2. La triiodothyronine totale de base 12

2.3. La thyroxine libre de base 13

2.4. La triiodothyronine libre de base	14
2.5. La "reverse" triiodothyronine	14
2.6. La thyrotropine endogène	15
2.7. Le "triiodothyronine resin uptake test"	17
2.8. Le test de stimulation à la TSH	17
2.9. Le test de stimulation à la TRH	18
2.10. L'imagerie nucléaire	18
2.11. Anticorps contre la T3 et contre la T4	20
2.12. Anticorps contre la thyroglobuline	20
2.13. Biopsie de la glande thyroïde et histopathologie	21
3. Facteurs affectant les tests de fonction de la glande thyroïde chez le chien	23
3.1. L'âge	23
3.2. La race et la taille	24
3.3. Le sexe et le statut reproducteur	25
3.4. Le rythme circadien et les fluctuations journalières	26
3.5. Les maladies systémiques non thyroïdiennes	26
3.6. La température ambiante	27
3.7. L'obésité	28
3.8. Le jeûne	28
3.9. Le stress	29

4. Les effets de certains médicaments sur la fonction thyroïdienne 30

4.1. Les effets des glucocorticoïdes sur la fonction thyroïdienne chez l'homme et le rat 32

4.2. Les effets des glucocorticoïdes sur la fonction thyroïdienne chez le chien 34

4.3. Les effets du phénobarbital sur la fonction thyroïdienne 35

CHAPITRE DEUXIEME - ARTICLE 37

Sylvie Daminet, DMV; Manon Paradis, DMV, MSc; Christopher Price, PhD: Influence of prednisone and phenobarbital on thyroid function in euthyroid dogs.

Publication soumise au "American Journal of Veterinary Research" le 7 novembre 1997

Abstract 39

Introduction 40

Materials and methods 41

Results 44

Discussion 45

References 51

CHAPITRE TROISIEME - DISCUSSION ET CONCLUSION 62

1. Validation de la trousse commerciale pour le dosage de la TSH endogène canine . . . 63

2. Effets de la prednisone sur la fonction thyroïdienne canine 64

3. Effets du phénobarbital sur la fonction thyroïdienne canine 66

4. Variations des concentrations en hormones thyroïdiennes dans le groupe contrôle . . 68

5. Critiques du projet 69

6. Conclusion 71

Bibliographie 72

Liste des Tableaux

Tableau I: Médicaments affectant la fonction thyroïdienne chez l'homme 31

Liste des figures

Chapitre premier

- Figure 1.** Les principales étapes de la voie métabolique aboutissant à la synthèse des hormones thyroïdiennes 3
- Figure 2.** Déiodination de la T4 en T3 ou en rT3 selon le type de déiodinase impliquée 4

Chapitre deuxième

- Figure 1.** Mean (\pm SEM) tT4 concentrations in beagle dogs during and after placebo, prednisone (15 mg PO q 12 hours) or phenobarbital (30 to 45 mg PO q 12 hours) administration. Medications were administered during the first 3 weeks of the experiment. *=significantly different from control group ($P<0.05$). 59
- Figure 2.** Mean (\pm SEM) fT4 concentrations in beagle dogs during and after placebo, prednisone (15 mg PO q 12 hours) or phenobarbital (30 to 45 mg PO q 12 hours) administration. Medications were administered during the first 3 weeks of the experiment. *=significantly different from control group ($P<0.05$). 60

Figure 3. Mean (\pm SEM) TSH concentrations in beagle dogs during and after placebo, prednisone (15 mg PO q 12 hours) or phenobarbital (30 to 45 mg PO q 12 hours) administration. Medications were administered during the first 3 weeks of the experiment.

*=significantly different from control group ($P<0.05$). 61

Liste des sigles et abréviations

DIT:	Diiodotyrosine
FSH:	Hormone folliculo-stimulante <i>Follicle-stimulating hormone</i>
LDL:	Low density lipoproteins
LH:	Hormone lutéinisante <i>Luteinizing hormone</i>
MIT:	Monoiodotyrosine
T3:	3,5,3'- triiodothyronine
T3L:	triiodothyronine libre
T3T:	triiodothyronine totale
T3RU:	<i>Triiodothyronine resin uptake test</i>
T4:	thyroxine
T4L:	thyroxine libre
T4T:	thyroxine totale
TBG:	<i>thyroxine-binding globulin</i>
TSH:	Thyrotropine <i>Thyroid-stimulating hormone / thyrotropin</i>
TRH:	<i>Thyrotropin-releasing hormone</i>
RIA:	<i>Radio-immuno-assay</i>

rT3: **3,3',5'**- triiodothyronine
 reverse triiodothyronine

Dédicaces

A mes parents.

A Mihály sans qui il n'y aurait jamais eu ni de maîtrise, ni de "board"...

Je pense à vous.

REMERCIEMENTS

A la Docteure Manon Paradis,

pour sa disponibilité, sa bonne humeur contagieuse, ses conseils avisés, ainsi que son soutien.

Au Docteur Christopher Price,

pour sa disponibilité, son humour et sa rigueur scientifique.

Au Fonds du centenaire de la Faculté de médecine vétérinaire de St-Hyacinthe et à la compagnie Idexx, pour leur support financier.

A l'Université de Montréal pour son soutien financier, ainsi qu' au Dr S. Larivière et au

Dr R. Lallier pour leur implication dans le dossier "frais de scolarité pour étudiants étrangers".

CHAPITRE PREMIER

REVUE DE LA LITTERATURE

1. La physiologie de la glande thyroïde

1.1. La synthèse des hormones thyroïdiennes

La glande thyroïde est la glande endocrine la plus importante pour la régulation du métabolisme. Le tissu glandulaire est organisé en follicules délimités par les cellules thyroïdiennes appelées thyrocytes (Arvan et coll., 1997). Les thyrocytes sont unis par des jonctions intercellulaires dont les jonctions "gap" qui permettent l'échange de petites molécules entre ces cellules (Munari, 1996). Au milieu des follicules baignent, dans la substance colloïde, les hormones thyroïdiennes liées à la thyroglobuline. Les hormones thyroïdiennes ont donc un stockage extracellulaire tout à fait unique. Cette forme de stockage permet à la glande thyroïde de contenir une grande réserve d'hormones thyroïdiennes (Cunningham, 1992; Guyton, 1991).

Les trois molécules essentielles à la synthèse des hormones thyroïdiennes sont la tyrosine, la thyroglobuline et l'iode (Nakamura et Ohtaki, 1994). La première étape dans la synthèse des hormones thyroïdiennes est le captage actif de l'iodure par les cellules folliculaires, suivi de son oxydation. L'iodure oxydé peut alors être incorporée à des groupements tyrosils liés à la thyroglobuline (Cavalieri, 1997). La thyroglobuline est synthétisée par les cellules folliculaires et est le constituant principal de la substance colloïde (Dunn, 1995). Un groupement tyrosil peut fixer une ou 2 molécules d'iodure. Ainsi sont formées des molécules de monoiodotyrosine (MIT) et de diiodotyrosine (DIT). La liaison

de 2 molécules de DIT forme la thyroxine (T₄), tandis que la liaison d'une molécule de DIT avec une molécule de MIT, forme la triiodothyronine (T₃). La thyroxyperoxidase est l'enzyme qui catalyse la plupart des réactions impliquées dans la formation des hormones thyroïdiennes (Nakamura et Ohtaki, 1994). La figure 1 représente les principales étapes de cette voie métabolique.

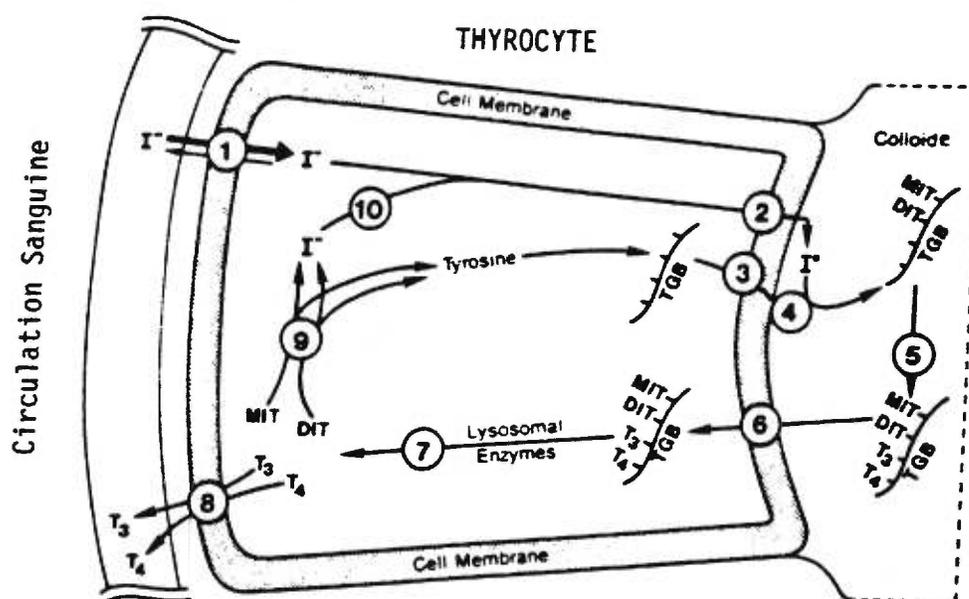
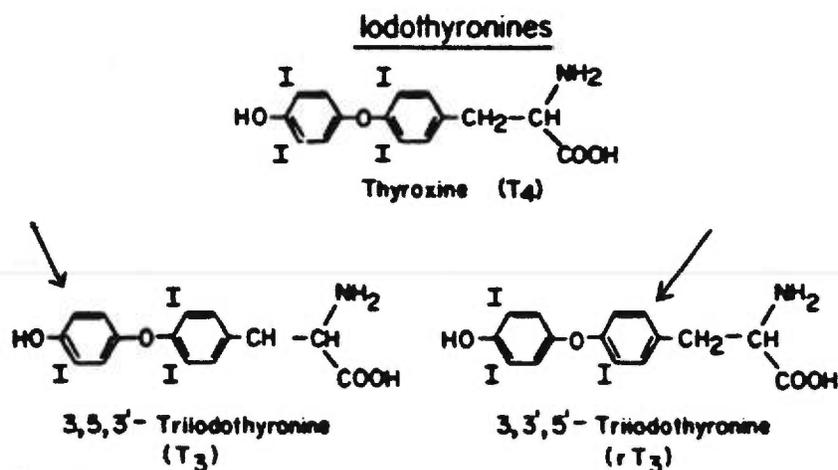


Figure 1. Les principales étapes de la voie métabolique aboutissant à la synthèse des hormones thyroïdiennes. 1. Captage actif de l'iodure (I⁻) 2. Oxidation de l'iodure 3. Exocytose de la thyroglobuline vers la substance colloïde 4. Iodination de la thyroglobuline (organification) 5. Couplage des iodotyrosines 6. Endocytose de la thyroglobuline par les cellules folliculaires 7. Hydrolyse de la thyroglobuline 8. Libération de T₃ et de T₄ 9. Déiodination de MIT et DIT 10. Recyclage de l'iodure.

D'après Cunningham 1992.

Il est important de noter que suite à l'hydrolyse de la thyroglobuline, la glande thyroïde libère principalement de la T4 et que 80 à 90 % de la T3 sérique est formée par déiodination périphérique de T4 et que seulement 10 à 20 % de la T3 sérique est directement sécrétée par la glande thyroïde (Furth et coll., 1968; Larsen et coll., 1981; Wartofsky et Burman, 1982). Approximativement 35 à 40 % de la T4 sécrétée par la glande thyroïde sera convertie en T3 (Wartofsky et Burman, 1982). Les tissus riches en déiodinases sont le foie, les reins et dans une moindre mesure les muscles. La 5'-mono-déiodinase enlève l'iodure de l'anneau phénolique externe de la T4, la molécule restante étant la T3 (Figure 2). La 5-mono-déiodinase enlève l'iodure de l'anneau phénolique interne de la T4, la molécule restante est la "reverse" T3 (rT3) (Figure 2). Chez le chien, la rT3 ne représente que 0.56 pourcent de la fraction totale de T3 (Kaptein et coll., 1990). La rT3 n'a aucune activité biologique (Surks et Stievert, 1995; Ferguson, 1984; Wartofsky et Burman, 1982). Les concentrations sériques des hormones thyroïdiennes varient d'une espèce à l'autre (Reap et coll., 1978).

Figure 2. Déiodination de la T4 en T3 ou en rT3 selon le type de déiodinase impliquée.



D'après Utiger 1997.

1.2. Le transport des hormones thyroïdiennes en circulation

Les hormones thyroïdiennes, tout comme les hormones stéroïdes et la vitamine D, sont des hormones lipophiles (Cunningham, 1992). Ce caractère lipophile leur confère deux propriétés principales: leur liaison en circulation à des protéines de transport et une action directe au niveau du noyau de la cellule cible. Les hormones thyroïdiennes seront donc transportées, chez toutes les espèces, liées à des protéines de transport (Larsson et coll., 1985; Bartalena, 1990; Capen, 1994; Ingebleek et Young, 1994). Ces protéines sont la "thyroxine-binding globulin" (TBG), l'albumine et la "thyroxine-binding pre-albumin" ou "transthyretin".

La TBG a une affinité très marquée pour la T4 et la T3 mais une capacité de liaison assez faible. Grâce à son affinité pour les hormones thyroïdiennes, la TBG transporte la majorité de la T4 et de la T3 et représente donc d'un point de vue physiologique, la protéine la plus importante pour le transport des hormones thyroïdiennes (Bartalena, 1990).

L'albumine a une affinité moindre pour les hormones thyroïdiennes mais une grande capacité de liaison (Capen, 1994).

La "thyroxine-binding pre-albumin" ou "transthyretin" qui, pour l'affinité et la capacité, est intermédiaire entre les 2 protéines précédentes.

A cause de leur liaison aux protéines, la forme libre des hormones thyroïdiennes ne représente qu'un faible pourcentage de la fraction totale (Larsen et coll., 1981). Chez l'homme, l'affinité des protéines de transport pour les hormones thyroïdiennes est très grande et seulement 0.13 % de la T4 et 0.31 % de la T3 sont libres (Kaptein et coll., 1990). Chez

le chien, l'affinité des protéines de transport pour les hormones thyroïdiennes est un peu moindre et 0.15 % de la T4 et 1.43 % de la T3 sont libres (Kaptein et coll., 1990; Kaptein et coll., 1993). Les formes métaboliquement actives sont les formes libres, la forme la plus active étant la T3 libre (Bartalena, 1990).

1.3. La dégradation des hormones thyroïdiennes

La principale voie d'inactivation des hormones thyroïdiennes se fait par ablation de molécules d'iodides, c'est-à-dire par déiodination (Curran et Degroot, 1991). La plupart de ces dérivés n'ont plus d'activité biologique. La déiodination périphérique de T4 en T3 est une exception puisque la T3 a une activité biologique très importante (Bartalena, 1990). Les déiodinases responsables du catabolisme des hormones thyroïdiennes se retrouvent principalement dans les muscles, le foie et les reins (Larsen et coll., 1981). Une autre voie de dégradation est la formation de molécules hydrophiles par sulfo- et glucurono-conjugaison au niveau du foie et des reins. Les dérivés sont éliminés dans les fèces et dans l'urine (Curran et Degroot, 1991).

1.4. Le mécanisme d'action des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes, grâce à leur structure lipophile, pénètrent directement dans la cellule cible et se lient à un récepteur nucléaire spécifique. C'est principalement la T3 libre qui est active au niveau cellulaire. Deux gènes, α et β , codent pour les récepteurs

nucléaires ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$) de la T3 (Larsen et coll., 1981; Oppenheimer et coll., 1976; Utiger, 1997). Les hormones thyroïdiennes stimulent la synthèse de nombreuses protéines et enzymes, ce qui favorise le transport cellulaire du sodium, du calcium et d'acides aminés. Egalement, l'activité oxidative des mitochondries et l'utilisation du glucose sont augmentées (Mohr-Kahaly et coll., 1996; Utiger, 1997).

1.5. Les effets des hormones thyroïdiennes sur le métabolisme

Les hormones thyroïdiennes influencent le métabolisme à tous les niveaux (Larsen et Ingbar, 1992). Les nombreux symptômes observés lors de déficience (hypothyroïdie) ou d'excès en hormones thyroïdiennes (hyperthyroïdie) démontrent bien ces effets:

Effet calorigène: Les hormones thyroïdiennes favorisent la thermogénèse en stimulant l'activité oxidative des mitochondries et l'utilisation du glucose par les cellules (Freake, 1995).

Effet sur le métabolisme des protéines: Le métabolisme des protéines est régulé principalement par certaines hormones, telles que l'insuline, l'hormone de croissance et la testostérone (De Feo, 1996; Umpleby et Russell-Jones, 1996). Les hormones thyroïdiennes favorisent la synthèse des protéines et ceci serait surtout capital lors de la croissance (De Feo, 1996; Rooyackers, 1997).

Effet sur le métabolisme des glucides: Les hormones thyroïdiennes stimulent toutes les étapes du métabolisme des glucides. Plus précisément, elles favorisent en stimulant différentes enzymes, l'absorption intestinale du glucose, l'entrée du glucose dans les cellules

et la synthèse de glycogène (Guyton, 1991).

Effet sur le métabolisme des lipides: Les hormones thyroïdiennes facilitent l'entrée des "low density lipoproteins" (LDL) et du cholestérol dans les cellules. De plus, elles favorisent la dégradation du cholestérol, entre autre en induisant la synthèse de l'enzyme cholestérol 7- α -hydroxylase (Ness et coll., 1994). L'effet global est donc une tendance à baisser le cholestérol sanguin. L'effet net sur le métabolisme des lipides est la lipolyse (Guyton, 1991).

Effet sur la croissance: Une croissance normale requière la présence d'hormone de croissance et d'hormones thyroïdiennes en suffisance (Peillon et coll., 1996; Umpleby et Russell-Jones, 1996). L'effet principal se fait par une augmentation de la synthèse des protéines. Lors d'hypothyroïdie congénitale chez le chien, la croissance est anormale et le chien développe un nanisme disproportionné (Greco, 1996).

Effets sur le système nerveux central: Les hormones thyroïdiennes sont essentielles à la croissance et au développement foetal du système nerveux central. Plus précisément, elles interviennent sur la croissance des neurones et régulent la formation du cytosquelette des astrocytes (Leonard et Farwell, 1997). De plus chez l'homme, les hypothyroïdiens se plaignent souvent de confusion (Utiger, 1997).

Effets sur le système cardio-vasculaire: Les hormones thyroïdiennes ont un effet chrono et inotrope positif sur la fonction cardiaque. Ces changements sont principalement médiés par des effets directs de la T3 sur les myocytes tels que l'augmentation de la transcription de la chaîne lourde de la myosine ou l'augmentation du nombre de pompes à calcium ATPase (Polikar et coll., 1993; Mohr-Kahaly et coll., 1996).

1.6. La régulation de la fonction thyroïdienne

La fonction thyroïdienne est régulée par des mécanismes extrathyroïdiens, principalement par les effets de la thyrotropine (TSH) et de la "TSH-releasing hormone" (TRH), et par des mécanismes intrathyroïdiens.

La TSH est la principale hormone impliquée dans le contrôle de l'activité thyroïdienne. Elle stimule toutes les étapes de la synthèse des hormones thyroïdiennes, du captage actif de l'iode jusqu'à la libération des hormones thyroïdiennes en circulation (Cavalieri, 1997). La TSH est une glycoprotéine synthétisée par les cellules thyrotropes de la glande pituitaire antérieure (Peillon et coll., 1996). L'hormone folliculo-stimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH), synthétisées par les cellules gonadotropes de la glande pituitaire antérieure, sont également des glycoprotéines. Ces 3 glycoprotéines sont composées de sous-unités α et β . La sous-unité α est identique pour les 3 glycoprotéines, alors que la sous-unité β , différente entre ces 3 glycoprotéines, est responsable de l'activité spécifique de chaque hormone et est spécifique pour chaque espèce (Morley, 1981).

La sécrétion de TSH est influencée par un mécanisme de rétro-contrôle négatif via les hormones thyroïdiennes. C'est surtout la T3 produite localement dans la glande pituitaire par déiodination de T4 qui diminue la sécrétion de TSH en inhibant la transcription des gènes α et β codant pour la TSH (Chin et coll., 1993; Larsen et coll., 1981). La sécrétion de TSH est également modulée par la TRH, un tripeptide libéré par l'hypothalamus (Morley, 1981; Brabant et coll., 1991). La TRH est synthétisée dans les noyaux supraoptiques et paraventriculaires de l'hypothalamus, puis entreposée dans l'éminence médiane. La TRH est

transportée de l'hypothalamus vers l'hypophyse, via le système porte hypophysaire, et y stimule la synthèse de TSH (Peillon et coll., 1996). La sécrétion de la TSH humaine est pulsatile et ceci semblerait contrôlé par la sécrétion pulsatile de la TRH (Morley, 1981; Brabant et coll., 1987; Brabant et coll., 1991).

En plus des effets de la TSH sur l'activité thyroïdienne, des mécanismes d'autorégulation par la glande thyroïde sont rapportés. Alors que les effets de la TSH servent principalement à tenter de maintenir des concentrations plasmatiques stables en hormones thyroïdiennes, l'autorégulation a pour but de maintenir des réserves suffisantes et constantes en hormones thyroïdiennes. Par exemple, chez l'homme suite à une déplétion en iode, les concentrations sériques en TSH restent normales grâce à des adaptations morphologiques et fonctionnelles de la glande thyroïde, comme l'activation du transport actif de l'iode (Larsen et coll., 1981; Larsen et Ingbar, 1992).

2. Les tests évaluant la fonction thyroïdienne canine

2.1. La thyroxine totale de base

La thyroxine totale (T4T) représente la fraction libre de la thyroxine et la fraction de thyroxine liée aux protéines de transport. La mesure de la T4T se fait le plus souvent par une technique de "radio-immuno-assay" (RIA) (Ferguson, 1984; Wartofsky et Burman, 1982). Les valeurs de référence devraient être établies pour chaque laboratoire. Certaines des trousse commerciales disponibles sont destinées au dosage de la T4T humaine. Ces trousse sont valables pour l'utilisation chez le chien à cause de la similitude entre la T4T des 2 espèces. Les anticorps contre la T4T utilisés dans ces RIA reconnaîtront donc non seulement la T4T humaine, mais également la T4T canine (réaction croisée). Les valeurs de T4T de base tendent à être plus basses chez le chien euthyroïdien que chez l'humain (Feldman et Nelson, 1996). Il est donc important de s'assurer que la sensibilité de la trousse est suffisante, en particulier lorsqu'une trousse humaine est utilisée chez le chien. Des techniques de dosage semi-quantitatives par une méthode enzymatique (ELISA) sont disponibles commercialement pour utilisation en clinique.

De nombreux facteurs tels que la présence de maladies systémiques ou l'administration de médicaments peuvent influencer la valeur de la T4T de base et seront discutés plus loin (Ferguson, 1988).

La présence d'anticorps sériques contre la T4, chez les chiens atteints de thyroïdite

lymphocytaire peut interférer avec le dosage de la T4T par RIA. Ceci peut entraîner des valeurs de T4 faussement basses ou élevées (Thacker et coll., 1992).

Il y a un chevauchement important entre les valeurs de T4T chez des chiens euthyroïdiens et des chiens hypothyroïdiens. Une étude réalisée par Nelson et coll. en 1991, mentionne des valeurs de T4T de base chez 62 chiens normaux variant de 1 à 3.3 $\mu\text{g/dl}$ (12.8 - 42.5 nmol/L) et des valeurs d'indéetectables à 1.5 $\mu\text{g/dl}$ (\leq - 19.3 nmol/L) pour 51 chiens hypothyroïdiens. L'utilisation d'un dosage de T4T de base pour poser un diagnostic d'hypothyroïdie est donc à éviter, à moins que la valeur de T4T soit très basse (<6 nmol/L ou <0.47 $\mu\text{g/dl}$) et qu'une maladie non-thyroïdienne ne soit pas présente.

2.2. La triiodothyronine totale de base

Chez l'humain, le dosage de la triiodothyronine totale (T3T) de base est également peu utile car sa concentration peut être dans les valeurs normales chez 20 à 30 % des hypothyroïdiens et diminuée chez 70 % des patients hospitalisés ayant une fonction thyroïdienne normale (Surks et coll, 1990). A l'occasion, ce test sera demandé chez le rare patient présentant des signes cliniques compatibles avec de l'hyperthyroïdisme mais dont la T4T est normale (Utiger, 1997).

La plupart des laboratoires utilisent des techniques de RIA pour doser la T3T (Wartofsky et Burman, 1982). Tout comme pour la T4T, les trousse pour doser la T3T humaine sont valides chez le chien. La présence d'anticorps contre la T3 dans les cas de thyroidite lymphocytaire peut interférer avec la méthode de dosage par RIA (Thacker et coll.,

1992). La prévalence pour les anticorps contre la T3 dans des sérums soumis pour déterminer les concentrations en hormones thyroïdiennes était de 0.3 à 4.5 % (Young et coll., 1985; Nachreiner et coll., 1990).

La détermination d'une T3T de base n'a pas vraiment d'utilité en médecine canine. En effet, les valeurs de T3T sont semblables chez des chiens euthyroïdiens, hypothyroïdiens, et chez des chiens atteints de maladies systémiques non-thyroïdiennes. Les concentrations de T3T varient de 0.8 à 1.5 ng/ml (Nelson et coll., 1991; Miller et coll., 1992).

2.3. La thyroxine libre de base

Les concentrations sériques en triiodothyronine libre (T3L) et thyroxine libre (T4L) sont très faibles, ce qui rend leur dosage plus difficile. Chez l'humain, le dosage de la T4L par dialyse à l'équilibre permet de différencier un patient atteint d'une maladie sévère non-thyroïdienne et ayant une T4T basse, d'un patient atteint d'hypothyroïdie (Surks et coll., 1988). D'autres techniques de dosage de la T4L comme l'ELISA ou le RIA ne permettent pas de faire cette distinction (Kaptein et coll., 1981; Surks et coll., 1988). Chez le chien, la technique la plus fiable pour doser la T4L est également la dialyse, une technique difficile, longue, dispendieuse et peu disponible (Wolfsheimer et Brady, 1995; Ferguson, 1984). D'autres méthodes de dosage plus accessibles, tel que le RIA ou la chimiluminescence sont décrites. Le dosage de la T4L par RIA semble moins fiable que le dosage par dialyse (Montgomery et coll., 1991). Par contre, une étude de Paradis et coll. rapporte que le dosage de la T4L par chimiluminescence offre une bonne corrélation avec le dosage par dialyse

et pourrait donc être une alternative intéressante permettant d'éviter l'utilisation de radioisotopes (Paradis et coll., 1996).

Une étude réalisée par Nelson et coll. en 1991, démontre que la sensibilité, spécificité et valeurs prédictives pour évaluer la fonction thyroïdienne, sont similaires entre un dosage de T4T et un dosage de T4L par RIA. Par contre, une étude réalisée récemment par Melian et coll., évalue la valeur d'un dosage de T4T combiné à un dosage de TSH versus un dosage de T4L par dialyse associé à un dosage de TSH pour diagnostiquer l'hypothyroïdie canine. Le dosage de la T4L par dialyse combiné à un dosage de TSH semble supérieur surtout au point de vue de la spécificité (Melian et coll., 1997). Les valeurs de T4L, mesurées par dialyse à l'équilibre, sont normalement comprises entre 9 et 40 pmol/L.

2.4. La triiodothyronine libre de base

Aucune étude n'a évalué la fiabilité des méthodes de dosage disponibles pour doser la triiodothyronine libre (T3L), ni l'utilité du dosage de la T3L pour évaluer la fonction thyroïdienne canine (Wolfsheimer et Brady 1995; Feldman et Nelson, 1996).

2.5. La "reverse" triiodothyronine

La "reverse" triiodothyronine (rT3) peut-être mesurée par RIA. Il n'y a pas de réaction croisée significative entre la rT3 et la T3 ou la T4 (Ferguson, 1984).

L'intérêt du dosage de la rT3 chez l'humain, réside dans son augmentation en cas de

maladie sévère non-thyroïdienne ("euthyroid sick syndrome"). Ceci permettrait de distinguer un patient avec T4T basse dû à de l'hypothyroïdie (rT3 basse) d'un patient atteint de maladie sévère non-thyroïdienne (rT3 normale ou élevée) (Docter et coll., 1993; Wartofsky et Burman, 1982; Kaptein et coll., 1982). D'autres études rapportent un chevauchement entre les valeurs de rT3 de patients euthyroïdiens, hypothyroïdiens ou malades (Kaplan et coll., 1982).

Les concentrations en rT3 chez le chien semblent moins affectées par des facteurs tels que le jeûne, l'anesthésie ou une chirurgie que les concentrations en rT3 humaines (Kaptein et coll., 1990). L'utilité du dosage de la rT3 reste donc encore à démontrer chez le chien. De plus, seulement quelques laboratoires en Amérique du nord offrent le dosage de la rT3. Les valeurs de rT3 sont normalement comprises entre 6 et 58 ng/dl.

2.6. La thyrotropine endogène

Chez l'humain, le dosage de la thyrotropine (TSH) endogène est actuellement le meilleur test pour l'évaluation de la fonction thyroïdienne (Utiger, 1997). L' "American Thyroid Association" recommande un dosage de TSH par une méthode sensible associé à un dosage de T4L pour l'évaluation initiale de la fonction thyroïdienne (Surks et coll., 1990). En effet, la TSH est très sensible à des petites variations en hormones thyroïdiennes. La sensibilité des trousse pour le dosage de la TSH humaine s'est grandement améliorée dans la dernière décennie ce qui a contribué à en faire le test de première ligne pour évaluer la fonction thyroïdienne humaine (Surks et coll., 1990; Seth et coll., 1984; Sapin et coll.,

1993). Le dosage de la TSH humaine se fait par une méthode radio-immunométrique (IRMA) ou plus récemment par chimiluminescence (Schlienger et coll., 1993). Lors d'hypothyroïdie primaire déclarée, la T4T ou la T4L sont diminuées et la TSH est augmentée. Lors d'hypothyroïdie subclinique la concentration sérique en TSH sera augmentée alors que les hormones thyroïdiennes seront maintenues dans les valeurs de référence (Larsen et coll., 1981). Les patients humains souffrant d'hypothyroïdie secondaire ou tertiaire ont des valeurs de TSH diminuées. Lors d'hyperthyroïdisme, les valeurs de TSH sont également diminuées voire même indétectables (Utiger, 1997).

Chez le chien, une méthode de dosage valide de la TSH n'est disponible que depuis 2 ans. Les réactions croisées avec d'autres glycoprotéines tels que la LH et la FSH sont responsables en partie de la mise au point tardive de cette méthode de dosage. En 1978, Chastain avait déjà tenté d'utiliser un test de RIA destiné au dosage de la TSH humaine, pour doser de la TSH canine. Cette technique s'était avérée non valide.

Vu que chez le chien, des méthodes de dosage fiables pour la TSH ne sont disponibles que depuis peu, les connaissances sur la TSH canine sont encore limitées. En effet, mis à part la publication de la validation d'une trousse commerciale disponible pour le dosage de la TSH (Williams et coll., 1996), seulement quelques études sur la TSH canine ont été présentées sous forme de communications courtes à différents congrès (Williams et coll., 1996; Scott-Moncrief et coll., 1996; Bruner et coll., 1996). Les valeurs sériques de TSH chez des chiens euthyroïdiens vont de concentrations indétectables à 0.7 ng/ml.

2.7. Le "triiodothyronine resin uptake test"

Le "triiodothyronine resin uptake test" est une méthode indirecte pour évaluer la liaison des hormones thyroïdiennes à leurs protéines de transport. Cette méthode est basée sur la compétition *in vitro* entre les protéines plasmatiques, une matrice de résine, les hormones thyroïdiennes et le radioisotope (Ferguson, 1984). Chez l'homme, ceci donne une bonne évaluation de la T4L. Chez le chien, à cause de l'affinité moindre des protéines de transport pour les hormones thyroïdiennes, ce test n'est pas fiable. Le produit de la T4 sérique et de la valeur du T3RU est appelé l'index de la T4L (Utiger, 1997). Comme l'index est calculé à partir du T3RU, l'utilisation de l'index de la T4L non plus n'est pas fiable chez le chien (Feldman et Nelson, 1996).

2.8. Le test de stimulation à la TSH

Longtemps considéré comme le test le plus fiable pour évaluer la fonction thyroïdienne chez le chien (Wolfsheimer et Brady, 1995; Ferguson, 1988), ce test est difficile à réaliser actuellement en clinique, car la TSH bovine commerciale n'est plus disponible. Le test de stimulation à la TSH évalue la réponse de la glande thyroïde suite à l'administration de TSH exogène. Ce test était surtout intéressant parce que moins influencé que la T4T sérique basale par la présence d'une maladie grave ou l'administration de certains médicaments (Beale et coll., 1992; Torres et coll., 1990). De plus, une dose aussi faible qu'une unité de TSH bovine par chien, et ce, même après congélation pendant 200 jours,

permettait de faire le test de façon économique et pratique (Paradis et coll., 1994).

2.9. Le test de stimulation à la TRH

Ce test permet de confirmer la présence d'hypothyroïdie primaire ou secondaire, tout comme le test de stimulation à la TSH. Par contre le test de stimulation à la TRH est moins précis car l'augmentation des concentrations en T4 suite à l'administration de TRH est moins marquée qu'avec le test de stimulation à la TSH (Lothrop et coll., 1984; Wolfsheimer et Brady, 1995). Toutefois, lors d'hypothyroïdie secondaire, il arrive parfois que suite à l'administration de TSH, les glandes thyroïdes répondent de façon adéquate, rendant le diagnostic difficile. Dans ces rares cas, le test de stimulation à la TRH pourrait être intéressant (Feldman et Nelson, 1996). Une étude récente rapporte que le test de stimulation à la TRH n'a pas permis le diagnostic d'hypothyroïdie chez plusieurs chiens atteints de cette maladie (Frank, 1996). De plus, la TRH est difficile à obtenir. Son administration entraîne fréquemment des effets secondaires indésirables, médiés par l'activation de mécanismes cholinergiques centraux, tels que des vomissements, de la diarrhée et de la tachycardie (Wolfsheimer et Brady, 1995). Ce test est donc peu utilisé en clinique pour évaluer la fonction thyroïdienne canine.

2.10. L'imagerie nucléaire

La scintigraphie est une méthode de choix pour évaluer la fonction thyroïdienne. Les

3 isotopes utilisés sont le pertechnetate (forme oxydée du technetium), l'iode¹²³ (I^{123}) et l'iode¹³¹ (I^{131}). Tout comme l'iode stable, l'iode radioactive est prélevée activement par la glande thyroïde puis liée à la thyroglobuline. Le pertechnetate est une molécule semblable du point de vue de sa taille et de sa charge à l'iodide. Il est donc incorporé activement par la glande thyroïde, mais n'est pas intégré dans la thyroglobuline. Le choix de l'isotope dépend de plusieurs facteurs: préférence personnelle, qualité de la scintigraphie supérieure avec le pertechnetate (controversé), coûts ($I^{123} > \text{pertechnetate} > I^{131}$). L' iode¹³¹ a une demi-vie longue (8 jours) et émet énormément de particules β , ce qui entraîne une exposition importante du patient et du personnel. De plus, la qualité de l'image est inférieure. A l'inverse, l' I^{123} a une demi-vie plus courte (13 heures) et n'émet pas de particules β . Son principal désavantage en médecine vétérinaire est son coût. Le pertechnetate a une demi-vie très courte (6 heures), est facilement disponible et donne de très belles images. Suite à l' injection du radioisotope, la scintigraphie peut être faite après 20 minutes (pertechnetate), après 4 heures (I^{123}) et après 24 heures (I^{131}) (Kintzer et Peterson, 1991; Chastain et Panciera, 1995).

Les principales indications pour réaliser un scintigraphie thyroïdienne chez le chien sont l'évaluation des tumeurs des glandes thyroïdes, la recherche de métastases de tissus thyroïdien et la différenciation de l'hypothyroïdie d'avec une maladie systémique grave non-thyroïdienne.

L'intensité de l'image obtenue suite à la captation du radioisotope au niveau du tissu thyroïdien est comparée à l'intensité de l'image dans les glandes salivaires. L'accumulation du pertechnetate dans les glandes thyroïdes sera diminuée en cas d'hypothyroïdie (Kintzer

et Peterson, 1991; Chastain et Panciera, 1995).

L'imagerie nucléaire est donc un outil performant pour évaluer la fonction thyroïdienne canine, cependant elle n'est que peu utilisée. En effet, cette technique n'est disponible que dans certains centres spécialisés et requière l'anesthésie du patient.

2.11. Anticorps contre la T3 et contre la T4

La détection d'anticorps contre les hormones thyroïdiennes a été rapportée dans les cas de thyroïdite lymphocytaire. Chez le chien, la présence d'anticorps contre la T3 est plus fréquente que celle d'anticorps contre la T4. La prévalence rapportée pour les anticorps contre la T3 dans des sérums soumis pour déterminer les hormones thyroïdiennes varie de 0.3 à 4.5 % (Young et coll., 1985; Nachreiner et coll., 1990). Par contre, chez des chiens hypothyroïdiens, des anticorps contre la T3 ou T4 seraient détectés dans 30 % des cas (Thacker et coll., 1992). De plus, ces anticorps peuvent parfois être détectés chez des chiens euthyroïdiens (Rajatanavin et coll., 1989). La présence d'anticorps contre la T3 ou T4 dans le sérum peut interférer avec le RIA et entraîner des valeurs de T3 ou de T4 faussement basses ou faussement élevées.

2.12. Anticorps contre la thyroglobuline

La plupart des sérums (81 %) contenant des anticorps contre la thyroglobuline, contiennent également des anticorps contre la T3 ou la T4, ou les deux (Thacker et coll.,

1992). L'hypothèse avancée pour expliquer ceci est que lors de thyroïdite lymphocytaire, des molécules de thyroglobuline auxquelles sont attachées des molécules de T3 et de T4, "s'échappent" en circulation, et ces complexes seraient antigéniques (Gaschen et coll., 1993).

Des anticorps contre la thyroglobuline ont été détectés chez 34 à 59 % de chiens hypothyroïdiens. Ces anticorps ont cependant été également mis en évidence chez 14 % de chiens euthyroïdiens présentant une dermatopathie, chez 13 % de chiens hospitalisés et chez 43 % de chiens avec maladie endocrine non-thyroïdienne (Vollset et Larsen, 1987; Haines et coll., 1984).

La présence d'anticorps contre la thyroglobuline en circulation permet de suspecter la présence d'une thyroïdite lymphocytaire. Par contre, ceci n'implique pas que le chien souffre d'hypothyroïdie. De plus, l'évolution dans le temps des lésions de thyroïdite ainsi que le temps nécessaire pour évoluer vers un état d'hypothyroïdie demeurent inconnus.

2.13. Biopsie de la glande thyroïde et histopathologie

Chez le chien suspect d'hypothyroïdie, la mise en évidence dans une biopsie de la glande thyroïde d'une infiltration lymphocytaire ainsi que la diminution de colloïde dans les follicules permettent de confirmer le diagnostic d'hypothyroïdie (Wolfsheimer et Brady, 1995; Feldman et Nelson, 1996). Malgré l'exactitude de cette méthode, son caractère invasif et l'anesthésie requise la rendent rarement justifiable en clinique. De plus, la présence de légers changements microscopiques dans la glande thyroïde ne corrèle pas

nécessairement avec les niveaux sériques d'hormones thyroïdiennes ni avec la sévérité des signes cliniques.

3. Facteurs affectant les tests de fonction de la glande thyroïde chez le chien

Un défi majeur en endocrinologie canine clinique est sans aucun doute l'interprétation correcte des résultats de laboratoire. Ceci est d'autant plus vrai pour la glande thyroïde, puisque un grand nombre de facteurs non pathologiques peuvent affecter les concentrations en hormones thyroïdiennes. Il est donc important de connaître les différents facteurs affectant les résultats des tests de fonction thyroïdienne chez le chien.

3.1. L'âge

Les concentrations sériques en T4T sont de 2 à 5 fois plus élevées chez des chiots âgés de moins de 6 semaines, que chez des chiens adultes (Reimers et coll. 1990; Book, 1977). Dès l'âge de 6 à 12 semaines, les chiots ont des valeurs de T4T semblables à celles d'un chien adulte (Reimers et coll., 1990). A l'inverse, les concentrations en T4T sont plus basses chez 50 % des chiens âgés de plus de 6 ans, tout en restant le plus souvent supérieures à 12.8 nmol/L. Weller et coll. en 1984, rapportent que chez des chiens adultes de race Beagle, les concentrations en TSH semblent augmenter de façon significative avec l'âge, quoique la méthode de dosage par RIA utilisée à cette époque pour doser la TSH n'était pas validée pour le chien. Contrairement aux concentrations en T4T, les concentrations en T3T ne semblent pas affectées de façon significative par l'âge (Reimers

et coll., 1990). Les causes de ces changements de concentration en hormones thyroïdiennes en rapport avec l'âge ne sont pas connues mais d'un point de vue clinique, ces variations soulignent l'importance d'établir des valeurs de référence pour chaque groupe d'âge.

3.2. La race et la taille

Certains éleveurs et vétérinaires (Ferguson, 1997), pensent que quelques races de chien tel que le Greyhound, le Terre-Neuve et les Lévrier auraient des valeurs en hormones thyroïdiennes plus basses que les autres races. Une étude réalisée en 1996 a démontré que les chiens de race Greyhound avaient en effet des valeurs de T4T et de T4L plus basses que d'autres chiens (races confondues) (Gaughan et coll., 1996). Par contre, une autre étude n'a pas démontré de différence significative entre les valeurs de T4T et de TSH chez des chiens de race Terre-Neuve lorsque comparés à d'autres chiens de grande race (Sauvé et coll., 1997).

Une étude réalisée par Reimers et coll. en 1990 a démontré que les chiens de petite races (poids moyen 7.1 kg) ont des valeurs de T4T plus élevées que les chiens de moyenne (23.3 kg) ou de grande races (poids moyen 30.6 kg). Cependant, les valeurs moyennes de T4T restaient dans les limites des valeurs de référence, et ce, pour les 3 groupes de chiens. D'un point de vue clinique, la taille du chien semble donc que peu influencer les valeurs de T4T.

3.3. Le sexe et le statut reproducteur

Les effets du sexe et du statut reproducteur sur la fonction thyroïdienne ont été publiés pour plusieurs espèces. Des résultats très contradictoires ont été obtenus, et ce, parfois même à l'intérieur d'une même espèce. En effet, des valeurs de T4T supérieures (Fukuda et coll., 1975), égales (Belshaw et Rijnberk, 1979; Utiger, 1997) et même inférieures (Kieffer et coll., 1976; Kemppainen et Sartin, 1984), sont rapportées lorsqu'on compare des animaux mâles à des femelles non gestantes.

Une étude réalisée sur un grand nombre de chiens démontre que si l'on compare globalement des mâles et des femelles sans tenir compte de leur statut reproducteur, les valeurs de T4T et de T3T ne diffèrent pas entre les 2 groupes (Reimers et coll., 1990). Par contre, chez des chiennes en gestation ou en dioestrus, des valeurs de T4T supérieures à celles rencontrées chez des chiens mâles ou des chiennes en anoestrus, proestrus ou lactation, sont rapportées. Chez la femme enceinte, une augmentation de la concentration en T4T de base est observée durant la première moitié de la gestation et ceci serait dû principalement à une augmentation de la concentration en TBG (Utiger, 1997). Chez le chien, une augmentation en TBG ainsi qu'une augmentation de la synthèse et de la sécrétion d'hormones thyroïdiennes ont été observés durant le dioestrus et la gestation (Monty et coll., 1979; Wenzel, 1981).

Après avoir discuté de l'influence possible du sexe et du cycle oestral sur la fonction thyroïdienne, il est intéressant de noter qu'à l'inverse, chez la brebis, la fonction thyroïdienne influence le cycle reproductif (Karsch et coll., 1995).

3.4. Le rythme circadien et les fluctuations journalières

Un rythme circadien tel qu'observé pour le cortisol n'a pas été documenté pour les hormones thyroïdiennes chez le chien. Par contre, des fluctuations journalières aléatoires des concentrations sériques en hormones thyroïdiennes ont été rapportées chez des chiens euthyroïdiens (Kemppainen et Sartin, 1984). Ces fluctuations sont également présentes chez des chiens hypothyroïdiens ou euthyroïdiens mais atteints de dermatite atopique, et semblent plus marquées dans ce dernier groupe. Vingt-huit pourcent des échantillons provenant de chiens euthyroïdiens avaient des valeurs de T4 inférieures aux valeurs de références. Ce chiffre était même plus élevé pour les chiens atteints de dermatite atopique (Miller et coll., 1992), et souligne la nécessité d'interpréter avec prudence une détermination de T4 sous les valeurs de référence.

3.5. Les maladies systémiques non thyroïdiennes

La présence d'une maladie sévère non thyroïdienne peut affecter la fonction thyroïdienne chez l'humain et chez les animaux de compagnie (Docter et coll., 1993; Ferguson, 1997; McIver et Gorman, 1997). Chez le chien, les maladies le plus souvent mentionnées sont le diabète mellitus, l'hyperadrénocorticisme et l'insuffisance cardiaque ou rénale. Fréquemment, les concentrations sériques en T4T et T3T seront diminuées, et dans des valeurs compatibles avec l'hypothyroïdie. La T4L peut être affectée, mais l'est souvent dans une moindre mesure (Ferguson, 1995). La réponse de la glande thyroïde aux tests de

stimulation à la TSH ou à la TRH sera également diminuée (Nelson et coll., 1991; Peterson et coll., 1984). Il est donc recommandé, lorsque possible, de traiter toute maladie non thyroïdienne avant de tester la glande thyroïde. Il y a une corrélation entre la baisse sérique en hormones thyroïdiennes et la sévérité de la maladie ainsi qu'avec le pronostic (McIver et Gorman, 1997; Elliot et coll., 1995).

La baisse sérique en hormones thyroïdiennes observée dans ce syndrome serait une adaptation physiologique de l'organisme face à la maladie, afin de diminuer la demande énergétique des tissus (McIver et Gorman, 1997; Ferguson, 1997). Ces changements pourraient être médiés par l'action de cytokines ou d'autres médiateurs de l'inflammation sur l'hypothalamus, l'hypophyse, la glande thyroïde, les déiodinases hépatiques ou encore, la liaison des hormones thyroïdiennes à leur protéines de transport (McIver et Gorman, 1997).

3.6. La température ambiante

L'exposition de rats à des températures froides variant de - 3 à 6 °C sur plusieurs jours entraîne une augmentation des valeurs de TSH et d'hormones thyroïdiennes (Whitaker et coll., 1988; Fukuhara et coll., 1996).

Chez le chien, les effets de la température ambiante sur la glande thyroïde n'ont pas encore été évalués. Cependant, les changements de température ambiante auxquels sont exposés nos animaux domestiques n'affectent probablement pas les tests de fonction thyroïdienne de façon significative.

3.7. L'obésité

Des valeurs de T4T et de T3T plus élevées ont été documentées chez des chiens euthyroïdiens obèses (Gosselin et coll., 1980). Toutefois, cette étude ne comportait que 6 chiens obèses.

Chez l'humain, l'obésité sévère s'accompagne d'altérations endocriniennes tel que la résistance à l'insuline et l'hyperinsulinisme (Fossati et Fontaine, 1993). Par contre, la plupart des études ne mentionnent pas d'influence significative de l'obésité sur la fonction thyroïdienne (Fossati et Fontaine, 1993; Guzzaloni et coll., 1995; Astrup et coll., 1996).

3.8. Le jeûne

Chez l'homme, le jeûne entraîne une baisse rapide de T3T accompagné d'une augmentation de rT3 alors que les valeurs de T4 et de TSH restent stables. Le mécanisme proposé est une diminution sélective de la 5' mono-déiodination périphérique de T4 en T3 (Palmlblad et coll., 1977; Scriba et coll., 1979). Toutefois, chez le rat, un jeûne partiel mais plus long (3 semaines), diminue significativement les concentrations sériques de T4T, T4L et de TSH (van Haasteren et coll., 1996).

Chez le chien, une période de jeûne maximale de 36 heures n'affecte ni les concentrations sériques de T4T, de T3, ni la réponse au test de stimulation à la TSH (Reimers et coll., 1986).

3.9. Le stress

Les sources de stress peuvent être exogènes ou endogènes. Les effets de certains stress sur la fonction thyroïdienne tels que la présence d'une maladie sévère ont été adressés précédemment.

Plusieurs études chez le rat démontrent que le stress supprime la fonction thyroïdienne (Marti et coll., 1993; Marti et coll., 1996; Josko, 1996). Dans ces études, le stress consiste le plus souvent en une immobilisation de 2 heures ou en l'administration de décharges électriques. Un tel stress entraîne une baisse rapide des concentrations sériques en T4T, T3T et en TSH (Marti et coll., 1996; Josko, 1996).

Chez l'humain, un stress tel qu'un entraînement militaire ou un premier saut en parachute entraîne également une inhibition de la fonction thyroïdienne avec une diminution de la T4T et de la TSH (Righter, 1996; Opstad, 1994).

Les effets de tels stress sur la fonction thyroïdienne canine n'ont pas été rapportés.

4. Les effets de certains médicaments sur la fonction thyroïdienne

De nombreux médicaments peuvent affecter la fonction thyroïdienne chez l'homme, le rat et le chien. Ces médicaments peuvent agir sur la synthèse, la sécrétion, le transport, et le métabolisme des hormones thyroïdiennes. De plus, certains médicaments peuvent agir directement sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et supprimer la sécrétion de TSH (Surks et Stievert, 1995). Le tableau I cite les différents médicaments affectant la fonction thyroïdienne chez l'homme, classés selon leur(s) mécanisme(s) d'action le plus couramment accepté.

Les glucocorticoïdes et le phénobarbital sont des médicaments qui altèrent la fonction thyroïdienne chez l'homme et qui sont fréquemment utilisés en pratique canine (Surks et Stievert, 1995; Chastain et Panciera, 1995).

Tableau I: Médicaments affectant la fonction thyroïdienne chez l'homme.***Médicaments qui inhibent la sécrétion de TSH**

dopamine, glucocorticoïdes, octreotide

***Médicaments qui influencent la sécrétion d'hormones thyroïdiennes**

-diminution de la sécrétion des hormones thyroïdienne: lithium

-augmentation de la sécrétion des hormones thyroïdiennes: iodide, amiodarone

***Médicaments qui diminuent l'absorption de T4**

colestipol, cholestyramine, hydroxide d'aluminium, sulfate de fer, sucralfate

***Médicaments qui influencent le transport de T3 et de T4 dans le sérum**

-augmentation des concentrations sériques en TBG: oestrogènes, tamoxifen, héroïne, méthadone, mitotane, fluorouracil

-diminution des concentrations sériques en TBG: androgènes, danazol, glucocorticoïdes

-déplacement des sites de liaison des protéines: furosémide, acide méfénamic, salicylates

***Médicaments qui altèrent le métabolisme de T3 et T4**

-augmentation du métabolisme hépatique: phénobarbital, rifampyn, phénytoin, carbamazépine

-diminution de l'activité déiodinase: propylthiouracil, amiodarone, β -adrénergiques et antagonistes, glucocorticoïdes

d'après Surks et Stievert, 1995.

4.1. Les effets des glucocorticoïdes sur la fonction thyroïdienne chez l'homme et le rat

Les glucocorticoïdes chez l'homme et chez le rat inhibent directement l'axe hypothalamo-hypophysaire-thyroïdien et affectent également le métabolisme périphérique des hormones thyroïdiennes (Rubello et coll., 1992; Samuels et coll., 1994; Surks et Stievert, 1995; Hangaard et coll., 1996). Plus précisément, des doses pharmacologiques de glucocorticoïdes entraînent une baisse des concentrations sériques de T3 et de T4, affectent les taux des protéines de transport d'hormones thyroïdiennes et diminuent la conversion périphérique de T4 en T3 (Woltz et coll., 1983; Kemppainen et coll., 1983; Gamstedt et coll., 1981; Oppenheimer et Werner, 1966).

Plusieurs études rapportent les effets des glucocorticoïdes endogènes ou exogènes sur la TSH humaine (Wilber et Utiger, 1969; Re et coll., 1976; Azukizawa et coll., 1979; Brabant et coll., 1987; Benker et coll., 1990; Samuels et coll., 1994; Hangaard et coll., 1996). La majorité de ces études rapportent une diminution de la TSH suite à l'administration de glucocorticoïdes. Par contre, le site d'action et le mécanisme par lequel les glucocorticoïdes entraînent une baisse de TSH reste controversé. En effet, une étude réalisée en 1976 par Re et coll. sur 8 patients normaux montre une baisse de la TSH suite à l'administration orale de dexaméthasone pendant deux jours et demi. De plus, une diminution de la réponse de la TSH au test de stimulation à la TRH est notée après l'administration de dexaméthasone. Samuels et coll. en 1994 ont étudié chez dix sujets

normaux la sécrétion et la pulsativité de la TSH pendant et suite à une infusion d'hydrocortisone administrée durant 24 heures. La sécrétion de TSH était diminuée ainsi que l'amplitude des pulsations. Par contre, le nombre de pulsations n'était pas affecté. La TSH était dosée par une technique IRMA ("immunoradiometric assay") très sensible avec une limite de détection de 0.08 mU/L. Les auteurs concluent que puisque le "pulse generator" dans l'hypothalamus n'est pas affecté, la suppression se fait probablement au niveau de la glande hypophyse. Ceci est probablement vrai à condition que le "pulse generator" de la TSH se situe au niveau supra-hypophysaire, ce qui n'est pas encore prouvé. La suppression de l'axe hypothalamo-hypophysaire par les glucocorticoïdes semble donc se situer au niveau pituitaire. Plusieurs autres études semblent soutenir cette hypothèse (Dussault, 1974; Benker et coll., 1990). Par contre, une étude publiée par Brabant et coll. en 1987 suggère que la suppression de l'axe hypothalamo-hypophysaire se ferait plutôt au niveau de l'hypothalamus. En effet, suite à l'administration intraveineuse de deux doses de dexaméthasone, la sécrétion pulsatile de TSH était abolie pendant six heures, ce qui suggère une inhibition supra-hypophysaire.

Bien que la plupart des études rapportent une diminution de la TSH suite à l'administration de glucocorticoïdes, Rubello et coll. en 1992 rapportent que suite à l'administration intraveineuse pendant une heure d'hydrocortisone chez 20 humains normaux, la concentration en TSH n'était pas affectée. Dans la même étude, les effets d'une augmentation chronique du cortisol endogène entraînaient une diminution significative de la TSH.

Il est essentiel de noter que les effets des glucocorticoïdes sur la fonction thyroïdienne dépendent largement de la forme chimique utilisée et de la voie ainsi que de la durée d'administration (Torres et coll., 1991). Ceci peut rendre la comparaison entre les résultats de différentes études plus difficile.

4.2. Les effets des glucocorticoïdes sur la fonction thyroïdienne chez le chien

L'administration de glucocorticoïdes perturbe le métabolisme périphérique des hormones thyroïdiennes chez le chien. Plus précisément, ils augmentent la liaison des hormones thyroïdiennes à leurs protéines de transport, diminuent la conversion périphérique de T4 en T3 et entraînent aussi une production augmentée de rT3 (Kaptein et coll., 1992; Laurberg et Boye, 1984). Ceci se manifeste par une diminution des concentrations en T4T et en T4L et une augmentation de la rT3 (Laurberg et Boye, 1984; Torres et coll., 1991; Kaptein et coll., 1992).

Quoique plusieurs études rapportent les effets des glucocorticoïdes endogènes ou exogènes sur la fonction thyroïdienne canine, mis à part une communication courte (Wojciechowski, 1997), aucune étude n'a rapporté les effets des glucocorticoïdes sur la TSH. Ceci est dû au fait que des méthodes de dosages de la TSH n'ont été mises au point que récemment chez le chien, ce qui limitait beaucoup les études sur la fonction thyroïdienne chez cette espèce (Nachreiner et coll., 1995; Williams et coll., 1996). La physiologie de l'axe hypothalamo-hypophysaire du chien a donc été étudiée principalement indirectement

par des dosages d'hormones thyroïdiennes suite à des stimulation à la TRH (Moore et coll., 1993; Kemppainen et coll., 1983). La mise au point de techniques de dosage pour la TSH va donc sans aucun doute permettre une exploration nouvelle de l'axe hypothalamo-hypophysaire du chien.

4.3. Les effets du phénobarbital sur la fonction thyroïdienne

Le phénobarbital est l'anticonvulsivant de choix pour le traitement de maintien des problèmes de convulsions chez le chien (Farnbach, 1984; Chrisman, 1995). Chez l'humain et le rat, le phénobarbital diminue la fonction thyroïdienne en augmentant la clearance des hormones thyroïdiennes (Surks et Stievert, 1995; Barter et Klaassen, 1994). Plus précisément, le phénobarbital induit les enzymes du système microsomial hépatique, entraînant une augmentation de l'excrétion biliaire des hormones thyroïdiennes et une baisse de leur concentration sérique (Curran et Degroot, 1991). La plupart des études chez le rat montrent que, en compensation, les concentrations sériques de TSH augmentent (McClain et coll., 1989; De Sandro et coll., 1991; Attia et Aref, 1991; Johnson et coll., 1993; Barter et Klaassen, 1994). De plus, chez le rat, la magnitude de l'induction des enzymes du système microsomial hépatique ainsi que la diminution des concentrations sériques en T4T, semblent liées à la dose de phénobarbital administrée (Liu et coll., 1995). La majorité des études chez l'homme ne rapportent pas d'effets significatif du phénobarbital sur les concentrations sériques de T4T ou de TSH, et les effets du phénobarbital sur la glande

thyroïde semblent donc plus légers chez l'humain que chez le rat (Verma et Haidukewych, 1994; Ohnhaus et coll., 1981; Curran et Degroot, 1991; Gomez et coll., 1989; Deda et coll., 1992).

En médecine vétérinaire, le phénobarbital est souvent cité comme un médicament qui peut potentiellement affecter la fonction thyroïdienne et entraîner une baisse des concentrations sériques en T4 (Chastain et Panciera, 1995; Feldman et Nelson, 1996). Cependant, aucune étude supportant cette hypothèse n'est disponible, et il s'agit donc probablement d'une extrapolation de la littérature disponible pour d'autres espèces.

CHAPITRE DEUXIEME

ARTICLE

Influence of prednisone and phenobarbital on thyroid
function in euthyroid dogs

Sylvie Daminet, DMV; Manon Paradis, DMV, MSc;

Christopher Price, PhD

From the Département de sciences cliniques (Daminet, Paradis) and the Centre de recherche en reproduction animale (Price), Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, C.P. 5000, Saint-Hyacinthe (Québec) J2S 7C6.

Supported in part by the “Fonds du Centenaire”, of the Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, and by Idexx laboratories.

This report represents a portion of a thesis submitted by the senior author in partial fulfillment of the requirements for the MSc.

Objective-To evaluate the effects of prednisone and phenobarbital on serum total thyroxine (tT4), free thyroxine (fT4) and thyroid-stimulating hormone (TSH) in dogs.

Animals-26 clinically normal beagle dogs, aged between 2 and 3 years. Body weight ranged from 8.6 to 16.4 kg.

Procedure-The dogs were randomly divided into 3 groups. Group 1 (n=8) received a placebo, group 2 (n=9) received phenobarbital (30 to 45 mg PO q 12 hours) and group 3 (n=9) was given prednisone (15 mg PO q 12 hours), for 3 weeks. Blood samples taken over a 6 week period were assayed for tT4, fT4 and TSH.

Results-After 1 week of treatment, tT4 concentrations were significantly lower in the prednisone compared to control group (12 ± 6 and 28.1 ± 11.2 nmol/L, respectively; $P < 0.05$). At 3 weeks, tT4 and fT4 were significantly decreased in the prednisone group (tT4: 15.8 ± 6 and 38.3 ± 12.4 nmol/L respectively; fT4: 19.7 ± 9.4 and 31.4 ± 9.9 pmol/L, respectively; $P < 0.05$). Phenobarbital did not significantly affect tT4 or fT4 values. Treatments did not affect TSH concentrations at any time.

Conclusions and clinical relevance-Three weeks of phenobarbital therapy in our study did not affect serum tT4, fT4 or TSH concentrations, therefore routine tT4 assays may be adequate to detect thyroid disease in dogs given phenobarbital. Prednisone therapy, however, significantly decreased tT4 and fT4, but did not affect TSH. Serum TSH concentrations thus seem to be more reliable than tT4 or fT4 for assessing thyroid function in dogs receiving prednisone.

INTRODUCTION

The measurement of serum concentrations of total thyroxine (tT4) is frequently used to assess thyroid function in dogs. Serum tT4 concentrations are influenced by many factors, including daily fluctuations, severe non-thyroidal diseases, obesity and certain drugs.^{1,3} Because of these influences, the measurement of a basal tT4 concentration is frequently unreliable to assess thyroid function in dogs. Theoretically, free thyroxine (fT4) concentrations should be less subject to these variations.⁴ The most reliable assay for fT4 is by equilibrium dialysis which is difficult and not readily available.⁵ Until recently, the easiest and most reliable test to evaluate canine thyroid function was the thyroid-stimulating hormone (TSH) stimulation test. However, bovine TSH used to perform this test is no longer commercially available. Recently, methods to evaluate canine endogenous TSH have become available and seem promising for accurate assessment of canine thyroid function.⁶⁻⁹

Several drugs have been shown to alter thyroid function in humans, rats and dogs.^{2,10} Drugs frequently used in canine practice and known to alter thyroid function in man and rats, include glucocorticoids and phenobarbital. Studies performed with humans and rats have demonstrated that endogenous or exogenous glucocorticoids directly inhibit the hypothalamic-pituitary-thyroid axis and also influence peripheral metabolism of thyroid hormones.¹¹⁻¹⁴ Although several studies in dogs report the effects of exogenous or

endogenous glucocorticoids on tT4, fT4, and triiodothyronine (T3), their effects on endogenous TSH are unknown.¹⁵⁻¹⁹

In humans and rats, phenobarbital induces the hepatic microsomal system, leading to increased biliary excretion of thyroid hormones and decreased serum concentrations of thyroid hormones.¹⁰ Other studies in rats show that in compensation for this decrease, TSH levels increase.^{20,21} In veterinary medicine, phenobarbital is often listed as a drug that can potentially decrease canine tT4 levels,^{1,2} but to our knowledge, there are no studies available on the effects of phenobarbital on thyroid function in dogs.

The objective of this study was to evaluate the influence of oral prednisone and phenobarbital on canine thyroid function, and in particular on serum TSH concentrations.

MATERIALS AND METHODS

Dogs-Twenty-six sexually intact adult beagle dogs (11 females, 15 males; 2 to 3 years old), were assessed as healthy based on results of physical examination, complete blood count and biochemical profile. Body weight ranged from 8.6 to 16.4 kg. The dogs were randomly divided into 3 groups. Group 1 consisted of 8 dogs, 3 females and 5 males. Group 2 contained 9 dogs, 4 females and 5 males. Group 3 consisted of 9 dogs, 4 females and 5 males. All dogs were housed indoors, in 6 runs containing 4 to 5 dogs each. A one-week acclimation period was allowed before starting the experiment. Environmental conditions such as photoperiod (12 hours on, 12 hours off), ventilation, temperature and humidity, were kept constant throughout the study. The dogs were fed a standard commercial

maintenance pellet diet twice daily and water was available ad libitum.

Experimental protocol-Dogs in group 1 received a placebo^a (100 mg PO q 12 hours) for 3 weeks. Dogs in group 2 were given prednisone^b (15 mg PO q 12 hours) for 3 weeks. Dogs in group 3 were given phenobarbital^c (30 to 45 mg PO q 12 hours) for 3 weeks. Monitoring was continued for 6 weeks, with the treatments administered during the first 3 weeks of the study.

Blood samples (18 ml) were taken by jugular venipuncture before initiating therapy (T0), at 48 hours, and after 1, 3, 4, 5 and 6 weeks. All blood samples were taken between 8 and 9 AM. Blood samples were immediately centrifuged and serum was frozen in 4 aliquots at -20 °C until assayed.

The protocol was approved by the Ethics Committee of the Faculté de médecine vétérinaire of the University of Montreal, and procedures were performed in accordance with the Canadian Council on Animal Care.

Assays for tT4, fT4 and TSH-Assays for tT4, fT4 and TSH were performed on all samples. Total thyroxine concentrations were determined using a commercially available solid-phase radioimmunoassay^d previously validated for the dog^e. The intra- and inter-assay coefficients of variation were 5.6 and 4 % respectively. The limit of detection was 3 nmol/L. Free thyroxine concentrations were determined using an equilibrium dialysis technique^f, validated for the dog at the Endocrinology Animal Health Diagnostic Laboratory of Michigan State University^g. The intra- and inter-assay coefficients of

variation were 10.4 and 13.2 % respectively. Serum TSH concentrations were determined using a commercially available solid-phase radioimmunoassay^h recently validated in the dog.⁷ Our intra-assay coefficient of variation was 7 % for samples with a TSH concentration below 1 ng/ml, and 0.8 % for samples with a TSH concentration above 1 ng/ml. Our inter-assay coefficient of variation was 7 % for samples with a mean TSH concentration of 3 ng/ml, and 26 % for samples with a mean TSH concentration of 0.11 ng/ml. Dilutional parallelism was respected. Spiking yielded a recovery ranging from 102 to 121 %. The limit of detection was 0.03 ng/ml.

Serum phenobarbital concentrations-Serum concentrations of phenobarbital were determined for dogs in group 2, in samples from week 1 and 3, using an enzymatic techniqueⁱ at a commercial laboratory^j.

Serum progesterone concentrations-Serum progesterone concentrations were determined on the T0 samples from the 11 female dogs using a commercially available solid-phase radioimmunoassay^k previously validated in the dog.²² The limit of detection was 0.02 ng/ml.

Data analysis- Data were analyzed using an analysis of variance for repeated measures. A Dunnet's procedure was used to compare the groups at each time period. Results were considered significant at $P < 0.05$.

RESULTS

Total thyroxine concentrations-There was a significant effect of time on tT4 concentrations in the control and the prednisone groups (Fig 1, $P < 0.05$). As there was an effect of time on tT4 concentrations in the control group, analysis was restricted to comparison of the 3 groups at each time period. After 1 and 3 weeks of treatment, tT4 concentrations were significantly lower in the prednisone group compared to the control group (week 1; 12 ± 6 nmol/L and 28.1 ± 11.2 nmol/L, respectively; week 3; 15.8 ± 6 nmol/L and 38.3 ± 12.4 , respectively). Two weeks after the cessation of therapy, a mild increase was noted in the tT4 values of the prednisone group, although this was not statistically significant. Phenobarbital therapy did not significantly affect tT4 values at any time (Fig 1).

Free thyroxine concentrations-There was a significant effect of time on fT4 concentrations in the control and the prednisone groups (Fig 2, $P < 0.05$). A significant decrease in fT4 concentrations was found at 3 weeks in the prednisone group when compared to the control group (19.7 ± 9.4 pmol/L and 31.4 ± 9.9 pmol/L, respectively). Two weeks after the cessation of therapy, a slight increase was noted in the fT4 concentrations of the prednisone group, although this was not statistically significant. Phenobarbital did not significantly affect the fT4 concentrations at any time (Fig 2).

Serum TSH concentrations-There was a significant effect of time on TSH concentrations

in all 3 groups (Fig 3, $P < 0.05$). There were no significant differences between groups at any time. All concentrations for TSH levels were within the normal reference range throughout the study (< 0.7 ng/ml).

Serum phenobarbital concentrations-Measurement of serum phenobarbital concentrations after one week of therapy, revealed that the recommended therapeutic level of phenobarbital (65 to 175 $\mu\text{mol/L}$) was obtained in 6 out of 9 dogs.²³ Most dogs had serum concentrations towards the lower end of the therapeutic range (mean \pm SD, 71.4 ± 13.2 $\mu\text{mol/L}$). The dosage of phenobarbital was increased by 50 % in all dogs for the next 2 weeks. Serum phenobarbital after 3 weeks of therapy were again at the lower end of the therapeutic range (mean \pm SD, 67.4 ± 16.9 $\mu\text{mol/L}$). There was no correlation between serum phenobarbital levels and serum concentrations of tT4, fT4 or TSH. Side effects from phenobarbital administration such as ataxia or lethargy were not noticed.

Serum progesterone concentrations-Serum progesterone levels at T0 were less than 0.5 ng/ml in 7 bitches. In 4 bitches, the progesterone levels ranged from 30.1 to 38.4 ng/ml.

DISCUSSION

The effects of prednisone on canine endogenous TSH and effects of phenobarbital on thyroid function in dogs are unknown. We studied the effects of 3 weeks of oral administration of prednisone or phenobarbital on thyroid function, and in particular on TSH,

in beagle dogs.

In our study, prednisone given at an immunosuppressive dosage significantly suppressed tT4 at 1 and 3 weeks and fT4 levels after 3 weeks of therapy. This finding is in agreement with a previous study,¹⁵ but contrasts with another.¹⁸ Torres et al, reported a decrease in canine tT4 and fT4 levels 24 hours and 3 weeks after initiating oral prednisone therapy at an immunosuppressive dosage. However, serum thyrotropin concentrations were not determined in this study and fT4 concentrations were not assayed by equilibrium dialysis which is now considered the most reliable technique to determine fT4 levels.^{5,24,25} Moore et al later reported that one month of oral prednisone did not affect basal tT4 levels in normal dogs but a lower anti-inflammatory dose of prednisone was used. The effects of glucocorticoids have been previously documented to be dependent on the dosage, route of administration, duration of treatment and chemical form used.^{15,26}

In the present study, serum TSH concentrations were not significantly affected by prednisone administered orally at an immunosuppressive dosage during a 3 week period. In contrast, in humans, endogenous TSH concentrations were decreased by exogenous or endogenous glucocorticoids in several studies.^{11,12,27-30} It is possible that a suppression of TSH secretion in dogs is less easily detected, compared to humans, because euthyroid dogs have TSH concentrations very close to the limit of detection of the current assay. However, the absence of an increase in serum TSH concentrations despite decreased serum thyroid hormone levels in euthyroid dogs receiving prednisone suggests that the measurement of TSH concentrations in euthyroid dogs receiving prednisone is a more reliable tool than is tT4 to evaluate thyroid function. In the clinic, TSH measurement is

frequently used in combination with tT4 or fT4 to evaluate thyroid function in dogs.⁸ Further studies to assess the effects of glucocorticoids on hypothyroid dogs with high TSH levels are needed.

The mechanism of action of glucocorticoids on thyroid function appears complex, with suppression of TSH release reported in humans^{12-14,27,31-33} and rats,^{32,33} and disturbed T3 and T4 partition, clearance rates and metabolism reported in humans,^{13,34} in rats and dogs.^{15-17,26} Our study was not designed to determine the mechanism of action of glucocorticoids on thyroid function.

Another commonly used drug that may affect thyroid function is phenobarbital. In rats, phenobarbital increases biliary thyroid hormone excretion, which decreases serum tT4 levels with normal or most often increased TSH levels.^{20,21,35-39} In dogs, however there are no studies on the effects of phenobarbital on thyroid function, but by extrapolation, phenobarbital is often listed as a drug that can possibly affect canine thyroid function.^{1,2} Surprisingly, in our study, phenobarbital did not significantly affect tT4, fT4 or TSH concentrations. Interestingly, most studies in rats report decreased levels of tT4 and increased levels of TSH, but the dose administered to these rats were extremely high (100 mg/kg/day) and serum levels of phenobarbital were not determined.^{20,21,35} Hepatic enzyme induction and decreased concentrations of tT4 in rats receiving phenobarbital are dose-related.³⁶ Most studies in humans report no significant changes of tT4 and TSH levels in epileptic patients taking phenobarbital.^{10,40-43} Dosages of phenobarbital administered to human patients range from 1 to 5 mg/kg/day, a dose similar to the initial recommended dosage for phenobarbital in dogs.

In the present study, serum phenobarbital concentrations after one week of treatment were at the lower end of the therapeutic range in our group 2 dogs. As the elimination half-life of phenobarbital in beagles is much shorter than in other breeds, serum steady-state concentrations should be achieved after 1 week, instead of 2 to 3 weeks.⁴⁴⁻⁴⁶ To reach higher therapeutic concentrations, the initial dosage of phenobarbital was increased by 50 % in all dogs of group 2 for the next 2 weeks. Doses given to group 2 dogs during weeks 2 and 3, ranged from 2.8 to 5.2 mg/kg PO q 12 hours (usual recommended initial dose ranges from 1 to 2.5 mg/kg PO q 12 hours). Despite these higher doses of phenobarbital, serum concentrations of phenobarbital were somewhat lower than expected. Our results suggest that short term administration of phenobarbital, at antiepileptic dosages, does not affect thyroid function in dogs.

There was a significant effect of time on tT4, fT4 and TSH concentrations in the control group. Several factors can influence basal tT4, and less severely fT4 concentrations in dogs.³ Factors such as photoperiod, humidity, ambient temperature and body weight were constant throughout the experiment, making them unlikely to be responsible for the variation of the hormone concentrations in the control group. Also, a one-week acclimation period was respected before starting the experiment. It has been reported that in females, increased progesterone levels can increase tT4 levels.⁴⁷ The majority of the females in our study (7/11), were in anestrus based on low serum progesterone concentrations at the start of the study and the absence of clinical signs compatible with proestrus and estrus throughout the study. Furthermore, the tendency toward increased concentrations of tT4 after 1 and 3 weeks of treatment was noted in both the female and

the male dogs of the control group, and each group contained 1 or 2 females with higher progesterone concentrations. Statistical analysis to assess an effect of sex was not performed as groups would have been too small.

In conclusion, oral prednisone administered at immunosuppressive dosages significantly suppressed tT4 and fT4 concentrations, but did not affect TSH concentrations. Measure of endogenous TSH seems to be a more reliable tool than tT4 or fT4 levels to evaluate thyroid function in dogs receiving prednisone therapy. Phenobarbital administered to dogs for a 3 week period did not significantly alter thyroid function.

^aLactulose, Odan Ltee Laboratories, Montreal, Quebec, Canada.

^bPrednisone, Apotex inc., Weston, Ontario, Canada.

^cPhenobarbital, Parke-Davis, Scarborough, Ontario, Canada.

^dCoat-A-Count canine T4, Diagnostic Products Corp, Los Angeles, CA.

^eN. Pagé: Evaluation de la thyroxine libre pré et post TSH chez des chiens euthyroïdiens souffrant de maladies systémiques. MSc Theses. Université de Montréal, Canada.

^fFree thyroxine by equilibrium dialysis, Nichols Institute Diagnostics, San Juan Capistrano, CA.

^gPersonnal communication Dr K. Refsal, Endocrinology Animal Health Diagnostic Laboratory of Michigan State University.

^hCoat-A-Count canine TSH IRMA, Diagnostic Products Corp, Los Angeles, CA.

ⁱCedia Phenobarbital, Boehringer Manheim Corporation, Indianapolis, IN.

^jVita-Tech, Ontario, Canada.

^kCoat-A-Count P4, Diagnostic Products Corp, Los Angeles, CA.

The authors wish to acknowledge Dr S. Ihle for reviewing this manuscript, the Endocrinology Animal Health Diagnostic Laboratory of Michigan State University for performing our fT4 measurements, and Manon Sicotte for technical assistance.

References

1. Chastain C, Panciera D. Hypothyroid diseases. In: Ettinger SJ. and Feldman EC. eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine* 4th ed. vol 2. Philadelphia: WB Saunders, 1995;1487-1500.
2. Feldman EC, Nelson RW. Hypothyroidism: canine hypothyroidism. In: *Canine and feline endocrinology and reproduction* 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996;68-111.
3. Ferguson DC. The effects of nonthyroidal factors on thyroid function tests in dogs. *Comp Cont Educ* 1988;10:1365-1377.
4. Ferguson DC. Free thyroid hormone measurements in the diagnosis of thyroid disease. In: Bonagura JD. ed. *Kirk's Current Veterinary Therapy XII* Philadelphia: WB Saunders, 1995;360-364.
5. Montgomery T, Nelson R, Ferguson D, et al. Comparison of five analog RIAs for free thyroxine in dogs. *J Vet Int Med* 1991;5:128.

6. Nachreiner RF, Forsberg M, Johnson CA, Refsal KR. Validation of an assay for canine TSH (cTSH). *J Vet Int Med* 1995;9:184.

7. Williams DA, Scott-Moncrieff JC, Bruner J, et al. Validation of an immunoassay for canine thyroid-stimulating hormone and changes in serum concentration following induction of hypothyroidism in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1996;209:1730-1732.
8. Melian C, Peterson ME, Nichols CE. Evaluation of free T4 and endogenous TSH as diagnostic tests for hypothyroidism in dogs. *J Vet Int Med* 1997;11:120.
9. Dixon RM, Graham PA, Harvie J, Mooney CT. Comparison of endogenous serum thyrotropin (cTSH) concentrations with bovine TSH response test results in euthyroid and hypothyroid dogs. *J Vet Int Med* 1997;11:121.
10. Curran PG, Degroot LJ. The effect of hepatic enzyme-inducing drugs on thyroid hormones and the thyroid gland. *Endocr rev* 1991;12:135-150.
11. Rubello D, Sonino N, Casara D, et al. Acute and chronic effects of high glucocorticoid levels on hypothalamic-pituitary-thyroid axis in man. *J endocrinol invest* 1992;15:437-441.
12. Samuels MH, Luther M, Henry P, et al. Effects of hydrocortisone on pulsatile pituitary glycoprotein secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:211-215.
13. Surks MI, Stievert R. Drugs and thyroid function. *New Engl J Med* 1995;333:1688-1694.

14. Hangaard J, Andersen M, Grodum E, et al. Pulsatile thyrotropin secretion in patients with Addison's disease during variable glucocorticoid therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81: 2502-2507.
15. Torres S, McKeever PJ, Johnston SD. Effects of oral administration of prednisolone on thyroid function in dogs. *Am J Vet Res* 1991;52:416-421.
16. Kaptein EM, Moore GE, Ferguson DC, et al. Effects of prednisone on thyroxine and 3, 5, 3'-triiodothyronine metabolism in normal dogs. *Endocrinology* 1992;130:1669-1679.
17. Peterson ME, Ferguson DC, Kintzer PP, et al. Effects of spontaneous hyperadrenocorticism on serum thyroid hormone concentrations in the dog. *Am J Vet Res* 1984;45:2034-2038.
18. Moore GE, Ferguson DC, Hoenig M. Effects of oral administration of antiinflammatory doses of prednisone on thyroid hormone response to thyrotropin-releasing hormone and thyrotropin in clinically normal dogs. *Am J Vet Res* 1993;54:130-135.
19. Ferguson DC, Peterson ME. Serum free and total iodothyronine concentrations in dogs with hyperadrenocorticism. *Am J Vet Res* 1992;53:1636-1640.
20. McClain M, Levin AA, Posch R, et al. The effect of phenobarbital on the metabolism

- and excretion of thyroxine in rats. *Toxicol appl pharmacol* 1989;99:216-228.
21. De Sandro V, Chevrier M, Boddaert A, et al. Comparison of the effects of propylthiouracil, amiodarone, diphenylhydantoin, phenobarbital, and 3-methylcholanthrene on hepatic and renal T4 metabolism and thyroid gland function in rats. *Toxicol appl pharmacol* 1991;111:263-278.
22. Srikanthakumar A, Ingraham RM, Ellsworth M, et al. Comparison of a solid-phase, no-extraction radioimmunoassay for progesterone with an extraction assay for monitoring luteal function in the mare, bitch and cow. *Theriogenol* 1986;26:779-793.
23. Dayrell-Hart B, Steinberg SA, Van Winkle TJ, et al. Hepatotoxicity of phenobarbital in dogs: 18 cases (1985-1989). *J Am Vet Med Assoc* 1991;199:1060-1066.
24. Wolfsheimer KJ, Brady C, et al. Thyroid testing in dogs. *Canine Pract* 1995;20:12-16.
25. Ferguson D. Thyroid function tests in the dog: recent concepts. *Vet Clin North Am (Small Anim Pract)* 1984;14:783-808.
-
26. Woltz HH, Thompson FN, Kemppainen RJ, et al. Effects of prednisone on thyroid gland morphology and plasma thyroxine and triiodothyronine concentrations in the dog. *Am J Vet Res* 1983;44:2000-2003.

27. Re RN, Kourides IA, Ridgeway EC, et al. The effects of glucocorticoid administration on human pituitary secretion of thyrotropin and prolactin. *J Clin Endocrinol Metab* 1976;43:338-346.
28. Benker G, Raida M, Olbricht T, et al. TSH secretion in cushing's syndrome: relation to glucocorticoid excess, diabetes, goitre, and the "sick euthyroid syndrome". *Clin endocrinol* 1990;33:777-786.
29. Azukizawa M, Mori S, Ohta H, et al. Effects of a single dose of glucocorticoid on the diurnal variations of TSH, 3,5,3'-triiodothyronine, 3,3',5'-triiodothyronine and cortisol in normal men. *Endocrinol Japon* 1979;26:719-723.
30. Dussault JH. The effects of dexamethasone on TSH and prolactin secretion after TRH stimulation. *Can Med Assoc J* 1974;111:1195-1197.
31. Brabant G, Brabant A, Ranft U, et al. Circadian and pulsatile thyrotropin secretion in euthyroid man under the influence of thyroid hormone and glucocorticoid administration. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;65:83-88.
-
32. Ahlquist JAO, Franlyn JA, Ramsden DB, et al. The influence of dexamethasone on serum thyrotrophin and thyrotrophin synthesis in the rat. *Mol Cell Endocrinol* 1989;64:55-61.

33. Ranta T. Effect of dexamethasone on the secretion of thyrotropin in the rat: dose and time relations. *Endocrinology* 1975;96:1566-1570.
34. Degroot LJ, Hoyer K. Dexamethasone suppression of serum T3 and T4. *J Clin Endocrinol Metab* 1976;42:976-978.
35. Theodoropoulos TJ, Zolman JC. Effects of phenobarbital on hypothalamic-pituitary-thyroid axis in the rat. *Am J Med Sci* 1989;297:224-227.
36. Liu J, Liu Y, Barter RA, Klaassen CD. Alteration of thyroid homeostasis by UDP-glucuronosyltransferase inducers in rats: a dose-response study. *J Pharmacol Exp Ther* 1995;273:977-985.
37. Attia MA, Aref H. Hepatic microsomal enzyme induction and thyroid function in rats treated with high doses of phenobarbital or chlorpromazine. *Dtsch Tierarzt Wschr* 1991;98:205-244.
38. Johnson S, McKillop D, Miller J, et al. The effects on rat thyroid function of an hepatic microsomal enzyme inducer. *Hum Experiment Toxicol* 1993;12:153-158.
39. Barter RA, Klaassen CD. Reduction of thyroid hormone levels and alteration on thyroid function by four representative UDP-glucuronosyltransferase inducers in rats. *Toxicol Appl*

Pharmacol 1994;128:9-17.

40. Verma NP, Haidukewych D. Differential but infrequent alterations of hepatic enzyme levels and thyroid hormone levels by anticonvulsivant drugs. *Arch Neurol* 1994;51:381-384.

41. Ohnhaus EE, Bürgi H, Burger A, et al. The effects of antipyrine, phenobarbitol and rifampicin on thyroid hormone metabolism in man. *Eur J Clin Invest* 1981;11:381-387.

42. Gomez JM, Cardesin R, Virgili N, et al. Estudio de los parámetros de función tiroidea y de la TSH en pacientes tratados con fármacos anticonvulsionantes. *An Med Intern (Madrid)* 1989;6: 235-238.

43. Deda G, Akinci A, Teziç T, et al. Effects of anticonvulsivant drugs on thyroid hormones in epileptic children. *Turk J Pediatr* 1992;34:239-244.

44. Frey HH, Löscher W. Pharmacokinetics of anti-epileptic drugs in the dog: a review. *J Vet Pharmacol Therap* 1985;8:219-233.

45. Frey HH. Anticonvulsivant drugs used in the treatment of epilepsy. In: Indrieri R. ed. *Problems in Veterinary Medicine, epilepsy* 1989;1: 558-577.

46. Al-Tahan F, Frey HH. Absorption kinetics and bioavailability of phenobarbital after oral administration to dogs. *J Vet Pharmacol Therap* 1985;8:205-207.
47. Reimers TJ, Mummery LK, Mc Cann JP, et al. Effects of reproductive state on concentrations of thyroxine, 3,5,3'-triiodothyronine and cortisol in serum of dogs. *Biol Reprod* 1984;31:148-154.
-

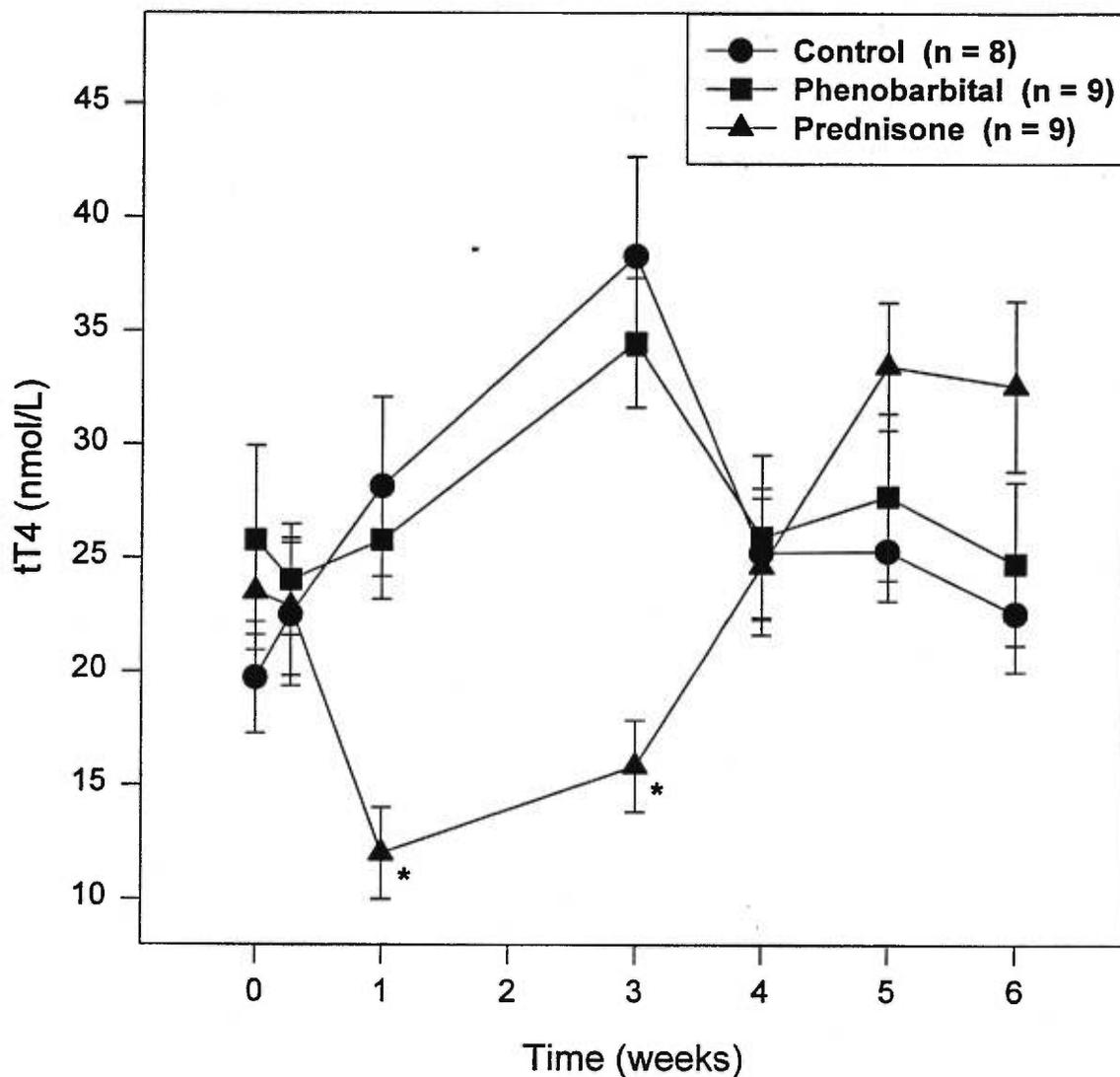


Fig 1-Mean (\pm SEM) tT4 concentrations in beagle dogs during and after placebo, prednisone (15 mg PO q 12 hours) or phenobarbital (30 to 45 mg PO q 12 hours) administration. Medications were administered during the first 3 weeks of the experiment.

*=significantly different from control group ($P < 0.05$).

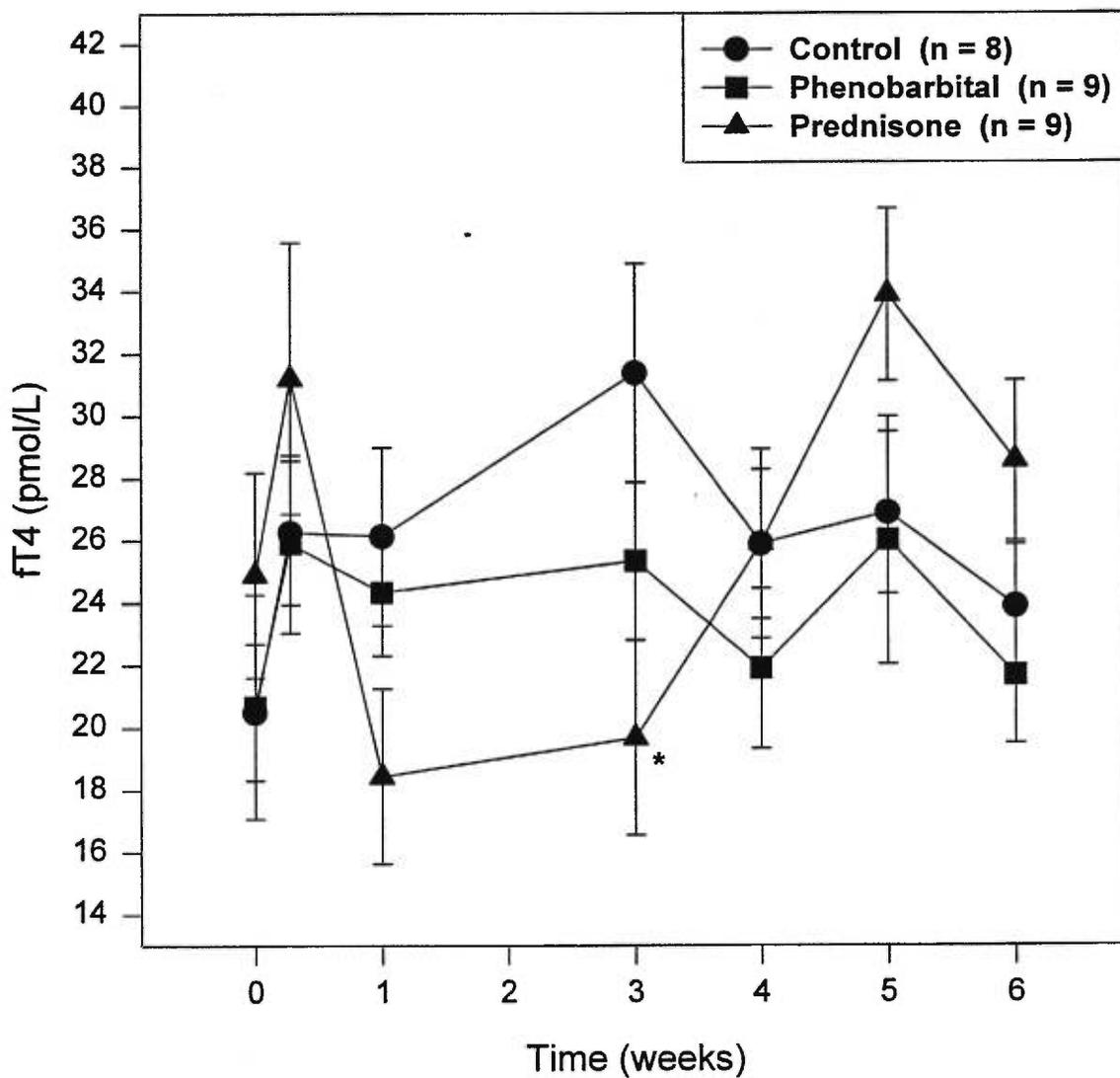


Fig 2-Mean (\pm SEM) fT4 concentrations in beagle dogs during and after placebo, prednisone (15 mg PO q 12 hours) or phenobarbital (30 to 45 mg PO q 12 hours) administration. Medications were administered during the first 3 weeks of the experiment.

*=significantly different from control group ($P < 0.05$).

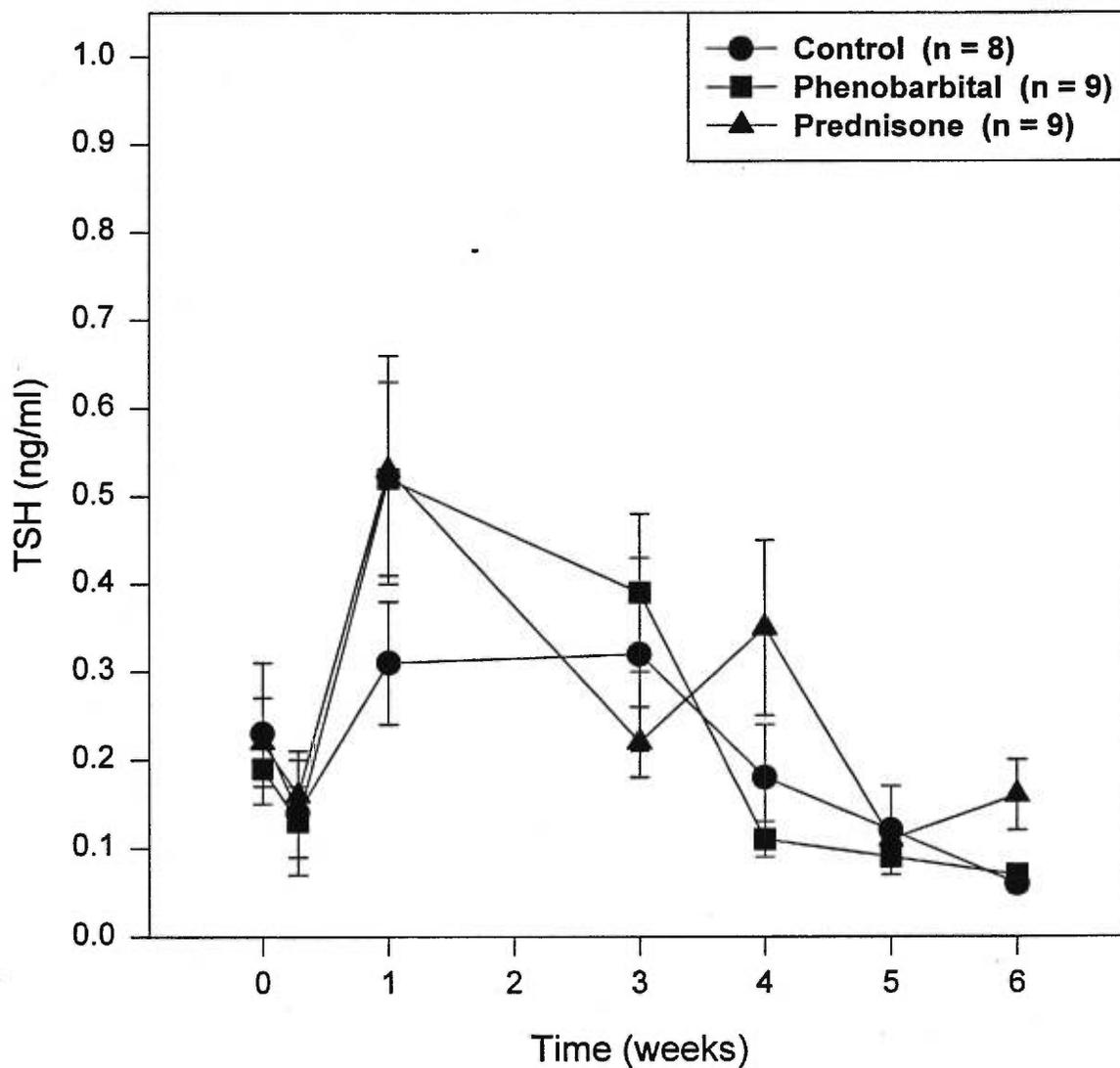


Fig 3-Mean (\pm SEM) TSH concentrations in beagle dogs during and after placebo, prednisone (15 mg PO q 12 hours) or phenobarbital (30 to 45 mg PO q 12 hours) administration. Medications were administered during the first 3 weeks of the experiment ($P < 0.05$).

CHAPITRE TROISIEME
DISCUSSION ET CONCLUSION

1. Validation de la trousse commerciale pour le dosage de la TSH endogène canine

Pour le dosage des concentrations sériques de TSH, nous avons utilisés la trousse commerciale de la firme DPC (Coat-A-Count TSH IRMA, Los Angeles, Ca). Cette trousse, nouvellement utilisée par le laboratoire de biochimie de la Faculté de médecine vétérinaire de St-Hyacinthe, a été validée en rapport avec notre projet. Pour ce faire, nous avons calculés les coefficients de variation inter- et intra- assay, vérifié le parallélisme et la récupération ("spiking recovery"). L'absence de réaction croisée avec d'autres glycoprotéines telles que la FSH et la LH a été vérifié par la compagnie. Le coefficient de variation (CV) intra-assay était de 3 %. Le CV inter-assay était de 18.9 %. Il est important de noter que pour des échantillons ayant une concentration moyenne en TSH de 0.2 ng/ml, le CV inter-assay était de 29 %, alors que pour des échantillons ayant une moyenne de 2.8 ng/ml, le CV était de 8.3 %. Les échantillons provenant de chiens euthyroïdiens contiennent donc des concentrations en TSH se trouvant dans l'extrémité de la courbe standard, là où plus de variation dans les dosages est prévisible. Le parallélisme, vérifié en diluant 4 fois un échantillon contenant une concentration élevée en TSH (5.5 ng/ml), était respecté. La récupération, testée en ajoutant des quantités connues de TSH à des sérums canins, était de 102 à 121 %. A la lumière de ces résultats, la trousse était considérée adéquate pour l'utilisation dans notre projet, quoiqu'une variation assez grande pouvait être attendue lorsque des concentrations en TSH dans les limites des valeurs de référence de la firme étaient analysées.

2. Effets de la prednisone sur la fonction thyroïdienne canine

Dans notre étude, la prednisone administrée à dose immunosuppressive a significativement diminué les valeurs de T4T après 1 et 3 semaines de traitement, ainsi que les valeurs de T4L après 3 semaines de traitement. Ces résultats sont en accord avec des résultats préalablement obtenus par Torres et coll. en 1991 mais contrastent avec une autre étude (Moore et coll., 1993). Torres et coll. rapportent que l'administration orale de prednisone à dose immunosuppressive diminue significativement les valeurs de T4T et de T4L, et ce, 24 heures et 3 semaines après l'initiation du traitement. Toutefois, les concentrations en TSH n'étaient pas disponibles et les valeurs de T4L n'étaient pas déterminées par dialyse à l'équilibre, qui est maintenant considérée comme étant la technique la plus fiable pour mesurer la T4L canine (Wolfsheimer et Brady, 1995; Ferguson, 1984; Montgomery et coll., 1991). Plus tard, Moore et coll. rapportent que l'administration orale de prednisone pendant un mois n'affecte pas les valeurs de T4T, mais une dose plus faible, antiinflammatoire était administrée. Les effets des glucocorticoïdes sont dépendants de la dose administrée, la voie d'administration, la durée du traitement et de la forme chimique utilisée (Torres et coll., 1991; Woltz et coll., 1983). Ceci rend la comparaison entre les différentes études plus difficile.

Dans notre étude, les concentrations sériques de la TSH n'étaient pas affectées de façon significative par l'administration orale de prednisone pendant 3 semaines. Par contre, chez l'humain, les glucocorticoïdes exogènes ou endogènes diminuent les concentrations en TSH (Rubello et coll., 1992; Re et coll., 1976; Benker et coll., 1990; Azukizawa et coll.,

1979; Samuels et coll., 1994; Dussault, 1974). Il est possible qu'une diminution des concentrations en TSH soit plus difficilement détectée chez le chien parce que les chiens euthyroïdiens ont des concentrations en TSH très proches de la limite de détection de la trousse disponible. Par contre, l'absence d'augmentation de TSH malgré la diminution des concentrations en T4T, chez des chiens euthyroïdiens recevant de la prednisone suggère que le dosage de la TSH sérique est un outil plus fiable pour évaluer leur fonction thyroïdienne que le dosage de la T4T. En clinique, la mesure de la TSH endogène est fréquemment utilisée en combinaison avec une mesure de T4T ou idéalement de T4L pour évaluer la fonction thyroïdienne (Melian et coll., 1997). La baisse observée des concentrations sériques en T4T face aux concentrations normales en TSH pourrait également suggérer que la prednisone n'a pas suffisamment supprimé la T4 pour signaler le besoin d'une augmentation en TSH, ou encore que la prednisone a supprimé la capacité de l'hypophyse à reconnaître la diminution de T4T.

D'autres études explorant les effets des glucocorticoïdes sur les niveaux de TSH de chiens hypothyroïdiens sont nécessaires. En effet, puisque les chiens euthyroïdiens ont des valeurs de TSH proches de la limite de détection de la trousse disponible, une diminution éventuelle de la TSH suite à l'administration de glucocorticoïdes serait plus facilement détectée chez des chiens hypothyroïdiens ayant des concentrations en TSH élevées. D'un point de vue clinique, notre étude a montré qu'un chien euthyroïdien recevant de la prednisone et ayant des valeurs de T4 diminuées, ce qui suggère l'hypothyroïdie, n'aura pas l'augmentation de TSH attendue chez un chien hypothyroïdien. Par contre, les concentrations élevées de TSH d'un chien hypothyroïdien pourraient-elles être diminuées

suffisamment, par l'administration de glucocorticoïdes pour masquer l'hypothyroïdie? La mise au point d'un test plus sensible pour le dosage de la TSH endogène est également indispensable pour mieux investiguer l'axe hypothalamo-hypophysaire-thyroïdien du chien, en particulier chez le chien euthyroïdien et également pour mieux comprendre le mécanisme d'action des glucocorticoïdes sur la fonction thyroïdienne canine.

Le mécanisme d'action des glucocorticoïdes semble complexe, avec une diminution de la libération de TSH rapportée chez l'humain (Hangaard et coll., 1996; Re et coll., 1976; Samuels et coll., 1994; Brabant et coll., 1987; Surks et Stievert, 1995) et le rat (Ahlquist et coll., 1989; Ranta, 1975), et une perturbation du métabolisme périphérique de la T4 et de la T3 rapportée chez l'humain (Degroot et Hoye, 1976; Surks et Stievert, 1995), le chien et le rat (Torres et coll., 1991; Kaptein et coll., 1992; Woltz et coll., 1983; Peterson et coll., 1984). Notre étude n'a pas été conçue pour déterminer le mécanisme d'action des glucocorticoïdes sur la fonction thyroïdienne canine.

3. Effets du phénobarbital sur la fonction thyroïdienne canine

Le deuxième médicament étudié dans notre projet et fréquemment utilisé en pratique canine, est le phénobarbital. Chez le rat, le phénobarbital augmente l'excrétion biliaire des hormones thyroïdiennes, ce qui entraîne une baisse des concentrations sériques d'hormones thyroïdiennes accompagné d'une hausse des valeurs de TSH dans la plupart des études (Theodoropoulos et Zolman, 1989; Liu et coll., 1995; McClain et coll., 1989; Attia et Aref, 1991; De Sandro et coll., 1991; Johnson et coll., 1993; Barter et Klaassen, 1994). Chez le

chien, le phénobarbital est souvent cité comme pouvant potentiellement affecter la fonction thyroïdienne canine, quoique, aucune étude n'ait été publiée à ce sujet (Chrisman, 1995; Feldman et Nelson, 1996). Étonnement, le phénobarbital, n'a pas affecté les concentrations sériques de T4T, T4L ni de TSH de façon significative dans notre étude. Les études chez le rat ont révélé un effet très marqué du phénobarbital sur la fonction thyroïdienne, mais les doses utilisées étaient très élevées (100 mg/kg/jour) et les niveaux sériques de phénobarbital n'ont pas été déterminés (Theodoropoulos et Zolman, 1989; McClain et coll., 1989; De Sandro et coll., 1991). Chez le rat, l'importance de l'induction des enzymes hépatiques et de la diminution des concentrations en T4T sont reliés à la dose de phénobarbital administrée (Liu et coll., 1995). La plupart des études chez l'humain ne montrent pas de changements significatifs des concentrations en T4T et en TSH chez des patients épileptiques traités au phénobarbital (Verma et Haidukewych, 1994; Ohnhaus et coll., 1981; Curran et Degroot, 1991; Gomez et coll., 1989; Deda et coll., 1992). Les dosages de phénobarbital utilisés pour des patients humains varient de 1 à 5 mg/kg/jour, une dose similaire à celle recommandée pour le traitement des convulsions chez le chien.

Dans notre étude, les niveaux sériques de phénobarbital obtenus après 1 semaine de traitement étaient à la limite inférieure des niveaux sériques thérapeutiques recommandés. Puisque la demi-vie du phénobarbital chez les chiens de race Beagle est plus courte que chez les chiens d'autres races, le niveau sérique thérapeutique est obtenu plus rapidement, soit après 1 semaine de traitement au lieu de 2 à 3 semaines (Frey, 1989; Al-Tahan et Frey, 1985; Frey et Löscher, 1985). Après une semaine de traitement au phénobarbital, la dose initiale de phénobarbital fut augmentée de 50 % pour tous les chiens, afin d'atteindre des niveaux

sériques de phénobarbital plus élevés. Les doses administrées durant la deuxième et la troisième semaine variaient de 2.8 à 5.2 mg/kg PO aux 12 heures. La dose initiale recommandée de phénobarbital chez le chien est de 1 à 2.5 mg/kg aux 12 heures. Malgré l'augmentation de dosage de phénobarbital, les niveaux sériques obtenus après 3 semaines étaient un peu inférieurs aux niveaux attendus, quoique dans les limites des concentrations thérapeutiques recommandées. Nos résultats suggèrent que l'administration à court terme de phénobarbital n'affecte pas la fonction thyroïdienne canine de façon significative. D'autres études évaluant les effets du phénobarbital sur la fonction thyroïdienne canine à plus long terme s'imposent.

4. Variations des concentrations en hormones thyroïdiennes dans le groupe contrôle

Nous avons observé un effet significatif du temps sur les valeurs de T4T, T4L et TSH dans le groupe contrôle. Plusieurs facteurs peuvent influencer les valeurs de T4T de base, et dans une moindre mesure, les valeurs de T4L (Ferguson, 1984). Les facteurs environnementaux tels que la photopériode, l'humidité, la température ambiante et le poids corporel, ont été maintenus constants durant toute la durée du projet et sont donc probablement pas responsables des variations observées dans la concentration en hormones thyroïdiennes. Avant le début du projet, une semaine d'acclimatation a été respectée. La possibilité d'un effet de sexe a également été envisagée pour tenter d'expliquer nos observations dans le groupe contrôle. Chez les chiennes, des concentrations élevées en progestérone peuvent entraîner une augmentation des concentrations de T4T (Reimers et

coll., 1984). La majorité des femelles dans notre étude (7 sur 11), étaient en anestrus selon les faibles concentrations sériques de progestérone au début de l'étude et l'absence de signes cliniques compatibles avec le proestrus ou l'estrus durant l'étude. De plus, la tendance vers des concentrations augmentées en T4T après 1 et 3 semaines de traitement a été notée aussi bien chez les mâles que chez les femelles du groupe contrôle, et chaque groupe contenait une ou 2 femelles avec des concentrations en T4T plus élevées. Une analyse statistique pour évaluer la possibilité d'un effet de sexe n'a pas été faite à cause du nombre restreint de chiens qu'aurait contenu chaque groupe.

A cause de l'effet du temps sur le groupe contrôle, l'analyse statistique a été limitée à la comparaison des moyennes des valeurs de T4T, T4L et TSH, des 3 groupes à chaque temps.

5. Critiques du projet

Les chiens euthyroïdiens ont des valeurs de TSH se trouvant dans l'extrémité de la courbe standard, proche de la limite de détection de la TSH. De plus, le nombre de chiens dans chaque groupe était petit. Pour ces 2 raisons, une baisse des concentrations en TSH aurait pu ne pas être détectée suite à l'administration de prednisone. Par contre, nous pouvons conclure avec confiance que la prednisone entraîne une baisse des concentrations en T4T, mais sans une hausse significative des concentrations en TSH. La mise au point dans le futur d'un test plus sensible pour le dosage de la TSH permettrait une meilleure détection de petites variations de concentrations en TSH.

Il est possible que, tout comme la TSH humaine, la sécrétion de la TSH canine soit pulsatile. Cette éventuelle sécrétion pulsatile pourrait expliquer la grande variabilité observée dans les concentrations de TSH des chiens euthyroïdiens. Des études évaluant si la sécrétion de la TSH canine est pulsatile s'imposent.

Le dosage oral de prednisone administré aux chiens variait de 1 à 2 mg/kg. Quoique ces dosages soient immunosuppresseurs, il eût probablement été préférable d'adapter le dosage selon le poids de chaque chien.

Le phénobarbital dans notre étude n'a pas semblé affecter la fonction thyroïdienne des chiens de race Beagle. Comme les chiens de race Beagle ne représentent qu'un petit pourcentage des chiens examinés dans une clinique, et qu'ils métabolisent le phénobarbital différemment des autres races (Frey, 1989; Al-Tahan et Frey, 1985; Frey et Löscher, 1985), il aurait été préférable de travailler avec des chiens d'autres races. Par contre, pour pallier à ce métabolisme rapide, nous avons déterminé les concentrations sériques de phénobarbital afin de nous assurer que les niveaux sériques thérapeutiques étaient bien atteints.

Après 1 et 3 semaines de traitement, les concentrations sériques en TSH semblaient un peu plus élevées dans le groupe phénobarbital. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour tenter d'expliquer cette tendance non significative. La taille de l'échantillon était petite, le dosage de phénobarbital n'était pas suffisant, ou le traitement n'était pas assez long. Le manque de sensibilité de la trousse utilisée pour doser la TSH pourrait également être responsable de la non détection d'une petite élévation en TSH.

6. Conclusion

En conclusion, l'administration orale de prednisone à dose immunosuppressive pendant une période de 3 semaines a significativement supprimé les concentrations sériques de T4T et de T4L, mais n'a pas affecté les valeurs de TSH. La mesure de la TSH endogène semble donc être un meilleur outil pour évaluer la fonction thyroïdienne chez des chiens recevant de la prednisone. Le phénobarbital administré à des dosages menant à l'obtention de niveaux sériques thérapeutiques, n'a pas affecté la fonction thyroïdienne canine de façon significative.

Bibliographie

Ahlquist JAO, Franlyn JA, Ramsden DB, Sheppard MC: The influence of dexamethasone on serum thyrotrophin and thyrotrophin synthesis in the rat. *Mol Cell Endocrinol*, 1989; 64: 55-61.

Al-Tahan F, Frey HH: Absorption kinetics and bioavailability of phenobarbital after oral administration to dogs. *J Vet Pharmacol Ther*, 1985; 8: 205-207.

Arvan P, Kim PS, Kuliawat R, Prabakaran D, Muresan Z, Yoo SE, Abu-Hossain S: Intracellular protein transport to the thyrocyte plasma membrane: potential implications for thyroid physiology. *Thyroid*, 1997; 7 (1): 89-105.

Astrup A, Buemann B, Toubro S, Ranneries C, Raben A: Low resting metabolic rate in subjects predisposed to obesity: a role for thyroid status. *Am J Clin Nutr*, 1996; 63 (6): 879-883.

Attia MA, Aref H: Hepatic microsomal enzyme induction and thyroid function in rats treated with high doses of phenobarbital or chlorpromazine. *Dtsch Tierarzt Wschr*, 1991; 98: 205-244.

Azukizawa M, Mori S, Ohta H, Matsumura S, Yoshimoto H, Uozumi T, Miyai K, Kumahara Y: Effects of a single dose of glucocorticoid on the diurnal variations of TSH, 3,5,3'-triiodothyronine, 3,3',5'-triiodothyronine and cortisol in normal men. *Endocrinol Japon*, 1979; 26 (6): 719-723.

Bartalena L: Recent achievements in studies on thyroid hormone-binding proteins. *Endocr rev*, 1990; 11 (1): 47-64.

Barter RA, Klaassen CD: Reduction of thyroid hormone levels and alteration on thyroid function by four representative UDP-glucuronosyltransferase inducers in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1994; 128: 9-17.

Beale KM, Keisling K, Forster-Blouin S: Serum thyroid hormone concentrations and thyrotropin responsiveness in dogs with generalized dermatologic disease. *J Am Vet Med Assoc*, 1992; 201: 1715-1719.

Belshaw BE, Rijnberk A: Radioimmunoassay of plasma T4 and T3 in the diagnosis of primary hypothyroidism in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc*, 1979; 15: 17-23.

Benker G, Raida M, Olbricht T, Wagner R, Reinhardt W, Reinwein D: TSH secretion in cushing's syndrome: relation to glucocorticoid excess, diabetes, goitre, and the "sick euthyroid syndrome". *Clin Endocrinol*, 1990; 33: 777-786.

Book SA: Age related changes in serum thyroxine and ¹²⁵I-triiodothyronine resin sponge uptake in the young dog. *Lab Anim Sci*, 1977; 27: 646-650.

Brabant G, Brabant A, Ranft U, Ocran K, Köhrle J, Hesch RD, von zur Mühlen A: Circadian and pulsatile thyrotropin secretion in euthyroid man under the influence of thyroid hormone and glucocorticoid administration. *J Clin Endocrinol Metab*, 1987; 65: 83-88.

Brabant G, Prank K, Hoang-Vu C, Hesch D, von zur Mühlen A: Hypothalamic regulation of pulsatile thyrotropin secretion. *J Clin Endocrinol Metab*, 1991; 72: 145-150.

Bruner JM, Scott-Moncrief C, Williams DA: Diurnal variations of serum canine thyroid stimulating hormone (cTSH) in euthyroid, hypothyroid, and thyroxine-supplemented dogs. *J Vet Int Med*, 1996; 10: 184.

Capen CC: Mechanism of chemical injury of thyroid gland. *Prog Clin Biol Res*, 1994; 387, 173-191 .

Cavalieri RR: Iodine metabolism and thyroid physiology: current concepts. *Thyroid*, 1997; 7 (2): 177-181.

Chastain C: Human stimulating hormone radioimmunoassay in the dog. *J Am Anim Hosp Assoc*, 1978; 14: 368-369.

Chastain C and Panciera D: Hypothyroid diseases. In: Ettinger SJ and Feldman EC eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 4th ed. vol 2. Philadelphia: WB Saunders, 1995; 1487-1500.

Chin WW, Carr FE, Burnside J, Darling DS: Thyroid hormone regulation of thyrotropin gene expression. *Recent Prog Horm Res*, 1993; 48: 393-414.

Chrisman CL: Seizures. In: Ettinger SJ and Feldman EC eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 4th ed. vol 2. Philadelphia: WB Saunders, 1995; 152-156.

Cunningham JG: Endocrine glands and their function: the thyroid gland. In: Cunningham JG ed. *Textbook of Veterinary Physiology*. Philadelphia: WB Saunders, 1992; 388-396.

Curran PG, Degroot LJ: The effect of hepatic enzyme-inducing drugs on thyroid hormones and the thyroid gland. *Endocr Rev*, 1991; 12: 135-150.

Deda G, Akinci A, Teziç, karagol U: Effects of anticonvulsivant drugs on thyroid hormones in epileptic children. *Turk J Pediatr*, 1992; 34: 239-244.

De Feo P: Hormonal regulation of human protein metabolism. *Eur J Endocrinol*, 1996; 135 (1): 7-18.

Degroot LJ, Hoye K: Dexamethasone suppression of serum T3 and T4. *J Clin Endocrinol Metab*, 1976; 42: 976-978.

De Sandro V, Chevrier M, Boddaert A, Melcion C, Cordier A, Richert L: Comparison of the effects of propylthiouracil, amiodarone, diphenylhydantoin, phenobarbital, and 3-methylcholanthrene on hepatic and renal T4 metabolism and thyroid gland function in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1991; 111: 263-278.

Dixon RM, Graham PA, Harvie J, Mooney CT: Comparison of endogenous serum thyrotropin (cTSH) concentrations with bovine TSH response test results in euthyroid and hypothyroid dogs. *J Vet Int Med*, 1997; 11: 121.

Doctor R, Krenning EP, de Jong M, Hennemann G: The sick euthyroid syndrome: changes in thyroid hormone serum parameters and hormone metabolism. *Clin Endocrinol*, 1993; 39: 499-518.

Dunn JT: Thyroglobulin, hormone synthesis and thyroid disease. *Eur J Endocrinol*, 1995; 132(5): 603-604.

Dussault JH: The effects of dexamethasone on TSH and prolactin secretion after TRH stimulation. *Can Med Assoc J*, 1974; 111: 1195-1197.

Elliot DA, King LG, Zerbe CA: Thyroid hormone concentrations in critically ill canine intensive care patients. *J Vet Emerg Crit Care*, 1995; 5: 17-23.

Farnbach GC: Serum concentrations and efficacy of phenytoin, phenobarbital, and primidone in canine epilepsy. *J Am Vet Med Assoc*, 1984; 184 (9): 1117-1120.

Feldman EC, Nelson RW: Hypothyroidism. In: *Canine and feline endocrinology and reproduction* 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996; 68-117.

Ferguson DC: Thyroid function tests in the dog. *Vet Clin North Am: Sm Anim Pract* 14: 783, 1984.

Ferguson DC: The effects of nonthyroidal factors on thyroid function tests in dogs. *Comp Cont Educ*, 1988; 10: 1365-1377.

Ferguson DC, Peterson ME: Serum free and total iodothyronine concentrations in dogs with hyperadrenocorticism. *Am J Vet Res*, 1992; 53 (9): 1636-1640.

Ferguson DC: Free thyroid hormone measurements in the diagnosis of thyroid disease. In: Bonagura JD. ed. *Kirk's Current Veterinary Therapy XII* Philadelphia: WB Saunders, 1995; 360-364.

Ferguson DC: Euthyroid sick syndrome. *Canine Pract*, 1997; 22 (1): 49-51.

Fossati P, Fontaine P: Conséquences endocrines et métaboliques des obésités massives. *Rev Prat*, 1993; 43 (15): 1935-1939.

Frank LA: Comparison of thyrotropin-releasing hormone (TRH) to thyrotropin (TSH) stimulation for evaluating thyroid function in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc*, 1996; 32 (6): 481-487.

Freake HC: Thermogenesis and thyroid function. *Ann Rev Nutr*, 1995; 15: 263-291.

Frey HH, Löscher W: Pharmacokinetics of anti-epileptic drugs in the dog: a review. *J Vet Pharmacol Therap*, 1985; 8: 219-233.

Frey HH: Anticonvulsivant drugs used in the treatment of epilepsy. In: Indrieri R. ed. *Problems in Veterinary Medicine, epilepsy*, vol 1, n4, 1989; 558-577.

Fukuda H, Greer MA, Roberts L: Nyctohemeral and sex-related variations in plasma thyrotropin, thyroxine, and triiodothyronine. *Endocrinology*, 1975; 97: 1424-1431.

Fukuhara K, Kvetnansky R, Cizza G, Pacak K, Ohara H, Goldstein DS, Kopin IJ: Interrelations between sympathoadrenal system and hypothalamo-pituitary-adrenocortical/thyroid systems in rats exposed to cold stress. *J Neuroendocrinol*, 1996; 8 (7): 533-541.

Furth ED, Becker DV, Nunez EA, Reid CF: Thyroxine metabolism in the dog. *Endocrinology*, 1968; 82: 976-982.

Gamstedt A, Jarnerot B, Kagedal: Dose related effects of betamethasone on iodothyronines and thyroid hormone-binding proteins in serum. *Acta Endocrinol*, 1981; 96: 484-490.

Gaschen F, Thompson J, Beale K, Keisling K: Recognition of triiodothyronine-containing epitopes in canine thyroglobulin by circulating thyroglobulin autoantibodies. *Am J Vet Res*, 1993; 54: 244-247.

Gaughan KR, Bruyette DS, Jordan FR: Comparison of thyroid function teststing in non-Greyhound pet dogs and racing Greyhounds. *J Vet Int Med*, 1996; 10: 186.

Gomez JM, Cardesin R, Virgili N, Moreno I, Navarro MA, Montaña E: Estudio de los parámetros de función tiroidea y de la TSH en pacientes tratados con fármacos

anticonvulsiantes. *An Med Intern (Madrid)*, 1989; 6 (5): 235-238.

Gosselin SJ, Capen CC, Martin SL, Targowski SP: Biochemical and immunological investigation on hypothyroidism in dogs. *Can J Comp Med*, 1980; 44: 158-168.

Greco DS: Pediatric endocrinology. In: Bonagura JD. ed. *Kirk's Current Veterinary Therapy XII Philadelphia: WB Saunders*, 1995; 346-351.

Guyton AC: The thyroid metabolic hormones. In: Guyton AC ed. *Textbook of Medical Physiology*, 8th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1991; 831-841.

Guzzaloni G, Grugni G, Moro D, Cal'ò G, Tonelli E, Ardizzi A, Morabito F: Thyroid-stimulating hormone and prolactin responses to thyrotropin-releasing hormone in juvenile obesity before and after hypocaloric diet. *J Endocrinol Invest*, 1995; 18 (8): 621-629.

Haines DM: Survey of thyroglobulin autoantibodies in dogs. *Am J Vet Res*, 1984; 45: 1493-1498.

Hangaard J, Andersen M, Grodum E, Koldjaer O, Hagen C: Pulsatile thyrotropin secretion in patients with Addison's disease during variable glucocorticoid therapy. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996; 81 (7): 2502-2507.

Ingenbleek Y, Young V: Transthyretin (prealbumin) in health and disease: nutritional implications. *Annu Rev Nutr*, 1994; 14: 495-533.

Johnson S, McKillop D, Miller J, Smith IK: The effects on rat thyroid function of an hepatic microsomal enzyme inducer. *Hum Experiment Toxicol*, 1993; 12: 153-158.

Josko J: Liberation of thyrotropin, thyroxine and triiodothyronine in the controllable and uncontrollable stress and after administration of naloxone in rats. *J Physiol Pharmacol*, 1996; 47 (2): 303-310.

Kaplan MM, Larsen PR, Crantz FR, Dzau VJ, Rossing TH, Haddow JE: Prevalence of abnormal thyroid function test results in patients with acute medical illnesses. *Am J Med*, 1982; 72: 9-16.

Kaptein EM, Macintyre SS, Weiner JM, Spencer CA, Nicoloff JT: Free thyroxine estimates in nonthyroidal illness: comparison of eight methods. *J Clin Endocrinol Metabolism*, 1981; 52 (6): 1073-1077.

Kaptein EM, Robinson WJ, Grieb DA: Peripheral serum thyroxine, triiodothyronine and reverse triiodothyronine kinetics in the low thyroxine state of acute nonthyroidal illnesses. *J Clin Invest*, 1982; 69: 526-535.

Kaptein EM, Hoopes MT, Ferguson DC, Satyadi EC, Akmal M: Comparison of reverse triiodothyronine distribution and metabolism in normal dogs and humans. *Endocrinology*, 1990; 126: 2003-2014.

Kaptein EM, Moore GE, Ferguson DC, Hoenig M: Effects of prednisone on thyroxine and 3, 5, 3'-triiodothyronine metabolism in normal dogs. *Endocrinology*, 1992; 130: 1669-1679.

Kaptein EM, Moore GE, Ferguson DC, Hoenig M: Thyroxine and triiodothyronine distribution and metabolism in thyroxine-replaced athyreotic dogs and normal humans. *Am J Phys*, 1993; 264 (Endocrinol Metab 27): E90-E100.

Karsch FJ, Dahl GE, Hachigian TM, Thrun LA: Involvement of thyroid-hormones in seasonal reproduction. *J reprod Fertil Suppl*, 1995; 49: 409-422.

Kemppainen RJ, Thompson FN, Lorenz MD, Munnell JF, Chakraborty PK: Effects of prednisone on thyroid and gonadal endocrine function in dogs. *J Endocrinol*, 1983; 96: 293-302.

Kemppainen RJ, Sartin JL: Evidence for episodic but not circadian activity in plasma concentrations of adrenocorticotrophin, cortisol and thyroxine in dogs. *J endocrin*, 1984; 103: 219-226.

Kieffer JD, Mover H, Frederico P: Pituitary-thyroid axis in neonatal and adult rats: comparison of sexes. *Endocrinology*, 1976, 98: 295-304.

Kintzer PP, Peterson ME: Thyroid scintigraphy in small animals. *Sem Vet Med Surg (small animals)*, 1991; 6 (2): 131-139.

Larsen PR, Silva JE, Kaplan MM: Relationships between circulating and intracellular thyroid hormones: physiological and clinical implications. *Endocr Rev*, 1981; 2(1): 87-102.

Larsen PR and Ingbar SH: The thyroid gland. In: Wilson JD and Foster DW eds. *William's Textbook of Endocrinology*, 8th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1992; 358-413.

Larsson M, Pettersson T, Carlstrom A: Thyroid hormone binding in serum of 15 vertebrate species: isolation of thyroxine-binding globulin and prealbumin analogs. *Gen Comp Endocrinol*, 1985; 58: 360-375.

Laurberg P, Boye N: Propylthioracil, ipodate, dexamethasone and periods of fasting induce different variations in serum rT3 in dogs. *Metabolism*, 1984; 33: 323-325.

Leonard JL, Farwell AP: Thyroid hormone-regulated actin polymerisation in brain. *Thyroid*, 1997; 7 (1): 147-151.

Liu J, Liu Y, Barter RA, Klaassen CD: Alteration of thyroid homeostasis by UDP-glucuronosyltransferase inducers in rats: a dose-response study. *J Pharmacol Exp Ther*, 1995; 273 (2): 977-985.

Lothrop CD, Tamas PM, Fadok VA: Canine and feline thyroid function assessment with the TRH hormone response test. *Am J Vet Res*, 1984; 45: 2310-2313.

Marti O, Gavalda A, Jolin T, Armario A: Effects of regularity of exposure to chronic immobilization stress on the circadian pattern of pituitary adrenal hormones, growth hormone, and thyroid stimulating hormone in the adult male rat. *Psychoneuroendocrinol*, 1993; 18 (1): 67-77.

Marti O, Gavalda A, Jolin T, Armario A: Acute stress attenuates but does not abolish circadian rhythmicity of serum thyrotrophin and growth hormone in the rat. *Eur J Endocrinol*, 1996; 135 (6): 703-708.

McClain M, Levin AA, Posch R, Downing JC: The effect of phenobarbital on the metabolism and excretion of thyroxine in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1989; 99: 216-228.

McIver B, Gorman CA: Euthyroid sick syndrome: an overview. *Thyroid*, 1997; 7 (1): 125-132.

Melian C, Peterson ME, Nichols CE: Evaluation of free T4 and endogenous TSH as diagnostic tests for hypothyroidism in dogs. *J Vet Int Med*, 1997; 11: 120.

Miller AB, Nelson RW, Scott-Moncrief JC, Neal L, Bottoms GD: Serial thyroid hormone concentrations in healthy euthyroid dogs with hypothyroidism, and euthyroid dogs with atopic dermatitis. *Br Vet J*, 1992; 148: 451-458.

Mohr-Kahaly S, Kahaly G, Meyer J: Cardiovascular effects of thyroid hormones. *Z-Kardiol*, 1996; 85 suppl 6: 219-231.

Montgomery T, Nelson R, Ferguson D: Comparison of five analog RIAs for free thyroxine in dogs. *J Vet Int Med*, 1991; 5: 128.

Monty Jr DE, Wilson O, Stone JM: Thyroid studies in pregnant and newborn Beagles using ¹²⁵I. *Am J Vet Res*, 1979; 40: 1249-1256.

Moore GE, Ferguson DC, Hoenig M: Effects of oral administration of antiinflammatory doses of prednisone on thyroid hormone response to thyrotropin-releasing hormone and thyrotropin in clinically normal dogs. *Am J Vet Res*, 1993; 54 (1): 130-135.

Morley JE: Neuroendocrine control of thyrotropin secretion. *Endocr Rev*, 1981; 2 (4): 396-435.

Munari SY: Les jonctions gap dans la glande thyroïde: distribution, régulation, fonction. *Ann Endocrinol Paris*, 1996; 57(6): 484-486.

Nachreiner RF, Refsal KR, Thacker EL, Brown TR: Incidence of T3 and T4 autoantibodies in dogs using a sensitive binding assay. *J Vet Int Med*, 1990; 4: 114.

Nachreiner RF, Forsberg M, Johnson CA, Refsal KR: Validation of an assay for canine TSH (cTSH). *J Vet Int Med*, 1995; 9: 184.

Nakamura M, Ohtaki S: Molecular mechanism of thyroid hormone synthesis. *Nippon Rinsho*, 1994; 52 (4): 857-863.

Nelson RW, Ihle SL, Feldman EC, Bottoms GD: Serum free thyroxine concentration in

healthy dogs, dogs with hypothyroidism, and euthyroid dogs with concurrent illness. *J Am Vet Med Assoc*, 1991; 198 (8): 1401-1407.

Ness GC, Pendelton LC, Zhao Z: Thyroid hormone rapidly increases cholesterol 7 alpha-hydroxylase mRNA levels in hypophysectomized rats. *Biochim Biophys Acta*, 1994; 1214 (3): 229-233.

Ohnhaus EE, Bürgi H, Burger A, Studer H: The effects of antipyrine, phenobarbitol and rifampicin on thyroid hormone metabolism in man. *Eur J Clin Invest*, 1981; 11: 381-387.

Oppenheimer J, Werner S: Effects of prednisone on thyroxine-binding proteins. *J Clin Endocrinol Metab*, 1966; 26: 715-721.

Oppenheimer JH, Schwartz HL, Surks MI, koerner D, Dillmann WH: Nuclear receptors and the initiation of thyroid hormone action. *Recent Prog Horm Res*, 1976; 32: 529-535.

Opstad K: Circadian rhythm of hormones is extinguished during prolonged physical stress, sleep and energy deficiency in young men. *Eur J Endocrinol*, 1994; 131 (1): 56-66.

Palmblad J, Levi L, Burger A: Effect of total energy withdrawal (fasting) on the levels of growth hormone, thyrotropin, cortisol, adrenaline, noradrenaline, T4, T3, and rT3 in healthy males. *Acta Med Scand*, 1977; 201: 15-22.

Paradis M, Laperrière E, Larivière N: Effects of administration of a low dose of frozen thyrotropin on serum total thyroxine concentrations in clinically normal dogs. *Can Vet J*, 1994; 35: 367-370.

Paradis M, Pagé N, Larivière N, Fontaine M: Serum free thyroxine concentrations measured by chemiluminescence assay before and after thyrotropin administration in healthy dogs,

hypothyroid dogs and in euthyroid dogs with dermatopathies. *Can Vet J*, 1996; 37: 289-294.

Peillon F, Yuan-Li J, Croissandeau G, Schussler N: Physiologie de l'antéhypophyse. *Rev Prat*, 1996; 46 (12): 1466-1471.

Peterson ME, Ferguson DC, Kintzer PP, Drucker WD: Effects of spontaneous hyperadrenocorticism on serum thyroid hormone concentrations in the dog. *Am J Vet Res*, 1984; 45 (10): 2034-2038.

Polikar R, Burger AG, Scherrer U, Nicod P: The thyroid and the heart. *Circulation*, 1993; 87 (5): 1435-1441.

Rajatanavin R, Fang SL, Pino S, Laurberg P, Braverman LE, Smith M, Bullock LP: Thyroid hormone antibodies and hashimoto's thyroiditis in mongrel dogs. *Endocrinology*; 1989; 124 (5): 2535-2540.

Ranta T: Effect of dexamethasone on the secretion of thyrotropin in the rat: dose and time relations. *Endocrinology*, 1975; 96: 1566-1570.

Re RN, Kourides IA, Ridgeway EC, Weintraub BD, Maloof F: The effects of glucocorticoid administration on human pituitary secretion of thyrotropin and prolactin. *J Clin Endocrinol Metab*, 1976; 43: 338-346.

Reap M, Cass C, Hightower D: Thyroxine and triiodothyronine levels in ten species of animals. *Southwestern Vet*, 1978; 31: 31.

Reimers TJ, Mummery LK, Mc Cann JP, Cowan RG, Concannon PW: Effects of reproductive state on concentrations of thyroxine, 3,5,3'-triiodothyronine and cortisol in serum of dogs. *Biol Reproduc*, 1984; 31: 148-154.

Reimers TJ, McGarrity MS, Strickland D: Effect of fasting on thyroxine, 3,5,3'-triiodothyronine, and cortisol concentrations in serum of dogs. *Am J Vet Res*, 1986; 47 (12): 2485-2490.

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; 3: 454-457.

Righter SD: Time kinetics of the endocrine response to acute psychological stress. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996; 81 (5): 1956-1960.

Rooyackers OE: Hormonal regulation of human muscle protein metabolism. *Ann Rev Nutr*, 1997; 17: 457-485.

Rubello D, Sonino N, Casara D, Girelli ME, Busnardo B, Boscaro M: Acute and chronic effects of high glucocorticoid levels on hypothalamic-pituitary-thyroid axis in man. *J endocrinol invest*, 1992; 15: 437-441.

Samuels MH, Luther M, Henry P, Ridgeway EC: Effects of hydrocortisone on pulsatile pituitary glycoprotein secretion. *J Clin Endocrinol metab*, 1994; 78: 211-215.

Sapin R, Gasser F, Schlienger JL, Chambron J: Evaluation de la sensibilité d'une méthode de dosage: application à un dosage de thyrotropine (TSH) de troisième génération. *Path Biol*, 1993; 41 (6): 562-566.

Sauvé F, Paradis M, Daminet S: Evaluation de la fonction thyroïdienne chez des chiens de race Terre-neuve. *Méd Vét Québec*, 1997; 27 (2): 77-79.

Schlienger JL, Sapin R, Grunenberger F, Gasser F, Pradignac A: Le dosage de la thyrotropine par chimiluminescence dans le diagnostic d'une dysthyroïdie à thyrotropine abaissée et hormones thyroïdiennes normales. *Path Biol*, 1993; 41 (5): 463-468.

Scott-Moncrieff JC, Nelson RW, Bruner JM: Serum thyrotropin concentration (cTSH) in euthyroid, hypothyroid, and sick euthyroid dogs. *J Vet Int Med*, 1996; 10: 186.

Scriba PC, Bauer M, Emmert D: Effects of obesity, total fasting and re-alimentation on L-thyroxine (T4), 3,5,3'-L-triiodothyronine (T3), 3,3',5'-L-triiodothyronine (rT3), thyroxine binding globulin (TBG), cortisol, thyrotrophin, cortisol binding globulin (CBG), transferrin, α 2-haptoglobulin and complement C'3 in serum. *Acta endocrinol*, 1979; 91: 629-643.

Seth J, Kellett HA, Caldwell G, Sweeting VM, Beckett GJ, Gow SM, Toft AD: A sensitive immunoradiometric assay for serum thyroid stimulating hormone: a replacement for the thyrotropin releasing hormone test. *Brit Med J*, 1984; 289: 1334-1336.

Sparkes AH, Gruffydd-Jones TJ, Wotton PR: Assessment of dose and time responses to TRH and thyrotropin in healthy dogs. *J Sm Anim Pract*, 1995; 36: 245-251.

Surks MI, Hupart KH, Pan C, Shapiro LE: Normal free thyroxine in critical nonthyroidal illnesses measured by ultrafiltration by undiluted serum and equilibrium dialysis. *J Clin Endocrinol Metab*, 1988; 67: 1031-1039.

Surks MI, Chopra IJ, Mariash CN, Nicoloff JT, Solomon DH: American thyroid association guidelines for use of laboratory tests in thyroid disorders. *J Am Med Assoc*, 1990; 263 (11): 1529-1532.

Surks MI, Stievert R: Drugs and thyroid function. *New Engl J Med*, 1995; 333 (25): 1688-1694.

Thacker EL, Refsal KR, Bull RW: Prevalence of autoantibodies to thyroglobulin, thyroxine, or triiodothyronine and relationship of autoantibodies and serum concentrations of iodothyronines in dogs. *Am J Vet Res*, 1992; 53 (4): 449-453.

Theodoropoulos TJ, Zolman JC: Effects of phenobarbital on hypothalamic-pituitary-thyroid axis in the rat. *Am J Med Sci*, 1989; 297 (4): 224-227.

Torres SMF, McKeever PJ, Johnston SD: Effects of oral administration of prednisolone on thyroid function in dogs. *Am J Vet Res*, 1991; 52 (3): 416-421.

Umpleby AM, Russell-Jones DL: The hormonal control of protein metabolism. *Clin Endocrinol Metab*, 1996; 10 (4): 551-570.

Utiger RD: Evaluation of abnormal thyroid function tests. In WN Kelley ed. *Textbook of internal medicine*, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997.

van Haasteren GA, Linkels E, van Toor H, Klootwijk W, Kaptein E, de Jong FH, Reymond MJ, Visser TJ, de Greef WJ: Effects of long-term food reduction on the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in male and female rats. *J Endocrinol*, 1996; 150 (2): 169-178.

Verma NP, Haidukewych D: Differential but infrequent alterations of hepatic enzyme levels and thyroid hormone levels by anticonvulsivant drugs. *Arch Neurol*, 1994; 51: 381-384.

Vollset I, Larsen HJ: Occurence of autoantibodies against thyroglobulin in Norwegian dogs. *Acta Vet Scand*, 1987; 28: 65-71.

Wartofsky L, Burman KD: Alterations in thyroid function in patients with systemic illness: the "euthyroid sick syndrome". *Endocr Rev*, 1982; 3 (2): 164-175.

Weller RE, Apley GA, Schumacher RP, EL Wierman: Serum thyroid-stimulating hormone (TSH) concentration in euthyroid, hypothyroid and aged dogs. Proceedings of the 3rd annual veterinary medical forum, 1984; 31.

Wenzel KW. Pharmacological interference with in vitro tests of thyroid function. *Metabolism*, 1981; 30: 717-732.

Whitaker EM, Robinson AC, Rayfield KM, Hervey GR: Thyroid function in male zucker rats exposed to cold. *Quart J Exp Physiol*, 1988; 73: 1029-1031.

Wilber JF, Utiger RD: The effects of glucocorticoids on thyrotropin secretion. *J Clin Invest*, 1969; 48: 2096-2103.

Williams DA, Scott-Moncrieff JC, Bruner J, Sustarsic D, Panosian-Sahakian N, Unver E, El Shami A: Validation of an immunoassay for canine thyroid-stimulating hormone and changes in serum concentration following induction of hypothyroidism in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 1996; 209 (10): 1730-1732.

Wojciechowski J: The effects of oral administration of immunosuppressive doses of prednisone on thyroid function of normal dogs. Proceedings 13th AAVD/ACVD, 1997.

Wolfsheimer KJ, Brady C: Thyroid testing in dogs. *Canine Pract*, 1995; 20 (4): 12-16.

Woltz HH, Thompson FN, Kemppainen RJ, Munnell JF, Lorenz MD: Effects of prednisone on thyroid gland morphology and plasma thyroxine and triiodothyronine concentrations in the dog. *Am J Vet Res*, 1983; 44 (11): 2000-2003.

Young DW, Sartin JL, Kemppainen RJ: Abnormal canine triiodothyronine-binding factor characterized as a possible triiodothyronine autoantibody. *Am J Vet Res*, 1985; 46 (6): 1346-1350.