

2m11.3259.8

Université de Montréal

**ÉVALUATION DE LA THYRÉOTROPINE HUMAINE RECOMBINÉE, LORS D'UN
TEST DE STIMULATION À LA THYRÉOTROPINE, CHEZ DES CHIENS
EUTHYROÏDIENS, HYPOTHYROÏDIENS ET DES CHIENS ATTEINTS D'UNE
MALADIE SYSTÉMIQUE**

Par

LYANNE FIFLE

110612570

Département de sciences cliniques
Faculté de médecine vétérinaire

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

Avril 2004

© Lyanne Fifle, 2004



Direction des bibliothèques

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé

**ÉVALUATION DE LA THYRÉOTROPINE HUMAINE RECOMBINÉE, LORS D'UN
TEST DE STIMULATION À LA THYRÉOTROPINE, CHEZ DES CHIENS
EUTHYROÏDIENS, HYPOTHYROÏDIENS ET DES CHIENS ATTEINTS D'UNE
MALADIE SYSTÉMIQUE**

Présenté par
LYANNE FIFLE

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes :
Michel Desnoyers, président-rapporteur
Manon Paradis, directrice de recherche
Sylvie Daminet, codirectrice
Rocky DiFruscia, membre du jury

SOMMAIRE

Le test de stimulation à la thyrotropine (TSH) était considéré comme le test endocrinien le plus fiable pour le diagnostic de l'hypothyroïdie canine. Ce test était effectué à l'aide d'une source bovine de TSH de grade médical, qui n'est maintenant plus commercialisée. Une nouvelle source de TSH est maintenant disponible sur le marché pharmaceutique : la TSH humaine recombinée (TSHhr). L'objectif de cette étude clinique était d'évaluer l'efficacité de la TSHhr dans le test de stimulation à la TSH.

Phase I: des tests de stimulation à la TSH, utilisant 50 et 100 µg de TSHhr nouvellement reconstituée ont été effectués chez 6 chiens en santé et pesant plus de 20 kg.

Phase II : des tests de stimulation à la TSH, utilisant 100 µg de TSHhr congelée pour une période de 3 mois ont été effectués chez les 6 chiens de la phase I.

Phase III : des tests de stimulation à la TSH, utilisant 50 µg (chiens < 20kg) ou 100 µg (chiens ≥ 20 kg) de TSHhr nouvellement reconstituée ou congelée ont été effectués chez des chiens euthyroïdiens en santé (n=14), malades (n=11) et hypothyroïdiens (n=9).

Une dose de 100 µg de TSHhr a été jugée appropriée lors de stimulation à la TSH chez des chiens de 20 kg et plus, mais une dose de 50 µg a été utilisée pour les chiens de moins de 20 kg. La congélation à -20°C de la TSHhr n'a pas entraîné de réduction de l'efficacité biologique. Une augmentation significative de la concentration sérique de thyroxine totale (T4T) comparativement à la T4T de base a été observée suite à l'administration de TSHhr chez les chiens euthyroïdiens en santé et malades, contrairement à une absence d'élévation significative chez les chiens hypothyroïdiens.

Les résultats obtenus dans cette étude ont démontré que l'utilisation de la TSHhr lors d'un test de stimulation à la TSH chez le chien a été efficace et que ce test a permis de différencier l'euthyroïdie de l'hypothyroïdie canine.

Mots clés : hypothyroïdie, thyroïdite, diagnostique, canin, thyroïde

RESUME

Thyrotropin (TSH) stimulation testing is considered the gold standard test for the diagnosis of canine hypothyroidism. The medical grade of bovine TSH has historically been used, but is no longer available on the market. Since then, another pharmaceutical source of TSH has been available: the recombinant human TSH (rhTSH). The purpose of this clinical study was to evaluate the efficacy of rhTSH when performing a TSH response test for the assessment of canine thyroid function.

Phase I: TSH response tests were performed in 6 healthy dogs with body weights \geq 20 kg using 50 and then 100 μ g of freshly reconstituted rhTSH.

Phase II: TSH response tests were performed in the same 6 healthy dogs using 100 μ g rhTSH previously frozen at -20°C for 3 months.

Phase III: TSH response tests were performed using either 50 μ g (dogs $<$ 20 kg) or 100 μ g (dogs \geq 20kg) of newly reconstituted or frozen rhTSH in healthy (n=14), euthyroid sick (n=11) and hypothyroid dogs (n=9).

A dose of 100 μ g of rhTSH was arbitrary selected more appropriate for dogs weighing 20 kg or more, whereas a dose of 50 μ g was used for those of less than 20 kg. Freezing under -20°C was not associated with any loss of rhTSH biological activity. TSH response tests using rhTSH were associated with a significant increase of total thyroxine (TT4) concentration compared to baseline values in healthy and euthyroid sick dogs, but administration of rhTSH in hypothyroid dogs failed to produce any significant increases in serum TT4 concentration.

Results of this study suggest that rhTSH can be used for TSH stimulation in dogs, and that the test has the ability to differentiate canine hypothyroidism from euthyroidism.

Key words: hypothyroidism, thyrotropin, diagnosis, canine, thyroid

TABLE DES MATIÈRES

Sommaire	iii
Resume	v
Table des matières	vi
Liste des tableaux	x
Liste des figures	xii
Liste des sigles et abréviations	xiii
Introduction	1
<u>CHAPITRE PREMIER : REVUE DE LA LITTÉRATURE</u>	4
1. La glande thyroïde	5
1.1. Anatomie et histologie	5
1.2. Synthèse et sécrétion hormonales	5
1.3. Transport plasmatique des hormones thyroïdiennes	7
1.4. Métabolisme hormonal	8
1.5. Mécanismes d'action des hormones thyroïdiennes	9
2. L'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien	11
2.1. Anatomie et histologie	11
2.2. Homéostasie thyroïdienne	12
3. Facteurs affectant l'homéostasie thyroïdienne	13
3.1. Facteurs physiologiques	13
3.2. Facteurs pharmacologiques	15
3.3. Facteurs pathologiques	20
4. L'hypothyroïdie canine	23

4.1. Étiopathogénie	23
4.2. Signalement et incidence	25
4.3. Signes cliniques	26
4.4. Changements de laboratoire non-spécifiques	32
4.5. Traitement	33
5. Outils diagnostiques	35
5.1. Thyroxine totale (T4T)	35
5.2. Thyroxine libre (T4L)	36
5.3. Triiodothyronine (T3)	36
5.4. <i>Reverse</i> triiodothyronine (rT3)	37
5.5. Thyréotropine endogène canine (TSHc)	37
5.6. Test de stimulation à la TSH	39
5.7. Test de stimulation à la <i>thyrotropin releasing hormone</i> (TRH)	42
5.8. Anticorps contre les hormones thyroïdiennes et la thyroglobuline	42
5.9. Scintigraphie	44
5.10 Biopsie thyroïdienne	44
5.11 Essai thérapeutique	45
5.12 Résumé	45
6. La thyréotropine humaine recombinée (TSHhr)	46
6.1 Étude en médecine humaine	46
6.2 Étude en médecine vétérinaire	47

CHAPITRE DEUXIÈME : ARTICLE

49

Lyanne F, Paradis M, Daminet S, Moreau M: Use of recombinant human thyroid-stimulating hormone for thyrotropin stimulation test in euthyroid, hypothyroid and euthyroid-sick dogs.

Abstract	51
Résumé	52
Introduction	53
Materials and methods	55
Results	58
Discussion	62
References	67
Legend of tables	70
Table I	71
Table II	72
Table III	74
Legend of figures	75
Figure I	76
Figure II	77
Figure III	78

CHAPITRE TROISIÈME : DISCUSSION ET CONCLUSION

79

1. Discussion	80
1.1 Capacité diagnostique	80
1.2 Effet de la dose	82
1.3 Effet de la congélation	83
1.4 Effets secondaires	85
1.5 Comparaison avec la stimulation à la TSHb	85
1.6 Futur et intérêts	86

2. Conclusion

87

Bibliographie

88

LISTE DES TABLEAUX

Chapitre Premier

Tableau I :	Liste des produits pharmacologiques pouvant altérer la concentration sérique des hormones thyroïdiennes chez l'humain et possiblement chez le chien.	16
Tableau II :	Races canines prédisposées à développer l'hypothyroïdie.	26
Tableau III :	Signes cliniques ou syndromes rapportés lors d'hypothyroïdie canine.	27
Tableau IV :	Critères d'euthyroïdie et d'hypothyroïdie lors de stimulation à la TSHb chez le chien.	41
Tableau V :	Prévalence d'anticorps thyroïdiens de 16 250 sérums canins évalués pour la présence d'une maladie thyroïdienne.	43

Chapitre deuxième

Tableau I:	Serum TT ₄ concentration (nmol/L) of 6 healthy dogs at T0, T4 and T6 after IV administration of 50 and 100 µg of fresh rhTSH (phase I) and 100 µg of frozen rhTSH (phase II).	71
Tableau II:	Serum TT ₄ concentration (nmol/L) at baseline and after intravenous administration of 50-100 µg of rhTSH in 14 healthy, 11 euthyroid sick and 9 hypothyroid dogs.	72

Tableau III: Sensitivity and specificity according to criterion used to discern normal thyroid function using serum total thyroxine (TT₄) concentration at baseline and after intravenous administration of 50-100 µg of freshly reconstituted or frozen human recombinant thyroid-stimulating hormone (rhTSH) in healthy (group I, n=14), euthyroid sick (group II, n=11) and hypothyroid dogs (group III, n=9)

73

LISTE DES FIGURES**Chapitre deuxième**

- Figure 1: Mean serum TT₄ concentrations at baseline and after intravenous administration of two doses of recombinant human thyroid-stimulating hormone (rhTSH) in 6 healthy dogs. 68
- Figure 2: Mean serum TT₄ concentrations at baseline and after intravenous administration of 100 µg of freshly reconstituted and frozen recombinant human thyroid-stimulating hormone (rhTSH) in 6 healthy dogs. 69
- Figure 3: Mean serum TT₄ concentrations at baseline and after intravenous administration of 100 µg of freshly reconstituted or frozen recombinant human thyroid-stimulating hormone (rhTSH) in 14 healthy, 11 euthyroid sick and 9 hypothyroid dogs. 70

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

AATG	Anticorps anti-thyroglobuline
AINS	Antiinflammatoire non stéroïdien
ARF	Alopécie récidivante des flancs
DIT	Diiodothyrosine
ELISA	<i>Enzyme-linked immunoabsorbent assay</i>
ESS	<i>Euthyroid sick syndrome</i>
FSH	<i>Follicle-stimulating hormone</i>
HDL2	Lipoprotéine de haute densité type 2
IM	Intramusculaire
IV	Intraveineuse
KBr	Bromure de potassium
LDL	Lipoprotéine de faible densité
LH	<i>Lutenizing hormone</i>
MIT	Monoiodothyrosine
q12h	Aux 12 heures
RIA	<i>Radioimmunoassay</i>
rT3	<i>Reverse T3</i>
SC	Sous-cutanée
TSH	Thyréotropine
TSHb	Thyréotropine bovine
TSHc	Thyréotropine canine
TSHhr	Thyréotropine humaine recombinée
TRH	<i>Thyrotropin-releasing hormone</i>
T4	Thyroxine
T4L	Thyroxine libre
T4T	Thyroxine totale
TGB	<i>Thyroxine-Binding Globulin</i>
TBPA	<i>Thyroxine-binding pre-albumin</i>
T3	Triiodothyronine
T3L	Triiodothyronine libre
T3T	Triiodothyronine totale

INTRODUCTION

L'hypothyroïdie est la maladie endocrinienne canine la plus fréquente (Feldman et Nelson, 2004). Dans la majorité des cas, l'endocrinopathie est causée par une pathologie primaire, c'est-à-dire une thyroïdite lymphocytaire ou une atrophie thyroïdienne idiopathique. Dans de plus rare cas, l'hypothyroïdie chez le chien peut être d'origine néoplasique ou traumatique (Ettinger et Feldman, 2000; Feldman et Nelson 2004). Cette perte graduelle de parenchyme thyroïdien mène éventuellement vers des diminutions dans la production, dans la sécrétion, et finalement des concentrations sériques des hormones thyroïdiennes. Étant donné la vaste étendue des fonctions corporelles et métaboliques des hormones thyroïdiennes, les signes cliniques causés par l'hypothyroïdie sont tout aussi nombreux et non-spécifiques (Ettinger et Feldman, 2000; Feldman et Nelson 2003; Panciera, 2001). La fonction thyroïdienne canine est présentement évaluée à l'aide des dosages de la thyroxine totale (T_4T), la thyroxine libre (T_4L), la thyrotropine endogène (TSHc) et parfois du niveau sérique des autoanticorps contre la thyroglobuline (AATG). Malgré leur grande utilité clinique, aucun de ces tests, seul ou en combinaison, n'est spécifique et/ou sensible à 100% (Daminet et coll., 2003; Dixon et Mooney, 1999; Kantrowitz et coll., 2001; Kemppainen et Behrend, 1998 et 2001; Panciera, 1999; Peterson et coll., 1997; Ramsey et coll., 1997). Certaines maladies systémiques non-thyroïdiennes, ainsi que l'administration de médicaments peuvent influencer les concentrations sériques de T_4T , de T_4L , et parfois de TSHc (Dixon et Mooney, 1999; Kemppainen et Behrend, 1998 et 2001; Panciera, 1999; Peterson et coll., 1997; Ramsey et coll., 1997; Scott-Moncrieff et coll., 1998).

La plupart des endocrinologues vétérinaires considèrent toujours le test de stimulation à la TSH, comme étant le test diagnostique le plus fiable pour établir un diagnostic correct d'hypothyroïdie chez le chien. Lors d'euthyroïdie, une élévation de la concentration sérique de la T_4T est normalement observée suite à l'administration intraveineuse de TSH. Il s'agit d'un test fonctionnel davantage capable de différencier l'hypothyroïdie de l'euthyroïdie chez les chiens recevant une médication ou atteints d'une maladie systémique non-thyroïdienne (Ettinger et Feldman, 2000; Feldman et Nelson 2003; Kemppainen et Behrend, 1998; Panciera, 1999). Ce test utilisait une source bovine de TSH (TSHb) de grade médical qui n'est désormais plus commercialement disponible. La présence de réactions allergiques chez l'homme, la

formation d'anticorps contre la TSH humaine lors d'administrations répétitives et l'émergence de l'encéphalopathie spongiforme bovine (maladie de Creutzfeldt-Jacob) ont provoqué le retrait de la TSHb du marché pharmaceutique (Peterson et coll., 1997; Scott-Moncrieff et coll., 1998). Il existe toujours un grade de laboratoire de TSHb (SIGMA chemicals, Oakville, Ontario, Canada), mais cette molécule n'est approuvée pour l'utilisation clinique et des réactions de type anaphylactique ont été documentées avec son utilisation chez le chien (Dixon et Mooney, 1999; Panciera, 1999).

Une forme synthétique de TSH est maintenant disponible sur le marché pharmaceutique: la TSH humaine recombinée (TSHhr) (Genzyme Corp., Cambridge, Maine, USA). Il s'agit d'une glycoprotéine produite par génie génétique. La TSHhr est exprimée au sein d'une lignée de cellules ovariennes de hamster chinois, ainsi que par des cellules rénales embryonnaires humaines transformées. Elle est par la suite purifiée par une série d'échanges ioniques et par chromatographie (Braverman et coll., 1992; monographie; Ribela et coll., 1996). En médecine humaine, la TSHhr est principalement utilisée pour le suivi des patients traités pour un carcinome thyroïdien. L'utilisation de la TSHhr prévient la nécessité d'arrêter l'administration des hormones thyroïdiennes, qui engendre normalement de nombreux symptômes désagréables (Braverman et coll., 1992; Landenson, 1997; Meier et coll., 1994; monographie; Ramirez et coll., 1997).

En médecine vétérinaire, l'utilisation de la TSHhr a d'abord été étudiée chez des Beagles euthyroïdiens par Sauvé et Paradis. Cette étude démontre la présence d'un effet biologique de la TSHhr sur la thyroïde canine. L'administration intraveineuse de TSHhr a été associée à une élévation significative de la concentration sérique de T_4T (Sauvé et Paradis, 2000).

L'objectif de la présente étude clinique a été d'évaluer l'efficacité de la TSHhr à stimuler de façon appropriée la thyroïde canine par l'application du test de stimulation à des chiens sains, atteints de maladies systémiques et de chiens hypothyroïdiens.

CHAPITRE PREMIER
REVUE DE LA LITTÉRATURE

1. La glande thyroïde

1.1 Anatomie et histologie

La glande thyroïde est ventrale à la trachée et sa localisation peut varier d'un animal à l'autre. Chez la plupart des mammifères, elle s'étend du premier au cinquième anneau de la trachée, mais peut se trouver davantage caudal, jusqu'au huitième anneau trachéal (Evans HE, 1993). La thyroïde se compose de deux lobes situés de chaque côté de la trachée et qui sont parfois reliés par l'*isthmus*, représenté par une bande glandulaire reposant à la surface ventrale de la trachée et plus fréquemment observé chez les races brachycéphaliques (Cunningham, 1997; Evans, 1993). Le tissu glandulaire thyroïdien prend origine à partir de l'épithélium embryonnaire pharyngien. Chez le chien, il est fréquent d'observer la présence de tissu thyroïdien ectopique pouvant se situer à l'entrée thoracique, dans le médiastin ou tout au long de l'aorte thoracique descendante (Evans, 1993).

Le follicule thyroïdien est l'unité histologique principale de la glande thyroïde (Feldman et Nelson, 2004). Il est formé d'un épithélium simple, qui peut être cuboïde à cylindrique selon le statut fonctionnel du follicule, et prend l'architecture d'un *acinus* par son arrangement cellulaire circulaire. Au centre du follicule s'accumule le colloïde, une substance glycoprotéique synthétisée et sécrétée par l'épithélium folliculaire (Cunningham, 1997; Evans, 1993; Feldman et Nelson, 2004).

1.2 Synthèse et sécrétion hormonales

La synthèse des hormones thyroïdiennes débute par la transformation de l'iode dans la paroi ou lumière intestinale. Une fois acheminé à la thyroïde, l'iode est capté par les cellules folliculaires par l'intermédiaire d'un processus de transport actif. La concentration intracellulaire de l'iode est 25 à 200 fois plus élevée que la concentration extracellulaire. (Cunningham 1997; Feldman et Nelson, 2004). L'iode intracellulaire est rapidement réoxydé par la peroxidase thyroïdienne afin d'être incorporé aux résidus de tyrosine de la thyroglobuline (Greenspan et Rapoport, 1991). La thyroglobuline, une grosse glycoprotéine, est retrouvée en grande quantité dans le colloïde thyroïdien. La

thyroglobuline peut accepter deux molécules d'iode à son anneau de tyrosine. Selon le nombre de molécules d'iode attachées à la thyroglobuline, il y aura formation de monoiodotyrosine (MIT) ou de diiodotyrosine (DIT). Le couplage de MIT et de DIT va permettre la formation des deux principales hormones thyroïdiennes : la triiodothyronine (T3) et la tétraiodothyronine (T4); les. La T3 résulte du couplage d'une MIT et d'une DIT, tandis que la T4 est le résultat du couplage de deux DIT. La synthèse des hormones thyroïdiennes dépend d'un apport constant d'iode, de la synthèse de thyroglobuline par les cellules thyroïdiennes et de la présence de la thyroperoxydase, une enzyme clé dans le processus de synthèse (Cunningham 1997; Feldman et Nelson, 2004). Chez le chien, le taux de production hormonale pour la T3 varie de 0,8 à 1,5 µg/kg/jour, et se situe entre 2,5 et 3,2 µg/kg/jour pour la T4 (Chastain et Ganjam, 1986).

Une fois le processus d'assemblage hormonal terminé, la T3 et la T4 demeurent dans le colloïde, toujours liées à la thyroglobuline sous forme de réserves hormonales. La capacité d'entreposage des hormones thyroïdiennes permet aux mammifères de maintenir l'homéostasie thyroïdienne, même en présence de déficience iodée (Cunningham 1997 ; Feldman et Nelson, 2004).

La sécrétion des hormones thyroïdiennes par la glande thyroïde exige la translocation intracellulaire de la thyroglobuline et des hormones qui y sont liées (Cunningham 1997). La surface apicale des cellules folliculaires thyroïdiennes s'étend et forme des pseudopodes dans le *lumen* acineux, ce qui permet à une portion du colloïde d'être emprisonné et phagocyté (Greenspan et Rapoport, 1991). Les gouttelettes de colloïde se fusionnent avec des lysosomes contenant les enzymes permettant l'hydrolyse des tyrosines et thyronines iodées de la thyroglobuline. La T3 et la T4 ainsi libérées diffusent à travers la membrane cellulaire et sont larguées en circulation (Cunningham 1997; Feldman et Nelson, 2004). Les MITs et DITs sont déiodinés par la iodotyrosine déhalogénase (Cunningham, 1997). Les produits de cette opération, soit la tyrosine et l'iode, seront récupérés pour la synthèse hormonale (Cunningham 1997; Feldman et Nelson, 2004).

La glande thyroïde sécrète une quantité inégale de T4 par rapport à la T3 (Cunningham 1997; Chastain et Ganjam, 1986). Contrairement à la T4, la majorité de la T3 est formée à l'extérieur de la thyroïde par la déiodination de la T4. Le foie, les reins et les muscles sont les principaux tissus qui règlent la synthèse extrathyroïdienne de T3 par le biais de la 5'-monodéiodinase. Cette enzyme permet l'extraction d'une molécule d'iode de l'anneau phénolique externe de la T4. Dans les tissus extrathyroïdiens, la 5-monodéiodinase permet l'extraction d'une molécule d'iode de l'anneau phénolique interne de la T4. Le résultat de cette activité enzymatique donnera la formation de *reverse* T3 (rT3). Cette dernière possède peu ou pas d'activité biologique (Cunningham 1997; Feldman et Nelson, 2004).

1.3 Transport plasmatique des hormones thyroïdiennes

Puisque que les hormones thyroïdiennes sont liposolubles, elles sont pour la plupart transportées dans le plasma liées à des protéines plasmatiques spécifiques. La *Thyroxine-Binding Globulin* (TGB) représente la protéine de transport la plus importante. Bien qu'elle se retrouve en faible concentration en circulation, elle a une très grande affinité pour la T4 et la T3. La TGB est présente chez tous les animaux domestiques, à l'exception du chat (Cunningham 1997; Feldman et Nelson, 2004). L'albumine est aussi impliquée dans le transport plasmatique des hormones thyroïdiennes. Malgré son affinité relativement faible pour la T4 et la T3, l'albumine possède une plus grande capacité de transport que la TGB. Ce phénomène est relié sa très forte concentration plasmatique. Une troisième protéine participe au transport spécifique de la T4, la *Thyroxine-Binding Pre-Albumin* (TBPA). Son affinité pour la T4 et sa concentration plasmatique se situent entre celles de la TGB et de l'albumine (Cunningham 1997). En dernier lieu, certaines lipoprotéines de haute densité (HDL2) seraient aussi impliquées dans le transport hormonal. De façon approximative, on retrouve 60% de la T4 liée à la TGB, 17% liée à la TBPA, 12% liée à l'albumine et 11% liée aux HDL2 (Ferguson, 1994).

Bien que la majorité des hormones thyroïdiennes soient liées à un transporteur au ~~au~~ sanguin, une faible quantité d'hormone circulent librement. Ce sont ces dernières qui peuvent interagir avec les récepteurs intracellulaires des cellules cibles. Chez le chien,

la quantité d'hormone libre (1%) est légèrement plus grande que chez l'homme (0.03%). Cela s'explique par une affinité plus faible chez l'espèce canine, entre les protéines plasmatiques de transport et les hormones thyroïdiennes (Cunningham 1997; Feldman et Nelson, 2004).

1.4 Métabolisme hormonal

La déiodination représente la voie métabolique principale des hormones thyroïdiennes. À part la T3, les thyronines déiodinées ne possèdent aucune activité biologique. Les enzymes nécessaires à la formation de T3 et rT3 dans les tissus extrathyroïdiens, soit la 5'-monodéiodinase et la 5-monodéiodinase, sont aussi indispensables au catabolisme hormonal thyroïdien. La déiodination de la T4 et T3 se fait majoritairement dans les reins, le foie et les muscles squelettiques. L'inactivation des hormones thyroïdiennes est peut aussi être réalisée par la conjugaison (hépatiques ou rénales) sous forme de sulfate ou glucuronide (Cunningham 1997; Feldman et Nelson, 2004). Finalement, la transamination ou la décarboxylation de l'alanine des molécules de thyronine constituent une autre voie métabolique (Cunningham, 1997).

Le temps de demie-vie des hormones thyroïdiennes canines est plus court chez le chien, comparativement à l'humain. Les temps de demie-vie de la T4 et de la T3 sont de 10 à 24 heures et de 5 à 6 heures respectivement. La demie-vie étant inversement proportionnelle à la proportion d'hormone libre en circulation, il est logique d'observer un temps de demie-vie plus faible pour la T3 que pour la T4 (chez le chien, un peu moins de 1% de T4 et approximativement un peu plus de 1% de T3 se retrouvent libres en circulation) (Chastain et Ganjam, 1986; Cunningham, 1997; Feldman et Nelson, 1996; Ferguson, 1994).

La voie d'excrétion principale des produits de dégradation des hormones thyroïdiennes est l'urine. Par contre, les dérivés de conjugaison peuvent aussi être excrétés dans les fèces par l'intermédiaire de la bile. Dans l'intestin, il y a dégradation des formes conjuguées et libération des molécules iodées. L'iode est ensuite réabsorbé et réacheminé au foie, formant ainsi un cycle entérohépatique. La thyronine non

métabolisée est aussi éliminée dans les selles par une excrétion biliaire (Cunningham, 1997; Feldam et Nelson, 1996).

1.5 Mécanismes d'action des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes influencent plusieurs processus métaboliques. Elles sont responsables de la concentration et de l'activité de plusieurs enzymes, de la sécrétion et de la vitesse de dégradation de la plupart des hormones non-thyroïdiennes, du métabolisme des substrats enzymatiques, ainsi que des vitamines et minéraux. Les hormones thyroïdiennes de concert avec l'hormone de croissance sont essentielles pour le développement fœtal et la croissance, tout particulièrement du système nerveux et squelettique (Cunningham, 1997; Feldman et Nelson, 2004). Elles stimulent la calorigénèse, et augmentent la consommation tissulaire en oxygène par le biais d'une stimulation des pompes à sodium (Chastain et Ganjam, 1986). Elles stimulent la synthèse protéique et enzymatique, et contrôlent le métabolisme des hydrates de carbone et des lipides (Wilson JD, Forster DW, 1992). Une des particularités des hormones thyroïdiennes, est la tendance de celles-ci à réduire le taux de cholestérol plasmatique. Cette observation semble s'expliquer par une plus grande liaison du cholestérol aux lipoprotéines de faible densité (LDL), ainsi que par une dégradation accrue du cholestérol et des LDLs (Cunningham, 1997).

Les hormones thyroïdiennes ont un effet majeur sur les systèmes nerveux et cardiovasculaire, par la sensibilisation des récepteurs β -adrénergiques aux catécholamines. Les hormones thyroïdiennes augmentent la fréquence cardiaque et la force de contraction. L'augmentation de la pression sanguine (post-charge) aura pour effet de diminuer le débit cardiaque. Ceci est compensé par stimulation de l'inotropie. L'effet net est d'augmenter le débit cardiaque. Les hormones thyroïdiennes participent à la stimulation des récepteurs respiratoires lors d'hypoxie ou d'hypercapnie. Finalement, elles augmentent la résorption et la formation des tissus osseux, et stimulent l'érythropoïèse (Cunningham, 1997; Grennspan et Rapoport, 1991).

Étant lipophiliques, les hormones thyroïdiennes ont la capacité de pénétrer les membranes cellulaires des cellules cibles. La plupart des hormones thyroïdiennes

initient directement la transcription d'un ARN messager dans le noyau cellulaire. Le résultat est la synthèse d'une ou de plusieurs protéines spécifiques, dotée(s) de l'effet biologique désiré (Cunningham, 1997). La pénétration intracellulaire de la T3 est cinq fois plus grande que celle de la T4 (Kaptein et coll., 1994), et il y a trois fois plus de récepteurs nucléaires pour la T3 que pour la T4 (Chastain et Ganjam, 1986). Ces propriétés confèrent à la T3 une activité biologique beaucoup plus importante que celle de la T4. Cette dernière agirait donc davantage comme une prohormone de la T3 (Chastain et Ganjam, 1986).

2. Axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien

2.1 Anatomie et histologie

La glande thyroïde entretient une relation étroite avec l'hypophyse et l'hypothalamus. Ces trois glandes interagissent entre elles à l'aide d'hormones spécifiques, dans le but ultime de maintenir l'homéostasie thyroïdienne.

L'hypothalamus se situe dans le diencephale et forme le plancher du troisième ventricule cérébral. Le chiasme optique, l'éminence médiane, les corps mamillaires, ainsi que la *tuber cinereum* forment l'hypothalamus (Cunningham, 1997; Evans, 1993). Ce dernier est responsable de la production et la sécrétion d'un peptide, la *Thyrotropin-Releasing Hormone* (TRH); l'hormone régulatrice de l'activité hypophysaire sur la glande thyroïde (Cunningham, 1997).

La glande pituitaire ou l'hypophyse, qui repose dans la fosse hypophysaire de l'os basisphénoïde (Evans, 1993), est composée de l'adénohypophyse (*pars distalis*), de la neurohypophyse (*pars nervosa*), du lobe intermédiaire (*pars intermedia*) et du lobe tubéreux (*pars tuberalis*) (Cunningham, 1997). L'hypophyse influence la fonction thyroïdienne par l'intermédiaire de la thyrotropine (TSH), une hormone peptidique qui est synthétisée par les cellules acidophiles de l'adénohypophyse (Cunningham, 1997; Evans, 1993; Feldman et Nelson, 2004). L'origine embryonnaire de l'adénohypophyse provient d'une portion du plafond de l'ectoderme oral, c'est-à-dire de la poche de Ranthke. (Cunningham, 1997; Evans, 1993).

Les hormones hypothalamiques hypophysiotrophiques sont acheminées et relâchées de l'éminence médiane et sont par la suite transportées à l'hypophyse à l'aide d'un système veineux portal. L'artère hypophysaire dorsale se termine à l'éminence médiane sous forme d'un plexus capillaire, qui est par la suite drainé par deux veines qui se jettent dans les capillaires sinusoidaux de l'adénohypophyse (Cunningham 1997). La TSH est sécrétée dans les veines drainant l'hypophyse et atteint la thyroïde où elle exerce sa fonction régulatrice principale (Cunningham, 1997; Feldman et Nelson 1996).

2.2 Homéostasie thyroïdienne

La sécrétion et l'action TSH représentent les mécanismes de modulation de la fonction thyroïdienne les plus importants (Cunningham, 1997; Feldman et Nelson, 2004). Cette hormone possède une sous-unité α reliée à une sous-unité β . La sous-unité α est identique parmi les glycoprotéines hypophysaires de la même classe (TSH, LH et FSH), et est commune entre les différentes espèces de mammifères. La spécificité fonctionnelle et d'espèce de la TSH est déterminée par la sous-unité β (Feldman et Nelson, 2004; Ribela et coll., 1996). La TSH se lie aux récepteurs membranaires de la thyroïde et, par le biais de l'adénylate cyclase, initie la synthèse et la sécrétion des hormones thyroïdiennes (Cunningham, 1997). Les hormones thyroïdiennes libres (principalement la T3) sont majoritairement responsables du rétrocontrôle négatif sur la libération de la TSH par l'hypophyse et de la TRH par l'hypothalamus (Cunningham, 1997; Feldman et Nelson, 2004; Greenspan et Rapoport, 1991). La dopamine, la somatostatine, ainsi que les glucocorticoïdes exercent un effet inhibiteur sur la sécrétion hypophysaire de la TSH (Behrends J et coll. 1998; Bradant G et coll., 1991; Kooistra HS et coll., 2000; Chastain et Ganjam, 1986). Chez l'homme, et probablement aussi chez le chien, la TRH exerce un effet positif sur le patron sécrétoire pulsatile de la TSH. (Behrends J et coll. 1998; Bradant G et coll., 1991; Cunningham, 1997; Kooistra HS et coll., 2000). La synthèse et la libération de la TRH semblent être d'origine nerveuse, mais le mécanisme exact demeure encore indéterminé (Feldman et Nelson, 2004). La glande thyroïde a la capacité d'autorégulation de la synthèse et de la sécrétion des hormones thyroïdiennes. Lors d'un apport excessif en iode, il y a une diminution de l'iodination de la thyroglobuline et de la synthèse hormonale. Lors de déficience iodée, une modification de la sensibilité thyroïdienne à la TSH engendre une augmentation du ratio sécrétoire de la T3 par rapport à la T4 (Feldman et Nelson, 2004).

Facteurs affectant l'homéostasie thyroïdienne

3.1 Facteurs physiologiques

Quoiqu'il existe plusieurs influences physiologiques sur les taux sériques des hormones thyroïdiennes, il est relativement rare que ces variations soient cliniquement significatives.

L'âge figure parmi les facteurs physiologiques pouvant influencer le taux plasmatique de T4. En effet, chez les chiots de moins de 6 semaines, la concentration de T4 est de deux à cinq fois plus élevée que celle des adultes. Les valeurs de T4 approchent celles des adultes vers l'âge de 6 à 12 semaines (Feldman et Nelson, 2004; Ferguson, 1994; Kaptein et coll., 1994; Reimers et coll., 1990). Il y a ensuite une baisse de la T4 avec l'âge. On évalue cette baisse à environ 1,287 nmol/L par année (Chastain et Panciera, 1995). Une étude a démontré que les chiens âgés entre six et onze ans ont une valeur de T4 plasmatique qui est de 50% plus faible que celle des chiots non sevrés (Reimers et coll., 1990). Une augmentation du catabolisme hormonal secondaire à une diminution de l'affinité des protéines de transport pour les hormones thyroïdiennes, une diminution de la synthèse hormonale, ainsi qu'une augmentation du nombre de récepteurs thyroïdiens et de leur affinité pour les hormones thyroïdiennes peuvent expliquer la diminution de la T4 avec l'âge (Chastain et Panciera, 1995). L'âge ne semble pas affecter de façon significative la concentration de la T3 (Chastain et Panciera, 1995; Feldman et Nelson, 2004; Ferguson, 1994).

Des variations dans la concentration sérique de T4 ont aussi été observées en relation avec la race de chien évaluée. Les Lévrier et les *Scottish deerhounds* ont des valeurs de T4 inférieures aux valeurs de référence établies pour l'ensemble de la population canine (Ferguson, 1994; Gaughan et coll., 1996). Certains rapports citent que le Terre-neuve peut avoir une T4 plus faible que les autres races. Par contre une autre étude n'a pas démontré de différence des concentrations hormonales chez cette race (Sauvé et coll., 1997).

La taille du chien peut également influencer la concentration moyenne de la T4 et T3. Les chiens de petite taille auraient en général des valeurs de T4 plus élevées que les chiens de moyennes et grandes tailles. Par contre, la T3 serait plus élevée chez les chiens de taille moyenne comparativement à ceux de petite et grande tailles (Feldman et Nelson, 2004; Reimers et coll., 1990).

Le sexe ne semble pas avoir d'influence sur les valeurs des hormones thyroïdiennes (Reimers et coll., 1990). Cependant, le cycle hormonal reproducteur de la chienne peut influencer le taux de T4 et T3. Des études démontrent que la progestérone, lors du dioestrus ou de la gestation, peut augmenter les concentrations hormonales thyroïdiennes. Cette augmentation serait liée à une plus grande affinité entre les hormones thyroïdiennes et leurs protéines de transport (Feldman et Nelson, 2004).

Des fluctuations journalières aléatoires des hormones thyroïdiennes existent, bien que l'existence d'un cycle circadien n'ait pas été démontré chez le chien. Il est possible qu'un chien sain et euthyroïdien ait des valeurs de laboratoire pouvant suggérer un état d'hypothyroïdie jusqu'à 20 % du temps (Miller et coll., 1992; Scott-Moncrieff et Guptill-Yoran, 2000). Par contre, il est plutôt rare qu'un chien hypothyroïdien ait une valeur de T4 au dessus des normales. Cependant la T3 peut fluctuer jusque dans les valeurs de référence. Ces fluctuations quotidiennes peuvent davantage causer des difficultés d'interprétations chez des chiens euthyroïdiens atteints d'une maladie systémique, et surtout si on évalue le taux plasmatique de la T3 plutôt que la T4 (Feldman et Nelson, 2004).

Bien que l'influence des saisons n'ait pas été bien étudiée chez le chien, elles ne semblent pas engendrer de variation hormonale significative du point vue clinique (Keimppainen et Sartin, 1984). Une exposition aiguë au froid peut entraîner une augmentation de la TSH et des hormones thyroïdiennes chez le rat et possiblement chez l'humain. Par contre, une exposition à la chaleur provoque une diminution de la TSH, T4 et T3, et une augmentation de la rT3 chez ces deux mêmes espèces (Wartofsky et Burman, 1982).

L'obésité peut causer une élévation des hormones thyroïdiennes qui résulterait plutôt d'un effet indirect causé par une prise calorique excessive. Il semble peut-être probable que l'obésité puisse masquer un état d'hypothyroïdie, car plusieurs chiens ayant un excès de poids ont des T4T diminuées (Feldman et Nelson, 2004; Daminet et coll., 2003).

Enfin, le jeûne de plus de quarante-huit heures peut diminuer la T3, alors que la T4 demeure habituellement relativement stable (Chastain et Ganjam, 1986; Feldman et Nelson, 2004).

3.2 Facteurs pharmacologiques

Chez l'humain, le rat et parfois chez le chien, il a été démontré que plusieurs agents thérapeutiques (voir tableau I) pouvaient altérer la concentration plasmatique des hormones thyroïdiennes. Les changements des taux sériques de T4 et/ou T3 peuvent être le résultat d'une inhibition de la TSH et/ou TRH, d'une diminution directe de la sécrétion des hormones thyroïdiennes, d'un changement dans la dégradation de la T4 (en T3 ou rT3), d'une variation du captage et de la dégradation tissulaire de la T4, ou d'une modification de la liaison des hormones thyroïdiennes aux protéines de transport et/ou aux récepteurs cellulaires (Chastain et Ganjam, 1986; Feldman et Nelson, 2004; Wartofsky et Burman, 1982). Bien que plusieurs médicaments du tableau I n'aient pas été évalués chez le chien, leur potentiel d'influencer l'homéostasie thyroïdienne demeure (Feldman et Nelson, 1996).

TABLEAU I : LISTES DES PRODUITS PHARMACOLOGIQUES POUVANT ALTÉRER LA CONCENTRATION SÉRIQUE DES HORMONES THYROÏDIENNES CHEZ L'HUMAIN ET POSSIBLEMENT CHEZ LE CHIEN (modifié de Feldman et Nelson, 2004).

DIMINUTION	AUGMENTATION
Acide oléique *	Amiodarone (T4)
Amiodarone (T3)	Estrogènes
Androgènes	5-Fluorouracil
Agents cholécystographiques	Halothane *
Diazépam	Insuline
Dopamine	Narcotiques analgésiants
Flunixinine *	Ipodate (T4) *
Furosémide *	Thiazines
Glucocorticoïdes *	
Héparine	
Imidazole	
Méthimazole	
Mitotane	
Nitroprusside	
Penicilline	
Phénobarbital *	
Phénothiazines	
Phénylbutazone *	
Phénytoin *	
Primidone	
Propranolol *	
Propylthiouracil	
Ipodate (T3)	
Salicylates *	
Sulfamidés *	
Sulfonylureas	
Thiopental *	

* Étudié(e) chez le chien

Les glucocorticoïdes sont les médicaments les plus fréquemment administrés au chien. Chez l'humain, ils inhibent la sécrétion de la TSH, diminuent la déiodination périphérique de la T4 et réduisent la concentration plasmatique de la TGB (Cavalieri, 1991; Rubello et coll., 1992; Samuels et coll., 1994; Surks et Stievert, 1995; Hangaard et coll., 1996; Daminet et Ferguson, 2003). La littérature vétérinaire rapporte une réduction de la déiodination périphérique de la T3 avec l'administration de glucocorticoïdes (Chastain et Ganjam, 1986). Une étude a démontré qu'une dose immunosuppressive (1,1 mg/kg et plus, administré aux 12 heures) de prednisone peut entraîner des une baisse significative des hormones thyroïdiennes (Daminet et coll., 1999; Torres et coll., 1991). Malgré une diminution de la T4 totale (T4T) (voir section 5.1) et de la T4 libre (T4L) (voir section 5.2) notée chez des Beagles ayant reçu un traitement de prednisone d'une période de 3 semaines, aucune modification de la concentration de la TSH (voir section 5.6) n'a été observée chez ces mêmes chiens (Daminet et coll., 1999). Chez l'humain, les glucocorticoïdes causent une diminution de la TSH (Rubello et coll., 1994; Samuels et coll., 1992; Daminet et Ferguson, 2003). D'autres n'ont pas démontré de diminution de la T4T chez le chien après un mois d'administration de prednisone avec l'utilisation d'une dose antiinflammatoire (dose inférieure) (Moore et coll., 1993). L'intensité et la durée de la suppression hormonale dépendent de la dose, de la durée et de la route d'administration, ainsi que du type (puissance et durée d'action) de glucocorticoïde prescrit (Chastain et Ganjam, 1986; Feldman et Nelson, 2004). Les changements clinicopathologiques associés à l'utilisation des glucocorticoïdes pourraient survenir aussi tôt que 24 heures après l'administration de la première dose (Torres et coll., 1991). Normalement, un traitement aux glucocorticoïdes n'entraîne pas de signes cliniques d'hypothyroïdie, sauf s'il s'agit d'un traitement fortement immunosuppresseur et de longue durée. Une évaluation de la fonction thyroïdienne par un test de stimulation à la TSH (voir section 5.7) ou encore par le retrait de la médication (4 à 8 semaines) avant d'effectuer un dosage sérique des hormones thyroïdiennes est recommandée lorsque des glucocorticoïdes ont été administrés à un chien (Feldman et Nelson, 2004).

Les antiinflammatoires non stéroïdiens (AINS) ont la capacité de réduire la liaison protéique des hormones thyroïdiennes par compétition pour la liaison et, par conséquent, d'accélérer leur élimination. Chez l'humain, ces effets ont été démontrés

pour les salicylates, le feclofenac, la phénylbutazone, et de façon moins prononcée avec le naproxen, le diclofenac et le kétoprofen (Bishoi et coll., 1994; Carlson et coll., 1996; Davies et Franklyn, 1991). Chez le chien, la phénylbutazone ne semble pas affecter la liaison protéique de la T4, le flunixin cause une élévation de la T4L et les salicylates semblent diminuer la concentration de la T4 (Gulikers et Panciera, 2002; Evinger et Nelson, 1984). Une étude récente sur 62 chiens souffrant d'ostéoarthrose démontre que le méloxicam et le carprofène administrés sur une période de 60 jours n'affectent pas la fonction thyroïdienne de façon significative (Sauvé et coll., 2003). Une autre étude rapporte une baisse légère, mais significative de la T4T avec l'utilisation d'une dose supérieure de carprofène (Ferguson et coll., 1999).

Certains antibiotiques comme les sulfamides peuvent réduire la concentration sérique des hormones thyroïdiennes. Leur capacité d'interaction s'explique par une inhibition enzymatique réversible de l'iodination de la thyroglobuline (Comby et coll., 1993; Doerge et Decker, 1994). Chez le chien, plusieurs études ont évalué les effets des sulfamidés sur la fonction thyroïdienne. Les effets des sulfamidés dépendent de la dose et de la durée d'utilisation. Une dose de 15 mg/kg q12h pour 4 semaines n'a pas entraîné de changement dans les concentrations des hormones thyroïdiennes (Panciera et Post, 1992). Par contre, une dose de 30 mg/kg q12h pendant 6 semaines a causé des diminutions de la T4T, T3T et T4L, dont la moitié étaient compatibles avec un diagnostic d'hypothyroïdie (Hall et coll., 1993). De plus, certains des chiens avaient aussi une diminution de la réponse à une stimulation à la TSH (voir section 5.7). Les changements se sont normalisés entre 8 à 12 semaines après l'arrêt de la médication (Hall et coll., 1993). Étant donné leur capacité à supprimer la synthèse hormonale thyroïdienne, les sulfamidés ont été associés à des hypothyroïdies cliniques iatrogéniques. Suivant l'arrêt de la médication, les signes cliniques et les changements de laboratoire se sont graduellement normalisés (Torres et coll., 1996; Gookin et coll., 1999).

Chez l'humain, le phénobarbital provoque une augmentation de la déiodination hépatique et de l'excrétion biliaire de la T4. De plus, une inhibition centrale de la TSH est aussi suggérée (Deda et coll., 1992; Ohnuhaus et coll., 1981). Chez le chien, les

effets du phénobarbital n'ont été étudiés que récemment. L'administration de phénobarbital sur une période de trois semaines à des chiens de race Beagle en santé, n'a pas permis de mettre en évidence de changements significatifs des concentrations de la T4T, T4L et TSH endogène sériques (Daminet et coll., 1999). Par contre, selon d'autres études, une administration plus prolongée de phénobarbital a démontré une réduction significative (compatible avec un diagnostic d'hypothyroïdie) de la T4T et de la T4L. Une étude rapporte une corrélation entre le taux sérique de phénobarbital et l'importance de la réduction hormonale (Kantrowitz et coll., 1999), tandis qu'une autre étude révoque ce lien (Gaskill et coll., 1999). La TSH endogène ne semble pas être affectée aussi significativement. Bien que certains auteurs aient démontré qu'elle demeurerait normale (Kratrowitz et coll., 1999), la majorité rapporte une légère augmentation qui demeure peu significative (Gaskill et coll., 1999; Gieger et coll., 2000; Müller et coll., 2000). Il est suggéré que le phénobarbital inhibe la sécrétion de TSH (Daminet et coll., 2003). Malgré les changements observés dans les concentrations de la T4 totale ou libre, la T3 sérique ne semble pas affectée par l'administration de phénobarbital. Étant donné que la T3 est l'hormone thyroïdienne régulatrice principale du rétrocontrôle hypophysaire, son maintien sérique lors d'utilisation du phénobarbital pourrait expliquer les faibles variations observées de la TSH sérique (Kantrowitz et coll., 1999; Müller et coll., 2000). Selon une étude, la normalisation de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien a été observée 1 à 4 semaines après l'arrêt de l'administration (Gieger et coll., 2000).

Bien qu'une influence du phénobarbital sur la fonction thyroïdienne ait été démontrée par Kantrowitz et coll., ces derniers n'ont pas observé de changement avec l'administration de bromure de potassium (KBr). Étant donné la relation chimique entre l'iode et le bromure, ce dernier aurait le potentiel de faire compétition avec les molécules iodées dans la synthèse des hormones thyroïdiennes. Il a été démontré que l'administration de bromure à des rats, causait une réduction dose-dépendante de la T4T ainsi que des changements histopathologiques dans la thyroïde (Velicky et coll., 1997 et 1998; Loeber et coll., 1983; Van Leeuwen et coll., 1983). Aucun changement des concentrations hormonales thyroïdiennes n'a été observé avec l'administration de KBr (dosage usuel) à des individus en santé (Sangster et coll., 1983). Chez l'humain, un seul cas d'hypothyroïdie transitoire a été associé à une intoxication au bromure de

potassium (Mizukami et coll., 1988). Une étude récente a évalué l'influence de l'administration prolongée (plus de 6 mois) du bromure de potassium sur la fonction thyroïdienne de chiens euthyroïdiens. Aucun changement clinicopathologique (T4T, T4L, TSH et stimulation à la TRH) et morphologique (histopathologie de la thyroïde) n'a été noté tout au long de l'expérience (Paull et coll., 2003).

L'administration de propranolol au dosage recommandé à des Beagles euthyroïdiens pendant 4 semaines, n'a pas affecté la concentration des T4 et/ou T3, ainsi que les stimulations à la TSH des chiens étudiés (Center et coll., 1984).

Finalement, une dernière étude s'est penchée sur les effets potentiels du clomipramide sur les tests de laboratoire utilisés pour le diagnostic de l'hypothyroïdie canine. Une diminution rapide (à partir du 28^{ième} jour d'administration) et soutenue (tout au long des 112 jours de médication) de la T4T et T4L ont été observées. Par contre, aucun changement significatif n'a été noté lors des stimulations à la TRH (mesure de la TSH) (voir section 5.7). Bien qu'aucun chien n'ait démontré d'évidence clinique d'hypothyroïdie, une dysendocrinie subclinique et/ou une administration plus prolongée aurait pu possiblement causer l'apparition de signes cliniques (Gulikers et Panciera, 2003). La clomipramine inhibe la synthèse de la T4, par sa liaison à l'iode et son interférence sur la peroxydase thyroïdienne (Rousseau et coll., 1996).

3.3 Facteurs pathologiques

En présence d'une maladie systémique non-thyroïdienne, il se produit une baisse sérique des hormones thyroïdiennes sans état réel d'hypothyroïdie, il s'agit d'un *euthyroid sick syndrome* (ESS) (Ferguson, 1997). Parmi les maladies les plus souvent incriminées on retrouve l'hyperadrénocorticisme, le diabète mellitus, les processus à médiation immunitaire, la septicémie, et l'insuffisance rénale, hépatique et cardiaque. Lors de maladie systémique, les tests endocriniens disponibles pour évaluer la fonction thyroïdienne peuvent être altérés de façon significative, c'est-à-dire qu'un diagnostic erroné d'hypothyroïdie pourrait être posé.

Lors d'hyperadrénocorticisme, entre 38 et 57% des chiens peuvent avoir une réduction de la T4T (Peterson et coll., 1984; Ferguson et Peterson, 1992). La T4L peut aussi être affectée, mais semble moins vulnérable (Ettinger et Feldman, 2000). Selon Ferguson et Peterson, jusqu'à 25% des chiens souffrant d'hypercortisolémie naturelle peuvent présenter une baisse de la T4L. Par contre, 38% des chiens du même groupe avaient une augmentation de la T4L (Ferguson et Peterson, 1992).

Cette baisse hormonale semble être une adaptation physiologique à la maladie. Par une réduction du métabolisme, il y a économie énergétique et protéique (Chastain et Panciera, 1995; Feldman et Nelson, 2004). La pathogénie de ce syndrome est complexe et multifactorielle. Les mécanismes suivants sont les plus souvent mentionnés : inhibition centrale de la sécrétion de TSH et/ou TRH, diminution de la synthèse de T4, réduction de l'affinité et/ou de la concentration des protéines de transport, utilisation excessive des hormones thyroïdiennes et diminution de la déiodination de la T4 (Chastain et Panciera, 1995, DeGroot, 1995; Feldman et Nelson, 2004). Les cytokines inflammatoires semblent aussi avoir un rôle à jouer. L'administration d'interleukine-2 à des chiens (4) a provoqué une baisse de 50 à 75% de la T4 et de 70 à 80% de la T3 (Panciera et coll., 1995). Il semble il y avoir une corrélation entre la sévérité de la maladie systémique et la nature et l'importance des changements observés par rapport aux concentrations des hormones thyroïdiennes (Kaptein, 1988). Tel que démontré par Nelson et coll., les maladies systémiques sont davantage efficaces à réduire la T4 comparativement aux problèmes dermatologiques (Nelson et coll., 1991). Certaines études chez l'humain suggèrent que la sévérité de la réduction hormonale pourrait avoir un impact sur le pronostic de la maladie sous-jacente (Kaptein et coll., 1982). Il n'est pas recommandé de traiter les chiens affectés par un ESS à l'aide d'hormones thyroïdiennes. Dans la majorité des cas, la fonction thyroïdienne se normalise une fois la maladie sous-jacente contrôlée (Feldman et Nelson, 2004).

Dernièrement, l'effet de l'ostéoarthrose sur l'homéostasie thyroïdienne a aussi été étudié. Parmi le groupe canin atteint d'ostéoarthrose, une légère élévation non-significative de la T4L et de la TSH est observée, par contre aucune différence significative de la T4T n'a été notée. Malgré les changements observés, l'ostéoarthrose

chez le chien ne semble pas affecter la capacité de diagnostiquer une hypothyroïdie (Paradis et coll., 2003).

3. Hypothyroïdie canine

4.1 Étiopathogénie

Une dysfonction thyroïdienne peut provenir à importe quel endroit dans l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien. Chez le chien, 95% de cas d'hypothyroïdie acquise originent d'une destruction thyroïdienne (d'origine primaire) (Ettinger et Feldman, 2000). La thyroïdite lymphocytaire et l'atrophie idiopathique de la thyroïde sont les causes primaires les plus fréquentes, chacune représentant presque 50% des cas d'hypothyroïdie canine (Gosselin et coll., 1981). Les autres causes d'hypothyroïdie primaire plus rares sont une destruction iatrogénique (médication, iode radioactive, chirurgie) et une infiltration tumorale (Ettinger et Feldman, 2000). Une hypothyroïdie primaire canine causée par une infiltration thyroïdienne d'amastigotes de *leishmania sp.* est rapportée (Cortese et coll., 1999). Normalement, une destruction de plus de 75% de la masse thyroïdienne est nécessaire pour entraîner l'apparition de signes cliniques d'hypothyroïdie (Graham et coll., 2001).

La thyroïdite primaire semble être le résultat d'une réaction à médiation immunitaire. Il est suggéré que la destruction thyroïdienne soit secondaire à une cytotoxicité à médiation cellulaire avec dépendance humorale. Des autoanticorps thyroïdiens se lieraient à la membrane des cellules folliculaires thyroïdiennes (Gosselin et coll., 1981; Ettinger et Feldman, 2000). La thyroïdite est héréditaire chez le Borzoi et le Beagle (Benjamin et coll., 1996; Fritz et coll., 1970; Conaway, 1985). De plus, chez le Golden retriever, le Danois, le Setter irlandais, le Doberman pinscher et le Berger anglais, il y a une plus grande prévalence d'anticorps antithyroglobulines (AATG) (voir section 5.9) (Haines et coll., 1984; Beale KM, 1990; Refsal et Nachreiner, 1998). Le Setter anglais, le Dalmatien, le Basenji, le *Rodhesian Ridgeback*, le Boxer, le Bichon maltais, le *Chesapeake Bay Retriever*, l'Épagneul cocker, le Berger Shetlandais, le Huskie, le Colley et l'Akita sont aussi des races mentionnées ayant une prévalence supérieure d'AATG (Graham et coll., 2001). Comme chez l'humain, les chiens peuvent être affectés d'une maladie polyglandulaire à médiation immunitaire. Ce syndrome est caractérisé par la présence de plus de deux maladies endocriniennes,

incluant l'hypoadrénocorticisme, la thyroïdite, l'hyperparathyroïdie et le diabète mellitus insulino-dépendant (Kintzer, 1992).

Chez le chien, l'atrophie folliculaire peut être le résultat terminal d'une thyroïdite. Par contre, l'absence de fibrose et d'inflammation dans certains cas suggère que cette atrophie pourrait représenter une pathologie distincte (Ettinger et Feldman, 2000). Un processus dégénératif primaire impliquant les cellules folliculaires est suspecté (Feldman et Nelson, 2004).

Certains cas d'hypothyroïdie primaire ont été associés à une hyperplasie adénomateuse thyroïdienne; un défaut métabolique intrathyroïdien est avancé (Feldman et Nelson, 2004).

L'hypothyroïdie secondaire n'est que rarement rapportée (moins de 5% des cas). Les causes possibles sont une malformation hypophysaire, une tumeur pituitaire, une déficience en TSH et un traumatisme ou une chirurgie de l'hypophyse (Ettinger et Feldman, 2000; Kemppainen et Clark, 1994). Les signes cliniques associés à une dysfonction pituitaire dépendront des hormones hypophysaires déficientes. L'hypoadrénocorticisme, le diabète insipide, la dysfonction reproductive et/ou le nanisme pituitaire pourraient accompagner ou même masquer l'état d'hypothyroïdie (Feldman et Nelson, 2004). Dans un cas d'hypothyroïdie secondaire, il est important de différencier entre un problème pituitaire primaire ou secondaire à l'administration de médicament ou à maladie systémique. L'hypercortisolémie endogène ou exogène a une forte capacité de supprimer les cellules thyrotropes hypophysaires (Kemppainen et Clark, 1994; Ferguson, 1994; Feldman et Nelson, 2004).

Jusqu'à maintenant, aucun cas d'hypothyroïdie tertiaire (anomalie hypothalamique ou déficience en TRH) n'a été rapporté chez le chien (Feldman et Nelson, 2004; Ettinger et Feldman, 2000). Il est possible que les tests de laboratoire présentement disponibles ne puissent faire la différence entre une origine pituitaire et hypothalamique (Feldman et Nelson, 2004).

Malgré sa faible incidence, il existe une forme congénitale d'hypothyroïdie. Les étiologies de dysfonction thyroïdienne primaire congénitale incluent : une déficience iodée, une dysgénésie de la glande thyroïdienne et une dyshormonogénésie secondaire à une déficience enzymatique (Ettinger et Feldman, 2000). Des cas d'hypothyroïdie congénitale chez des jeunes Fox terriers ont été rapportés. Selon les analyses biochimiques des tissus thyroïdiens prélevés, une déficience enzymatique dans le processus d'oxydation de l'iode et en peroxydase thyroïdienne a été suggérée (Fyfe et coll., 2003). Une hypothyroïdie centrale secondaire à une déficience en TSH (ou TRH) a été décrite chez une famille de Schnauzers géants et un chiot Boxer (Greco et coll., 1991; Mooney et Anderson, 1993). Une déficience pituitaire multihormonale, (TSH, hormone de croissance et prolactine) qui serait à l'origine d'une anomalie génétique à transmission récessive, a été décrite chez le Berger Allemand (Kooistra et coll., 2000).

4.2 Signalement et incidence

L'hypothyroïdie se manifeste le plus souvent entre l'âge de 2 à 9 ans. Il est très rare de poser un diagnostic d'hypothyroïdie primaire acquise chez un chien de moins de 2 ans. Les races les plus communément affectés sont le Golden retriever, le Doberman pinscher, le Labrador retriever et le Épagneul cocker (Feldman et Nelson, 2004; Ettinger et Feldman, 2000). Il n'y a pas de prédisposition sexuelle (Feldman et Nelson, 2004), par contre une légère augmentation de l'incidence est rapportée chez les femelles stérilisées et les chiens castrés comparativement aux chiens intacts (Ettinger et Feldman, 2000). Une prédisposition raciale pour le développement d'une dysfonction thyroïdienne est rapportée ou suggérée chez le chien (voir tableau II). Les races de chien prédisposées seraient davantage susceptibles à exhiber des signes cliniques d'hypothyroïdie à un plus jeune âge que les autres chiens (Feldman et Nelson, 2004).

TABLEAU II : RACES CANINES PRÉDISPOSÉES À DÉVELOPPER L'HYPOTHYROÏDIE (modifié de Feldman et Nelson, 2004)

PREDISPOSITION	PREDISPOSITION SUSPECTÉE	
Golden retriever	Berger shetlandais	Bulldog
Doberman pinscher	Pomeranien	Lévrier afghan
Teckel	Épagneul cocker	Terre-neuve
Setter irlandais	Airedale	Berger anglais
Schnauzer miniature	Malamute	
Danois	Chow chow	
Caniche	Lévrier irlandais	
Boxer		

4.3 Signes cliniques

Les hormones thyroïdiennes ont un spectre d'action très large et par conséquent les manifestations cliniques d'hypothyroïdie peuvent être extrêmement variées. Le tableau III dresse une liste de la diversité des signes cliniques rapportés avec l'hypothyroïdie canine. La majorité des propriétaires se plaignent d'une léthargie (20-76 %), d'un gain de poids (40%) et de problèmes dermatologiques (60-80%). L'apparition des signes cliniques est si insidieux que les propriétaires ne notent souvent l'importance des changements cliniques qu'après le début de la thérapie de remplacement (Feldman et Nelson, 2004; Panciera, 1997; Dixon et coll., 1999; Ettinger et Feldman, 2000).

TABLEAU III : SIGNES CLINIQUES OU SYNDROMES RAPPORTÉS LORS D'HYPOTHYROÏDIE CANINE (modifié de Feldman et Nelson, 2004)

Métabolique	Reproducteur	Oculaire
Léthargie	Anoestrus persistant	Dépôt cornéen lipidique
Lenteur	Oestrus faible/silencieux	Ulcération cornéenne
Inactivité	Saignement oestral prolongé	Uvéite
Gain de poids inapproprié	Gynécomastie	Conjonctivite
Intolérance au froid	Galactorrhée inappropriée	Kératoconjonctivite sèche
Dermatologique	Avortement	Cardiovasculaire
Alopécie/hypotrichose	Inertie utérine	Bradycardie
Pelage sec et cassable	Petite portée	Arythmies
Hyperpigmentation	Chiots faibles et petits	Dysfonction myocardique
Séborrhée	Atrophie testiculaire	Gastrointestinale
Folliculite/pyodermite/furonculose	Oligo/azoospermie	Diarrhée
Infection à <i>Malassezia</i>	Alibido	Constipation
Démodécie	Neuromusculaire	Hématologique
Otite externe	Convulsion	Anémie
Myxoedème	Coma myxoedémateux	Hyperlipidémie
Hyperkératose	Ataxie	Coagulopathie
Mauvaise cicatrisation	Tournis	
	Faiblesse	
	Syndrome vestibulaire	
	Paralysie faciale	
	Polyneuropathie	
	Dysphagie/	
	Mégaoesophage	

L'obésité est fréquemment observée chez les chiens souffrant d'hypothyroïdie. Par contre, une grande proportion de la population canine euthyroïdienne a aussi un excès de poids. Il est estimé que 21-30 % de la population canine évaluée en consultation vétérinaire est obèse (Laflamme et coll., 1994). Chez l'humain, l'obésité ainsi que la perte de poids peuvent affecter la fonction thyroïdienne. Selon une étude vétérinaire, les concentrations de T3T et T4T de Beagles obèses et euthyroïdiens étaient significativement supérieures à celles du groupe contrôle (chiens de poids optimal), bien que demeurant dans les valeurs de référence. Dans une seconde étape, ils ont démontré qu'une perte de poids entraînait une réduction significative de la T3T et TSH. Malgré les effets notés sur l'homéostasie thyroïdienne canine, l'obésité et la perte de poids ne semblent pas affecter la capacité de différencier entre une obésité causée par une hypothyroïdie et une obésité hypercalorique (Daminet et coll., 2003).

Lors d'hypothyroïdie canine, les changements dermatologiques les plus fréquents sont un pelage terne et cassant, la séborrhée, l'hypotrichose et une alopecie de type endocrinienne. Cette alopecie symétrique bilatérale chronique du tronc et sans prurit peu s'installer progressivement jusqu'à 25% des cas. Malgré qu'elle soit suggestive d'une hypothyroïdie, l'alopecie endocrinienne n'est pas pathognomonique. Des maladies endocriniennes (hyperadrénocorticisme, hyperoestrogénisme) ou non-endocriniennes (alopecie récidivante des flancs) peuvent présenter les mêmes changements cutanés, et lors d'hypothyroïdie, l'alopecie peut-être asymétrique, localisée ou généralisée, et parfois du prurit peut-être observé s'il y a une infection cutanée concomitante (Feldman et Nelson, 2004; Ettinger et Feldman, 2000). La déplétion des hormones thyroïdienne cause une suppression de l'immunités humorale et cellulaire locale, prédisposant les chiens hypothyroïdiens à des infections cutanés secondaires (Feldman et Nelson, 2004).

L'alopecie récidivante des flancs (ARF) est une maladie cutanée récemment mise en évidence. Les manifestations cutanés sont évocatrices de l'hypothyroïdie canine, par contre l'alopecie disparaît spontanément après plusieurs mois sans traitement et a tendance à revenir périodiquement (parfois saisonnier). La photopériode et une déficience en mélatonine ont été mentionnées comme hypothèse (Fontaine et coll., 1998; Curtis et coll., 1996, Paradis 2000). De plus, il y a chevauchement des races

affectées entre les deux maladies, donc l'ARF peut être faussement diagnostiquée pour de l'hypothyroïdie canine (Feldman et Nelson, 2004; Daminet et Paradis, 2000). Les Boxers, les Airedales, les Schnauzers et les Bulldog anglais sont plus souvent rapportés (Scott, 1990; Miller et Dunstan, 1993; Curtis et coll., 1996), par contre d'autres races ont été citées (Fontaine et coll., 1998). Une étude récente rapporte que la fonction thyroïdienne évaluée à l'aide de la T4T et TSH n'est pas affectées chez les chiens atteints d'ARF (Daminet et Paradis, 2000).

Malgré la longue liste de problèmes possibles du système reproducteur, ces signes cliniques ne sont que très rarement observés en Amérique; la clientèle canine étant majoritairement stérilisée (Feldman et Nelson, 2004). De plus, presque aucune des anomalies reproductives énumérées n'ont été concrètement démontrée chez le chien (Panciera, 2001). Une étude a mis en évidence la présence concomitante chez des Beagles d'une thyroïdite lymphocytaire et d'une orchite. Par contre, la fonction thyroïdienne de ces chiens n'avait pas été évaluée, et par conséquent aucun lien direct entre l'hypothyroïdie et les problèmes de reproduction masculins n'a peut être établi. Une réaction à médiation immunitaire commune est principalement suspectée (Fritz et coll., 1976; Panciera, 2001). Une étude rapporte une absence de changement de la libido et de la qualité du sperme chez des chiens mâles hypothyroïdiens induit à l'iode radioactif pendant un suivi sur une période de 2 ans (Johnson et coll., 1999). Chez la chienne, plusieurs manifestations anormales du cycle reproducteur ont été suggérées, principalement à partir de la littérature humaine. Cependant, de la galactorrhée a été rapportée chez des chiennes hypothyroïdiennes. L'hyperprolactinémie secondaire à la perte d'inhibition sécrétoire sur la TRH, donc la prolactine, par les hormones thyroïdienne est suggérée (Cortese et coll., 1997; Chastain et Schimdt, 1980).

En présence d'hypothyroïdie sévère, il peut il y avoir une accumulation dermique d'acides hyaluroniques et de mucopolysaccharides, causant un gonflement cutané particulièrement du visage (myxoedème), et donnant à ces chiens un aspect tragique à leur expression faciale (Feldman et Nelson, 2004; Ettinger et Feldman 1996). Très rarement, un animal hypothyroïdien peut être présenté dans un état de coma, causé par une accumulation cérébrale de mucines. Le Doberman pinscher est souvent mentionné lors de coma myxoedémateux (Ettinger et Feldman, 2000; Panciera, 2001).

La pathogénie des polyneuropathies observées lors d'hypothyroïdie demeure indéterminée et controversée. Une dysfonction des cellules de Schwann et un défaut métabolique du transport axonal sont suggérés (Panciera, 2001). Les neuropathies locales pourraient être d'origine similaire ou être causée par un coincement nerveux dans un dépôt myxoédémateux (Jaggy et coll., 1994). Malgré l'absence de signes cliniques neurologiques, il peut y avoir des anomalies électromyographiques (Panciera, 2001). Dans la majorité des cas, les poly/neuropathies sont réversibles suite au traitement de l'hypothyroïdie.

Les anomalies du système nerveux central sont d'origines similaires aux neuropathies périphériques, par contre de l'athérosclérose cérébrovasculaire est aussi documentée chez les hypothyroïdiens (Panciera, 2001).

Un lien direct entre le mégaoesophage, la paralysie laryngée et l'hypothyroïdie demeure très controversé. Une étude récente sur les facteurs de risque pour le développement d'un mégaoesophage n'a pas démontrée une incidence accrue pour les chiens hypothyroïdiens (Gayner et coll., 1997). De plus, il n'y a pas de documentation qui révèle la disparition d'un mégaoesophage suite à l'administration de lévothyroxine. Étant donné le risque de bronchopneumonies secondaires chez ces chiens, il est possible que la baisse des hormones thyroïdienne soit causée par un ESS. Chez l'humain, il y a une relation autoimmunitaire entre l'hypothyroïdie et la myasthénie grave. Cette dernière a été rapportée chez 5 chiens hypothyroïdiens (Dewey et coll., 1995).

Les effets des hormones thyroïdiennes sur le système cardiovasculaire sont subtils. La conduction, la contractilité, la chronotropie et la fonction systolique peuvent être affectés (Feldman et Nelson, 2004; Ettinger et Feldman, 2001; Panciera, 2001). De la bradycardie, un choc précordial affaibli et plus rarement des arythmies peuvent être observés. Malgré l'observation de changements échographiques compatibles avec une dysfonction systolique, la signification clinique de ces observations semble négligeable (Feldman et Nelson, 1994; Panciera, 2001). Une étude rétrospective chez des Dobermans pinscher souffrant de cardiomyopathie dilatée n'a pas identifiée d'incidence accrue d'hypothyroïdie par rapport aux Dobermans atteints de maladies non cardiaques

(Calvert, 1998). Lors de cardiomyopathie dilatée idiopathique, il est possible d'observer une diminution des hormones thyroïdiennes, par contre dans la majorité des cas il y a une réponse adéquate lors de stimulation à la TSH (voir section 5.7), suggérant un ESS (Feldman et Nelson, 2004). Un rapport de cas mentionne la présence d'hypothyroïdie chez deux grands Danois en insuffisance cardiaque secondaire à une cardiomyopathie dilatée. Chez ces 2 chiens, une amélioration clinique, échographique avec sevrage partiel de la médication cardiaque est survenue avec l'administration de thyroxine (Phillips et Harkin, 2003). La relation entre les problèmes cardiaques et l'hypothyroïdie demeure jusqu'à maintenant floue. L'hypothyroïdie pourrait exacerber une cardiopathie déjà existante, par contre leur présence concomitante pourrait aussi n'être que coïncidence. Certaines races de chien peuvent être prédisposées ont deux pathologies.

Les manifestations oculaires semblent excessivement rares, selon les études rétrospectives sur l'hypothyroïdie canine. Les dépôts lipidiques cornéens semblent davantage résulter de l'hyperlipidémie secondaire plutôt qu'être effet direct de l'hypothyroïdie (Panciera, 2001). Il n'y a pas d'évidence claire qu'un lien existe entre la kératoconjonctivite sèche et l'hypothyroïdie, par contre une réaction à médiation immunitaire commune est proposée (Kaswan et coll., 1985).

Il est très difficile d'évaluer la relation entre l'hypothyroïdie et la présence de diarrhée, principalement à cause de la fréquence importante de ce signe clinique lors de maladies non-thyroïdiennes. Une diminution des réponses myoélectriques et mécaniques du système digestif a été documentée chez des chiens expérimentalement devenus hypothyroïdiens (Kowalewski et Kolodej A, 1977). L'hypertriglycémie associée à l'hypothyroïdie est un facteur de risque pour le développement de pancréatite aiguë fatale (Hess et coll., 1999). Finalement, une surcroissance bactérienne a été rapportée chez 5 chiens hypothyroïdiens. Par contre, les preuves à l'appui d'un lien direct manquent (Jackson et coll., 1998).

4.4 Changements de laboratoire non spécifiques

Certaines anomalies de laboratoire nous permettent d'orienter le diagnostic d'hypothyroïdie. L'anémie et l'hypercholestérolémie figurent parmi les changements clinicopathologiques les plus fréquemment observés (Feldman et Nelson, 2004; Dixon et coll., 1999; Ettinger et Feldman, 2000).

Une anémie légère normocytaire normochrome est observée dans 30-44% des cas (Kaelin et coll., 1986; Panciera, 1994; Feldman et Nelson, 2004; Ettinger et Feldman, 2000). L'hématocrite des chiens anémiques varie entre 25-36% (Feldman et Nelson, 2004). Une diminution de la production d'érythropoïétine et de la stimulation des cellules précurseurs érythroïdes par les hormones thyroïdiennes semblent être en cause (Dixon et coll., 2001). L'évaluation morphologique des globules rouges pourrait révéler la présence de leptocytes. Ces cellules résulteraient de l'hypercholestérolémie et de l'accumulation membranaire excessive de cholestérol (Feldman et Nelson, 2004)

Selon certaines études, une hypercholestérolémie est rapportée dans 71-78% des cas d'hypothyroïdie canine (Kaelin et coll., 1986; Panciera, 1994; Dixon et coll., 1999). Cette anomalie serait causée par une diminution de la dégradation des molécules lipidiques contenant du cholestérol et, dans une moindre mesure, par une augmentation de la synthèse hépatique (Feldman et Nelson, 2004; Christopher, 1997; Ettinger et Feldman, 2000). Bien que l'hypercholestérolémie ne soit pas pathognomonique de l'hypothyroïdie, il semble que le degré d'augmentation aide à différencier entre les chiens hypothyroïdiens et euthyroïdiens. Effectivement, 53% des chiens hypothyroïdiens avaient un cholestérol supérieur à 10 mmol/L (valeurs normales : 2-7 mmol/L) versus 22% des chiens euthyroïdiens, et 20% des hypothyroïdiens avaient un cholestérol supérieur à 15 mmol/L versus 4% des euthyroïdiens (Dixon et coll., 1999). L'hypercholestérolémie est aussi fréquemment observée lors d'hyperadrénocorticisme, de diabète mellitus, de glomérulopathie et d'hépatopathie (Feldman et Nelson, 2004).

Occasionnellement, une élévation de la créatine kinase sérique, habituellement légère, peut-être notée lors d'hypothyroïdie. Cette élévation semble être secondaire à

une diminution du métabolisme ou de l'excrétion, ou pourrait être reliée à une myopathie secondaire (Panciera, 1994; Feldman et Nelson, 2004; Dixon et coll., 1999).

Après exclusion des chiens diabétiques, une hyperglycémie non significative (45%), ainsi qu'une augmentation des fructosamines (36%) ont été rapportées. L'élévation des fructosamines est probablement le reflet d'une réduction du rythme de renouvellement protéique, plutôt qu'un mauvais contrôle glycémique (Dixon et coll., 1999).

Lors d'hypothyroïdie, il est suggéré qu'une anomalie de coagulation secondaire à une déficience en facteur von Willebrand puisse survenir (Avgeris et coll., 1990; Feldman et Nelson, 2004). Par contre, selon d'autres études, un phénomène racial est davantage suspecté. Plus de 50% des chiens étudiés étaient des Dobermans pinscher, une race chez qui la maladie de von Willebrand est fréquente (Avgeris et coll., 1990; Brooks et coll., 1992). Après induction d'un état d'hypothyroïdie, aucun changement significatif du niveau de facteur von Willebrand n'a été noté, et le temps de saignement buccal ne semble pas prolongé chez les chiens hypothyroïdiens (Dixon et coll., 1999). D'autres études sont nécessaires afin de conclure un lien entre la maladie de von Willebrand et l'hypothyroïdie.

Une thrombocytose et des microthrombocytes ont parfois été observés lors d'hypothyroïdie, par contre la signification clinique de ce changement demeure vague (Feldman et Nelson, 2004; Dixon et coll., 1999).

4.5 Traitement

La L-thyroxine synthétique est le traitement de choix pour le contrôle de l'hypothyroïdie canine. Le dosage initial est de 22 µg/kg aux 12 heures pour un dosage maximal de 0.8 mg par chien deux fois par jour.

La concentration de la T4 devrait être réévaluée un à deux mois plus tard, et le dosage de L-thyroxine est ajusté en conséquence. On recherche normalement une T4T dans les limites de référence au plateau, et une TT4 à la limite supérieure de la normale, et même légèrement plus élevée au pic. Dans la majorité des cas, une seule

administration journalière est adéquate. Il est recommandé de surveiller la T4T à toutes les 6 à 8 semaines pendant les 6 à 9 mois premiers mois de traitement, car le métabolisme de la T4 changera avec la normalisation du rythme métabolique de l'animal. Une amélioration clinique de l'inactivité peut être notée dès la première ou deuxième semaine de traitement. Par contre, l'amélioration du pelage, la perte de poids et la normalisation des anomalies de laboratoire peuvent nécessiter jusqu'à quatre à six semaines. Quant aux changements myocardiques, neurologiques et l'hyperpigmentation cutanée, plusieurs mois de traitement peuvent être nécessaires avant de noter une normalisation (Ettinger et Feldman, 2000).

5. Outils diagnostiques

5.1 Thyroxine totale

La mesure de la T4T sérique évalue la concentration plasmatique de T4 liée aux protéines de transport, en plus de la portion libre en circulation. Selon les laboratoires, les valeurs de référence peuvent osciller entre 15 et 55 nmol/L. L'hypothyroïdie semble peu probable lorsque la T4T est supérieure à 15 nmol/L et extrêmement rare quand supérieure à 25 nmol/L. De l'hypothyroïdie peut être suspectée lorsque que la T4T est inférieure à 11 nmol/L, mais une zone grise existe pour les valeurs se situant entre 12 et 19 nmol/L (Kemppainen et Behrend, 2001).

La méthode de dosage la plus souvent utilisée par les laboratoires commerciaux est la radioimmunoessai (RIA) à l'aide d'une trousse spécifique pour la race canine. La présence d'anticorps contre la thyroxine lors de thyroïdite lymphocytaire peut interférer avec le dosage de la T4 par RIA. Des résultats faussement et exagérément bas ou plus souvent élevés peuvent survenir. Il s'agit d'une observation relativement rare, car seulement 0.3-0.8 % des sérums canins évalués sont positifs pour la présence d'autoanticorps anti-T4 (Nachreiner et coll., 1990; Kemppainen et coll., 1996; Refsal et coll., 1998).

Malgré qu'il s'agisse d'un bon test de dépistage, le dosage de la T4T seule permet rarement de confirmer la présence d'une hypothyroïdie (Peterson et coll., 1997). Lors d'hypothyroïdie, il rare d'observer une T4T dans les valeurs de référence, par contre une T4T basse n'y est pas spécifique (Peterson et coll., 1997; Ramsey et coll., 1997; Scott-Moncrieff et coll., 1998). Comme mentionné dans la section 4 de ce chapitre, plusieurs maladies non-thyroïdiennes, l'administration de certains médicaments, ainsi que les fluctuations journalières peuvent influencer à la baisse la T4T. Plusieurs études démontrent bien le chevauchement existant entre les valeurs de T4T des chiens hypothyroïdiens et euthyroïdiens (Nelson et coll., 1991; Peterson et coll., 1997; Ramsey et coll., 1997; Scott-Moncrieff et coll., 1998; Dixon et Mooney, 1999; Kantrowitz et coll., 2001). Il est donc recommandé de confirmer le diagnostic avec d'autres tests diagnostiques, lorsque la T4T est diminuée et que l'hypothyroïdie est suspectée.

5.2 Thyroxine libre

Comme mentionné dans la section 1.3, c'est la fraction libre des hormones thyroïdiennes qui ont la capacité de pénétrer la cellule afin de réaliser l'effet biologique désiré. Étant donné la faible concentration sérique de la T4L (moins de 1%), il est techniquement difficile de la mesurer efficacement. Parmi les méthodes de dosage disponibles, celle après dialyse à l'équilibre est rapportée être la plus fiable. Les méthodes par chimiluminescence ou RIA ne semblent pas offrir d'avantage par rapport à la T4T standard (Nelson et coll., 1991; Peterson et coll., 1997; Scott-Moncrieff et coll., 1994). Selon une étude, une sensibilité de 98% et une spécificité de 93% sont rapportées, lorsque que le dosage de la T4L par dialyse seul est utilisé pour le diagnostic de l'hypothyroïdie canine (Peterson et coll., 1997). Dixon et coll. concluent plutôt que la mesure de la T4L par dialyse n'ajoute pas de précision au diagnostic d'hypothyroïdie, lorsque combiné à un dosage de la T4T (Dixon et coll., 1999).

La T4L semble moins affecté par les maladies non-thyroïdiennes et l'administration de médicaments (Peterson, 1997), par contre l'hypercortisolémie et l'administration de phénobarbital peuvent engendrer une suppression de la T4L (Ferguson et Peterson, 1992; Ferguson, 1994; Kantrowitz et coll., 1999). Une étude récente rapporte une baisse de la T4L chez 21.5% des chiens affectés par une maladie systémique non-thyroïdienne. Cette même étude documente aussi une relation entre la sévérité clinique de la maladie et le pourcentage de chiens exhibant un T4L basse (Kantrowitz, 2001).

Selon les laboratoires, les valeurs de référence varient entre 10 et 45 pmol/L (Kemppainen et Behrend, 2001). Le dosage de la T4L par dialyse à l'équilibre n'est pas affecté par la présence d'anticorps anti-T4 (Ettinger et Feldman, 2000).

5.3 Triiodothyronine

Il semble théoriquement intéressant de mesurer la quantité de T3 en circulation, car elle est l'hormone biologiquement active, mais elle présente très peu d'intérêt du point vu pratique. Il existe un chevauchement considérable par rapport à la T3 totale (T3T) entre

les chiens hypothyroïdien et euthyroïdiens malades ou en santé (Nelson et coll., 1991, Miller et coll., 1992). Lors d'un dysfonctionnement thyroïdien, il y a davantage réduction de la sécrétion de la T4 que de la T3 et la déiodination de la T4 en T3 est induite. Ces mécanismes d'adaptation participe au maintien du niveau de T3 en circulation lors d'hypothyroïdie (Peterson et coll., 1997). La présence d'anticorps anti-T3 peut aussi interférer avec le dosage de la T3T par RIA (Kempainen et coll., 1996; Peterson et coll., 1997). Malgré l'incidence d'anticorps anti-T3 légèrement plus élevée que pour les anti-T4s, cette interférence ne semble pas problématique, car le dosage de la T3 n'est peu ou pas utilisé pour le diagnostic de l'hypothyroïdie canine.

Utilité de la T3 libre (T3L) dans le processus diagnostique de l'hypothyroïdie n'a pas encore été élucidée en médecine vétérinaire (Ettinger et Feldman, 2000).

5.5 Reverse Triiodothyronine

En médecine humaine, lors d'ESS, il se produit une diminution de l'activité extrathyroïdienne de la 5'-déiodinase. Ce changement cause une diminution de la T3 et une augmentation de la rT3 (voir section 1.2) (Antony et coll., 1998; Ettinger et Feldman, 2000). Une augmentation de la rT3 a été observée suite à l'administration d'endotoxine à des chiens (Yu et coll., 1998). Par contre, l'utilisation de la rT3 afin de différencier l'euthyroïdie de l'hypothyroïdie, n'a pas encore été cliniquement étudiée en médecine vétérinaire.

5.5 Thyréotropine endogène canine

Normalement, lors d'hypothyroïdie primaire, une augmentation de la TSH est observée. Cette élévation est causée par une diminution du rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de TSH par les hormones thyroïdiennes (voir section 2.2). Depuis 1995, une trousse commerciale est disponible afin de mesurer le niveau sérique de TSH endogène canine (TSHc) (Nachreiner et coll., 1995). Après induction d'un état d'hypothyroïdie chez 6 chiens, une élévation de la TSHc a été notée chez chacun d'entre eux (William et coll., 1995). Plusieurs études cliniques ont par la suite démontrées qu'il existe des résultats faussement positifs et négatifs lors du dosage de la TSHc.

Il est possible d'observer une TSHc élevée chez des chiens euthyroïdiens, et ce nombre varie entre 7-31% selon les études effectuées (Peterson et coll., 1997; Ramsey et coll., 1997; Scott-Moncrieff et coll., 1998; Dixon et Mooney, 1999). Cette augmentation inappropriée de la TSHc est dans la majorité des cas associée à une T4T normale. Ces résultats discordants pourraient s'expliquer par un mécanisme physiologique de récupération lors d'un ESS, par l'administration de certains médicaments ou par une hypothyroïdie subclinique où une TSH supraphysiologique serait en mesure de maintenir le niveau de T4 sérique (Peterson et coll., 1997; Scott-Moncrieff et coll., 1998, Dixon et Mooney, 1999). Dans l'étude de Dixon et Mooney, une TSHc initialement élevée chez un des chiens de l'étude est restée au dessus des valeurs de référence pour une période de an, sans jamais que l'animal ne développe de signe clinique d'hypothyroïdie (Dixon et Mooney, 1999). Il est possible, tout comme chez l'humain, que certains chiens normaux puissent avoir une TSH en dehors des valeurs de référence (Peterson et coll., 1997; Dixon et Mooney, 1999). De plus, étant donné que trois des *Bearded collies* de l'étude avaient une TSHc anormalement élevée, il est possible qu'un effet racial soit en cause (Dixon et Mooney, 1999).

Les hypothyroïdiens peuvent avoir une TSHc dans les valeurs de référence; ces faux négatifs sont davantage problématiques pour l'évaluation de la fonction thyroïdienne. Selon les études, 18 à 38% de chiens hypothyroïdiens confirmés avaient une TSHc normales (Peterson et coll., 1997; Ramsey et coll., 1997; Scott-Moncrieff et coll., 1998; Dixon et Mooney, 1999). Les explications possibles sont : une fluctuation journalière de la TSHc, un hypothyroïdie secondaire ou tertiaire, une maladie systémique ou l'administration de médicament concomitants, la présence d'isoformes de TSHc non-détectés par le test ou un épuisement sécrétoire hypophysaire lors d'hypothyroïdie chronique (Peterson et coll., 1997; Scott-Moncrieff et coll., 1998; Dixon et Mooney, 1999; Ettinger et Feldman, 2000).

Selon une étude récente, la TSHc était moins susceptible d'être influencée par la présence d'une maladie systémique non-thyroïdienne comparativement à la T3, T4T et T4L (Kantrowitz et coll., 2001). L'utilisation de TSHc en combinaison avec la T4T et/ou la T4L devrait augmenter la précision diagnostique lors de suspicion

d'hypothyroïdie canine (Scott-Moncrieff et coll., 1998). Certains ont observé une plus grande précision avec l'utilisation de la T4L seule lorsque comparée à la TSHc et la T4T respectivement (Peterson et coll., 1997). Normalement, une TSHc supérieure à 0.6 ng/ml et une T4 (totale ou libre) diminuée confirme la présence d'une hypothyroïdie (Scott-Moncrieff et coll., 1998; Krantowitz et coll., 1999). Lors de résultats conflictuels, il est recommandé de réévaluer la fonction thyroïdienne ultérieurement, soit 4-8 semaines plus tard.

5.6 Test de stimulation à la TSH

Depuis longtemps, et encore maintenant, le test de stimulation à la TSH est considéré comme l'outil diagnostique le plus fiable afin d'évaluer la fonction thyroïdienne canine (Panciera, 1999; Ettinger et Feldman, 2000; Kemppainen et Behrend, 2001). Le test de stimulation à la TSH est beaucoup moins susceptible d'être affecté par la présence d'une maladie systémique non-thyroïdienne et l'administration de drogues (Feldman et Nelson, 2004; Panciera, 1999). Ce test était normalement effectué à l'aide de TSH d'origine bovine (TSHb) (Thyropar, Armour Pharmaceutical Co), mais cette molécule a été retirée du marché pharmaceutique (Peterson et coll., 1997; Scott-Moncrieff, 1998). Une forme industrielle hautement purifiée de TSHb (Thyrotropic Hormone, Sigma) (Dixon et Mooney, 1999) est toujours disponible, par contre certains effets secondaires et/ou des réactions sévères de type anaphylactique ont été rapportés lors de son utilisation chez le chien (Panciera, 1999).

Lors d'euthyroïdie, une injection de TSH devrait occasionner une élévation de la T4 de base (voir section 2.2). Plusieurs protocoles sont décrits dans la littérature vétérinaire, par contre le dosage de la T4T avant et 6 heures après l'injection intraveineuse (IV) de TSHb dosée à 0.1 unités/kg pour un maximum de 5 unités par chien est le plus souvent utilisé (Peterson et coll., 1997; Scott-Moncrieff, 1998; Dixon et Mooney, 1999; Ettinger et Feldman, 2000). Une étude démontre qu'une plus petite dose de TSHb, c'est-à-dire 1 unité de TSHb par chien de moins de 30 kg et 2 unités pour ceux de 30 kg et plus, peut induire une stimulation adéquate de la glande thyroïde (Paradis et coll., 1994). Dans une autre étude, lorsqu'une unité de TSHb par chien est utilisée, une stimulation thyroïdienne appropriée est notée, mais l'élévation de la T4T

de base observée est significativement inférieure à celle obtenue avec l'utilisation d'une dose standard de TSHb (Beale et coll., 1990).

Plusieurs critères définissant l'état d'euthyroïdie sont aussi décrits. Le tableau IV énumère la grande majorité de ces critères utilisés aux cours des dernières années.

Étant donné la difficulté d'approvisionnement en TSHb, les coûts associés au test, la capacité actuelle de doser la TSHc endogène et la possibilité de réactions adverses suite à l'administration de TSHb; la stimulation à la TSHb n'est que rarement ou pratiquement plus utilisée dans l'investigation clinique de l'hypothyroïdie canine (Pancier, 1999; Ettinger et Feldman, 2000; Kemppainen et Behrend, 2001). Par contre, lors de résultats de T4 et TSH équivoques, ce test demeure toutefois très intéressant. Récemment, un étude a démontré que la TSH humaine recombinée stimulait la glande thyroïde de chiens normaux (voir section 6.4.2) (Sauvé et Paradis, 2000).

TABLEAU IV : CRITÈRES D'EUTHYROÏDIE ET D'HYPOTHYROÏDIE LORS DE STIMULATION À LA TSHB CHEZ LE CHIEN.

RÉFÉRENCE	EUTHYROÏDIE	HYPOTHYROÏDIE	ZONE GRISE
White, 1989	T4T post-TSHb (4h) > 3µg/dl (38 nmol/L) et/ou ↑ 2x T4T basale		
Beale et coll., 1990 (1 unité/chien)	T4T post-TSHb (4h) > 2.5 µg/dl (32 nmol/L)		
Paradis et coll., 1991 et 1994	TT4 post-TSHb (4/6 h) > 45nmol/L ou ↑ de 24 nmol/L p/r T4T basale		
Pancierera, 1994	T4T post-TSHb (6h) > 35 nmol/L	T4T post-TSHb (6h) < 19 nmol/L	T4T post-TSHb (6h) entre 19-35 nmol/L
Dixon et coll., 1996	T4T post-TSHb (6h) > 23 nmol/L ou ↑ 1.5x T4T basal		
Peterson et coll., 1997		T4T post-TSHb (6h) < 20 nmol/L	
Scott-Moncrieff et coll., 1998	T4T post-TSHb (6h) > 2.5 µg/dl (32 nmol/L)	T4T post-TSHb (6h) ≤ 1.5 µg/dl (19 nmol/L)	T4T post-TSHb (6h) entre 1.5-2.5 µg/dl (19-32 nmol/L)
Dixon et Mooney, 1999	T4T post-TSHb (6h) > 30 nmol/L ou ↑ 1.5x T4T basal	T4T post-TSHb (6h) < 20 nmol/L	
Pancierera, 1999	T4T post-TSHb (6h) > 30 nmol/L	T4T post-TSHb (6h) < 20 nmol/L	
Ettinger et Feldman, 2000	T4T post-TSHb (6h) > 3 µg/dl (38 nmol/L)	T4T post-TSHb (6h) < 1.5 µg/dl (19 nmol/L)	T4T post-TSHb (6h) entre 1.5-3 µg/dl (19-38 nmol/L)

↑ : Augmentation, T4T post-TSHb () : T4T 4 (4h) ou 6 (6h) heures après l'injection de TSHb, X : multiplicateur

5.7 Test de stimulation à la TRH

Étant donné la difficulté à obtenir la TSHb, des études évaluant l'utilité clinique d'un test de stimulation à la TRH ont été effectuées. Lors d'hypothyroïdie primaire, l'injection de TRH devrait stimuler la sécrétion pituitaire de TSH et par conséquent causée une élévation des hormones thyroïdiennes (voir section 2.2). Chez le chien, l'évaluation de la T4T en réponse à une injection de TRH est peu fiable, car un bon nombre de patients euthyroïdiens ne démontre pas d'élévation significative de la T4T (Lothrop et coll., 1984; Kaufman et coll., 1985; Frank, 1996; Panciera 1999). Par contre, une élévation appropriée de la T4T établit l'euthyroïdie (Panciera 1999).

Chez l'humain, l'évaluation de la TSH en réponse à l'administration de TRH permet de différencier entre l'hypothyroïdie primaire et secondaire. Chez le chien, la majorité ne démontre pas d'élévation exagérée de la TSHc suite à l'administration de TRH synthétique lors d'hypothyroïdie primaire. Ce test ne semble donc pas fiable pour établir l'origine de l'hypothyroïdie chez le chien (Ettinger et Feldman, 2000). La détermination de la TSHc en réponse à la TRH aide à différencier entre l'euthyroïdie et l'hypothyroïdie canine, par contre ne semble pas ajouter d'avantage aux dosages de la T4 (totale ou libre) et TSHc combinés (Scott-Moncrieff et coll., 1998).

L'administration IV de TRH synthétique à des chiens peut être associée à des effets secondaires indésirables : salivation transitoire, vomissements, défécations inappropriées, tachypnée et dépression (Lothrop et coll., 1984; Ettinger et Feldman, 2000). Ces effets secondaires semblent être reliés à la dose et la voie d'administration de la TRH (Lothrop et coll., 1984; Yagi K et coll., 2000)

Pour toutes les raisons énumérées dans la présente section, la stimulation à la TRH est très peu utilisée pour l'évaluation clinique de la fonction thyroïdienne canine.

5.8 Anticorps contre les hormones thyroïdiennes et la thyroglobuline

La présence d'anticorps contre la thyroglobuline et les hormones thyroïdiennes peut être notée chez le chien. Les anticorps thyroïdiens les plus fréquents chez le chien sont

ceux dirigés contre la thyroglobuline (AATG) (Haines et coll., 1984; Beale et coll., 1990; Dixon et Mooney, 1999; Daminet et Paradis, 2000). Bien que moins fréquents, les anticorps contre la T3 et la T4 sont aussi rapportés (Young et coll., 1985; Kempainen et Young, 1992; Refsal et Nachreiner, 1998). Le tableau V cite la prévalence des différents anticorps thyroïdiens de 16 250 sérums canins évalués pour la présence d'une maladie thyroïdienne; classés selon la présence d'hypothyroïdie, la présence AATG et la présence d'hypothyroïdie combinée à la présence d'AATG (Graham et coll., 2001).

TABLEAU V : PREVALENCE D'ANTICORPS THYROÏDIENS DE 16 250 SÉRUMS CANINS ÉVALUÉS POUR LA PRÉSENCE D'UNE MALADIE THYROÏDIENNE (modifié de Graham et coll., 2001)

ANTICORPS	HYPOTHYROÏDIENS (%)	AATG POSITIFS (%)	HYPOTHYROÏDIENS AAGT POSITIFS (%)
AATG	55	100	100
ANTI-T3	34	41	53
ANTI-T4	15	16	22
ANTI-T3 et T4	11	13	18
AATG seul.	24	56	43
ANTI-T3 seul.	23	28	34
ANTI-T4 seul.	3	3	4

ANTI-T3 ou T4 : anticorps contre la T3 ou la T4, seul. : seulement

Il semble que la thyroglobuline soit la source antigénique principale responsable de la réaction immunitaire. Lors de thyroïdite lymphocytaire, la thyroglobuline serait relâchée, et par le fait même présenterait au système immunitaire les hormones thyroïdiennes (Young et coll., 1991; Gashen et coll., 1993). Il est important de noter que la présence d'anticorps thyroïdiens n'est pas synonyme d'une dysfonction thyroïdienne. L'évidence d'autoimmunité est cependant reconnue comme un facteur de risque à développer une thyroïdite lymphocytaire (voir section 4.1). Il est présentement incertain si ces chiens développeront éventuellement une hypothyroïdie clinique. Par

contre, la présence d'AATG chez un chien hypothyroïdien supporte un diagnostic de thyroïdite lymphocytaire (Ettinger et Feldman, 2000; Kemppainen et Behrend, 2001).

La prévalence d'AATG chez des chiens non-hypothyroïdiens varie considérablement, entre 0-20%. Il semble que la méthode de dosage ait un rôle important à jouer (Haines et coll., 1984; Dixon et Mooney, 1999). Selon de récentes études, où une méthode par *enzyme-linked immunoabsorbant assay* (ELISA) a été utilisée, moins de 5% des chiens normaux ont testé positif pour la présence d'AATG (Nachreiner et coll., 1998; Dixon et Mooney, 1999).

En absence d'anticorps thyroïdiens, principalement d'AAGT, il n'est pas possible d'exclure la présence d'une hypothyroïdie actuelle ou future. En effet, d'autres étiologies qu'une thyroïdite à médiation immunitaire peuvent être présentes (voir section 4.1) et il pourrait y avoir une disparition des autoanticorps suite à la destruction graduelle de la glande thyroïde (Kemppainen et Behrend, 2001).

Finalement, le dosage des anticorps thyroïdiens est recommandé pour le dépistage précoce d'hypothyroïdie canine chez certaines races de chiens à risque et vouée à la reproduction. L'efficacité de cette méthode n'a pas encore été évaluée.

5.9 Scintigraphie

Malgré son utilité pour l'évaluation thyroïdienne féline lors de suspicion d'hyperthyroïdie, la scintigraphie n'est que très rarement utilisée dans le processus diagnostique de l'hypothyroïdie canine. Plusieurs raisons expliquent cette observation : l'exposition radioactive du patient et du personnel, le coût élevé et la faible disponibilité de l'équipement (Panciera, 1999).

5.10 Biopsie thyroïdienne

Malgré qu'une la présence d'une thyroïdite lymphocytaire et/ou d'une atrophie folliculaire puisse être relativement facilement identifiable, plusieurs inconvénients accompagnent l'évaluation histopathologique de la glande thyroïde. Il s'agit d'une

méthode relativement invasive, nécessitant une anesthésie et une approche chirurgicale. De plus, la présence de lésions histologiques n'est pas nécessairement associée à une dysfonction thyroïdienne clinique. Ce test demeure donc cliniquement difficilement justifiable (Panciera, 1999; Ettinger et Feldman, 2000)

5.11 Essai thérapeutique

L'essai thérapeutique comme méthode diagnostique primaire est fortement déconseillé. Même en absence d'hypothyroïdie, on peut observer une amélioration des signes cliniques initialement notés, soit parce que le problème est transitoire (ex : alopecie récidivante des flancs) ou par une stimulation métabolique générale de l'animal traité. S'il est impossible d'éviter l'essai thérapeutique, à cause de résultats équivoques, il est fortement recommandé de confirmer la récurrence des signes cliniques après l'arrêt de la médication (Ettinger et Feldman, 2000).

6.1 Résumé

Un traitement avec de la L-thyroxine pour le reste de la vie d'un animal peut être coûteux et entraîner des effets secondaires. Il est donc essentiel d'obtenir un diagnostic définitif avec le plus de confiance possible. Les recommandations actuelles à notre institution sont de doser la T4T et/ou la T4L, ainsi que la TSHc endogène. Dans la majorité des cas, il sera possible de différencier entre un état d'euthyroidie (T4T > 15 nmol/L et TSH < 0.6 ng/ml) et d'hypothyroidie (T4T < 15 nmol/L et TSH > 0.6 ng/ml). Par contre, lors de résultats contradictoires ou douteux, il est recommandé de soit répéter les tests 4 à 8 semaines plus tard ou d'effectuer d'autres tests si possible ou disponibles (ex : ATGG ou stimulation à la TSH). Il est important de bien sélectionner les patients évalués, c'est-à-dire de se limiter à des chiens chez qui le signalement et les signes cliniques sont suggestifs d'hypothyroidie. Il est aussi impératif de se renseigner et d'évaluer pour la possibilité d'une maladie systémique concomitante et/ou la prise de médicament chez ces patients avant de procéder à l'évaluation de leur fonction thyroïdienne.

6. Thyréotropine humaine recombinée (TSHhr)

Récemment, une autre forme pharmacologique de TSH a été commercialisée, il s'agit d'une hormone synthétique produite par génie génétique : la TSH humaine recombinée (TSHhr). La TSHhr a été exprimée avec succès au sein d'une lignée de cellules ovariennes de hamster chinois, ainsi que par des cellules rénales embryogéniques humaines transformées. La TSHhr résultant d'une expression cellulaire ovarienne a été purifiée, caractérisée, et est maintenant produite à grande échelle en laboratoire (Thotakura et coll., 1991; Braverman et coll., 1992; Ribella et coll., 1996) (Thyrogen®, Genzyme Corp.). Le Thyrogen® est présenté sous forme de poudre lyophilisée dans des fioles individuelles contenant 1.1 mg du produit (seulement 0.9 mg peut être récupéré), et vendu en paire. Une fois reconstituée avec de l'eau stérile, la TSHhr peut être conservée de façon stérile à une température variant entre 2 et 8 °C pour une période de 24 heures (Monographie Thyrogen, 1999).

6.1 Études en médecine humaine

Il a d'abord été établi que la TSHhr pouvait stimuler l'activité de l'adénylate cyclase de cellules de rats (FRTL-5) et de cellules thyroïdiennes embryogéniques d'origine bovine et humaine, suggérant donc une activité biologique thyroïdienne *in vivo* probable (Thotakura et coll., 1991; Huber et coll., 1991). Une autre étude démontre par la suite que la TSHhr peut se lier aux récepteurs thyroïdiens de la TSH de souris et de rats (Colzani et coll., 1998). Suite à l'injection de TSHhr à des singes rhésus, une relâche d'hormones thyroïdiennes est observée (Braverman et coll., 1992). D'autres études établissent que l'administration de TSHhr à des individus normaux ou à des patients atteints d'un cancer thyroïdien et possédant du tissu néoplasique résiduel, a la capacité de stimuler la sécrétion hormonale. Chez les patients normaux, l'élévation de la T4, T3 et thyroglobuline semble tout aussi importante qu'avec l'utilisation de TSHb (Meier et coll., 1994; Ramirez et coll., 1997).

En médecine humaine, la TSHhr est principalement utilisée pour le suivi de patients atteint de carcinome thyroïdien bien différencié, tout en évitant l'arrêt indésirable des

suppléments thyroïdiens (Mieir et coll., 1994; Hussain et coll., 1996; Landeson et coll., 1997; Landeson, 1999; Luster et coll., 2000). Avant l'arrivée de la TSHhr sur le marché, de la TSHb était utilisée. La TSHb a éventuellement été retirée du marché pharmaceutique car une incidence importante d'effets secondaires adverses et de réactions allergiques accompagnait son utilisation chez l'humain. De plus, l'administration répétée de TSHb pouvait entraîner la production d'anticorps contre la TSH humaine et/ou bovine. Ces anticorps avaient la capacité d'interférer avec le dosage de la TSH par une méthode RIA et de neutraliser la TSH bovine et même humaine. Chez l'humain, la production d'anticorps anti-TSHhr et les réactions allergiques secondaires à l'administration de TSHhr ne sont pas rapportées jusqu'à maintenant (Mieir et coll., 1994; Ramirez et coll., 1997). Malgré l'absence de réactions adverses sévères lors de l'utilisation de la TSHhr chez l'humain, quelques rares effets secondaires sont notés : nausée, vomissements, fièvre et céphalées (Meier et coll., 1994; Monographie Thyrogen, 1999).

L'hypophyse de cadavre humain aurait été une excellente source de TSH. Par contre, le risque de transmission de l'agent de la maladie de Creutzfeldt-Jacob empêcherait catégoriquement son utilisation clinique.

6.2 Etudes en médecine vétérinaire

Il existe très peu de documentation sur l'utilisation de la TSHhr dans la littérature vétérinaire. L'intérêt de la TSHhr en médecine vétérinaire réside toujours dans son utilisation comme outil diagnostique dans l'évaluation de la fonction thyroïdienne lors d'une stimulation à la TSH (voir section 5.6).

Récemment, une étude a évalué l'utilisation de la TSHhr lors d'un test de stimulation à la TSH chez des chiens Beagle en santé. Cette étude démontre la présence d'un effet biologique de la TSHhr sur la glande thyroïdienne canine. Une augmentation de la T4T a été observée suite à l'injection IV, intramusculaire (IM) ou sous-cutanée (SC) de TSHhr. Différentes doses ont été étudiées, mais l'injection de 50 µg IV de TSHhr a été jugée optimale pour des chiens pesant en moyenne 14 kg. Le comportement de la TT4 suite à l'administration de TSHhr semble être similaire à la

TSHb. Un plafond de T4T sérique est observé environ 6 heures après l'injection de la TSHhr (Sauvé et Paradis, 2000). Dans une autre étude, où la fonction thyroïdienne de Beagles obèses participant à un programme d'amaigrissement est évaluée, une stimulation à la TSHhr est utilisée afin de d'appuyer l'euthyroïdie chez ces chiens. Une dose de 90 µg IV de TSHhr a été utilisée, et le comportement de la T4T est similaire à la précédente étude (Daminet et coll., 2003).

De Roover et coll. ont récemment évalué l'effet de la réfrigération et congélation sur la TSHhr lors d'un test de stimulation à la TSH chez des Beagles en santé. Il a été conclu que la réfrigération (4°C) d'une durée de 4 semaines, ainsi qu'une congélation (-20 °C) de 8 semaines de la TSHhr reconstituée n'entraînaient pas de perte de son activité biologique (De Roover et coll., 2003). Étant donné le coût important de la TSHhr, il pourrait être financièrement avantageux d'effectuer plusieurs stimulations à la TSHhr à partir d'une même fiole, donc davantage cliniquement réalisable.

Aucun n'effet secondaire ou réaction allergique n'ont été notés lors de l'utilisation de la TSHhr chez le chien. L'induction d'anticorps anti-TSH, suite à l'administration de TSHhr n'a pas été évaluée dans les études mentionnées ci-haut (Sauvé et Paradis, 2000; Daminet et coll., 2003; De Roover et coll., 2003).

Cette étude a pour but d'évaluer l'utilité clinique de la TSHhr comme outil diagnostique pour l'hypothyroïdie canine, lors d'une stimulation à la TSH.

CHAPITRE DEUXIÈME

ARTICLE

**Use of recombinant human thyroid-stimulating hormone for thyrotropin stimulation
test in healthy, hypothyroid and euthyroid sick dogs.**

Lyanne Fifle, Manon Paradis, Sylvie Daminet, Maxim Moreau

From the Companion Animal Research Group, Faculté de médecine vétérinaire, Université
de Montréal, P.O. Box 5000, St-Hyacinthe (Quebec), J2S 7C6

Address correspondence to Dr Manon Paradis

Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, P.O. Box 5000, St-Hyacinthe
(Quebec), J2S 7C6



Reprints will not be available.

This project was funded by the "Fonds du Centenaire" of the Faculté de médecine
vétérinaire, Université de Montréal, and by the "Académie de Médecine Vétérinaire du
Québec".

Abstract

Recombinant human thyroid-stimulating hormone (rhTSH) was evaluated for the diagnosis of canine hypothyroidism using TSH stimulation tests.

Phase I: stimulation tests were performed in 6 healthy dogs weighing over 20 kg using 50 and then 100 µg of freshly reconstituted rhTSH administered intravenously. In phase II, these dogs were stimulated using 100 µg of rhTSH frozen for 3 months under -20°C. Phase III: stimulation tests were performed using 50 or 100 µg of freshly reconstituted or frozen rhTSH in healthy (n=14), euthyroid sick (n=11) and hypothyroid dogs (n=9).

A dose of 100 µg of rhTSH was judged more appropriate for dogs weighing more than 20 kg. Freezing was not associated with loss of rhTSH biological activity. When stimulated, significant ($P<0.05$) increases in total thyroxine concentration were observed only in healthy and euthyroid sick dogs. Results of this study suggest that rhTSH is able to differentiate euthyroidism from hypothyroidism in dogs.

Résumé

Utilisation de la thyrotropine humaine recombinée (TSHhr), lors d'un test de stimulation à la TSH, chez des chiens en santé, atteints de maladies systémiques et hypothyroïdiens.

La thyrotropine humaine recombinée (TSHhr) fut évaluée pour le diagnostic de l'hypothyroïdie canine à l'aide de tests de stimulation à la TSH.

Phase I : des stimulations intraveineuses ont été effectuées chez 6 chiens en santé de plus de 20 kg utilisant 50 et 100 µg de TSHhr nouvellement reconstituée. Lors de la phase II, ces chiens furent stimulés à l'aide de 100 µg de TSHhr congelée depuis 3 mois à -20°C. Phase III : des stimulations utilisant 50 ou 100 µg de TSHhr nouvellement reconstituée ou congelée ont été effectués chez des chiens en santé (n=14), euthyroïdiens atteints d'une maladie systémique (n=11) et hypothyroïdiens (n=9).

Une dose de 100 µg de TSHhr a été jugée appropriée chez des chiens de plus de 20 kg. La congélation de la TSHhr n'a pas entraînée la perte de sa capacité biologique stimulatrice. Lorsque stimulé, la concentration sérique de thyroxine totale fut significativement augmentées ($P < 0.05$) seulement chez les chiens en santé et ceux euthyroïdiens atteints d'une maladie systémique. Cette étude démontre que l'utilisation de la TSHhr permet de différencier l'euthyroïdie de l'hypothyroïdie chez le chien.

Introduction

Hypothyroidism is considered one of the most frequent canine endocrine disorders (1). Most affected dogs have primary hypothyroidism caused by a lymphocytic thyroiditis, idiopathic thyroid atrophy or, more rarely, neoplastic or traumatic destruction (1,2). The gradual loss of thyroid parenchyma eventually leads to reduced thyroid hormones serum concentrations. Thyroid hormones have a wide variety of body and metabolic functions. The clinical signs of hypothyroidism are therefore numerous, variable, and unfortunately non-specific (1-3). Canine thyroid function is now mainly evaluated with total thyroxine (TT₄), free thyroxine (FT₄), endogenous thyroid-stimulating hormone (TSH), and in some cases, thyroglobulin autoantibodies (TgAA) serum level determinations. Unfortunately, none of those tests, alone or in combination with others, have 100% accuracy (4-9). Furthermore, systemic non-thyroidal diseases and drug administration can lower TT₄, FT₄ and in some cases raise TSH serum concentrations (4-13).

Most investigators still regard the TSH stimulating response test as the best single test for evaluating canine thyroid function. This dynamic test has the advantage of better differentiating between a hypothyroid dog from one receiving certain medication or suffering from a non-thyroidal systemic illness (1-2,6,8). This test was previously performed by using a bovine source of TSH (bTSH). An appropriate elevation of the TT₄ concentration after intravenous (IV) bTSH injection was normally noticeable with normal thyroid function. However, the pharmaceutical form of the bTSH is no longer commercially available. Allergic reactions to the drug, neutralising antibody formation after repetitive administrations and the emergence of the bovine spongiform encephalopathy (Creutzfeldt-Jacob disease) has precluded its use in human medicine (5,10). While a chemical-grade of bTSH (SIGMA chemicals, Oakville, Ontario, Canada) can still be obtained, it is not approved for clinical purposes and severe anaphylactic-type reactions have been documented with its use in dogs (7,8).

A synthetic form of TSH was recently introduced in the pharmaceutical market: the recombinant human thyrotropin (rhTSH) (Genzyme Corp., Cambridge, Maine, USA). This glycoproteic molecule produced by DNA technology is expressed in a line of

Chinese hamster ovary cells and then purified by ion exchanges and dye affinity chromatography (14-16). In humans, rhTSH is mainly used to monitor patient with treated thyroid carcinoma without the undesirable need to withdraw hormonal supplementation (14, 16-20).

In veterinary medicine, rhTSH was first used by Sauvé and Paradis to perform TSH response tests in normal euthyroid Beagles (21). These authors concluded that an intravenous (IV) dose of 50 µg of rhTSH and sampling of the TT₄ serum concentration 4 and 6 hours after the injection was associated with an appropriate and optimal response (21). In another study, where the effects of obesity and weight loss on thyroid function were evaluated, TSH response tests using rhTSH were performed and supported the presence of euthyroidism in these dogs (22). The lyophilised form of rhTSH needs to be reconstituted with sterile water before use (16). Recently, results of a study on the effect of storage on reconstituted rhTSH were presented (23). No loss of biological activity of rhTSH on the canine thyroid was observed following 4 weeks of refrigeration or 8 weeks of freezing.

The purpose of the present study was to evaluate clinical diagnostic capabilities of rhTSH used for TSH stimulation testing in healthy, euthyroid sick and hypothyroid dogs.

Materials and methods

Dogs

Twenty-four privately-owned dogs were used in this study, which consisted of 3 groups;

Group I: healthy dogs (n=14)

Group II: euthyroid dogs with a concurrent non-thyroidal disease (n=11)

Group III: hypothyroid dogs (n=9).

Dogs entered in the study had to be older than 1 y, and not have received any medication other than flea and heartworm prophylaxis and routine vaccination. Pregnant bitches were excluded from the study. Health was established by history, physical examination, and normal biochemical profile and complete blood cell count (CBC). Baseline serum TT₄, FT₄, TSH and TgAA concentrations were measured in all dogs. Euthyroidism in group I dogs was recognized when basal serum TT₄ and TSH concentrations were within reference range established by the laboratory. Hypothyroidism was excluded in Group II dogs when the nature and severity of diseases explained abnormal laboratory changes and endocrine assays (if present), and when clinical signs were not suggestive of hypothyroidism. Confirmation of hypothyroidism in group III dogs was based on results of baseline serum TT₄ concentration and TSHc concentration, combined with the presence of typical clinical signs. TSH response tests using rhTSH (Thyrogen®, Genzyme Corporation, Cambridge, Maine, USA) were performed at least once in all dogs. This research project was in accordance with the Canadian Council on Animal Care and was approved by the Ethics Committee of the Faculté de médecine vétérinaire of the Université de Montréal.

TSH response tests

One vial of rhTSH was reconstituted with 1.2 ml of sterile water (0.9 mg/ml), where only 1 ml of the product could be recuperated. Individual doses of 50 µg and 100 µg of freshly reconstituted rhTSH in 1 ml plastic syringes with a rubber cap were stored frozen at -20°C for a maximum of 12 weeks. Thyrotropin stimulation tests were

performed by injecting freshly reconstituted or frozen rhTSH through an IV cephalic catheter. If frozen rhTSH was used, thawing was allowed at room temperature. Blood samples for determination of TT₄ concentration were taken before (T0) and 4 (T4) and 6 (T6) hours after rhTSH administration. Criteria used to classify dogs as euthyroid included either a post-TSH TT₄ concentration at T4 and/or T6 equal to or exceeding 40 nmol/L or an increment (change) of the post-TSH TT₄ concentration over T0 of at least 20 nmol/L. This prospective study was divided into 3 distinct phases.

Phase I: Determination of optimal doses.

TSH response tests using 50 µg of freshly reconstituted rhTSH were performed in 6 healthy dogs (group I) weighing more than 20 kg. At least 10 d after the first rhTSH response test, a second one was performed in each same dogs using 100 µg of freshly reconstituted rhTSH. Phase I was used to determine the most appropriate dose of rhTSH (50 µg vs. 100 µg) to use to stimulate the thyroid of dogs weighing more than 20 kg.

Phase II: Effect of freezing.

Three months after phase I, a TSH response test was performed in each same 6 dogs, using 100 µg (dose determined from phase I) of rhTSH frozen for a period of 12 weeks. Phase II was used to determine the effect of freezing on the biological activity of rhTSH.

Phase III: Assessment of clinical usefulness.

TSH response tests using 50 µg of rhTSH for dogs less than 20 kg and 100 µg for dogs 20 kg and more were performed in all 3 groups of dogs. The rhTSH used was either freshly reconstituted or frozen for less than three months (usage based on the result of phase II).

Specimen collection and storage

Blood samples for CBC, biochemical profile and the measurement of serum TT₄, FT₄, TSH and TgAA serum concentrations were taken by jugular venipuncture. All blood samples were allowed to remain at room temperature for clot formation for

approximately 20 minutes prior to centrifugation. Serum aliquots were frozen at -20°C in plastic tubes until assayed.

Endocrine assay

Total thyroxine was measured using a commercial radioimmunoassay kit (Coat-A-Count Canine Total T_4 ; Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, California, USA). The reference range for TT_4 of euthyroid dogs was 15 to 45 nmol/L. Measurement of canine TSH (cTSH) by immunoradiometric assay was performed with a commercially available kit (Coat-A-Count Canine TSH IMRA; Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, California, USA). The reference range of cTSH of euthyroid dogs was 0 to 0.6 ng/ml. The FT_4 was measured after equilibrium dialysis using a commercial kit (free T_4 by equilibrium dialysis; Nichols institute Diagnostics, San Juan Capistrano, California, USA). The reference range for FT_4 of euthyroid dogs was 6 to 42 pmol/L. Canine TgAA assays were performed using an enzyme-linked immunoabsorbant assay (ELISA) commercially available kit. (Oxford biomedical Research, Oxford, Michigan, USA). The reference range for TgAA of euthyroid dogs was less than 200%. Dogs included in group I and III had a basal TT_4 and cTSH concentrations measured before being allowed to participate in the study. Group II dogs had those parameters measured immediately after being individually enrolled in the research project. Serum TgAA, FT_4 and TSH response test- TT_4 serum concentrations of all dogs were simultaneously measured at the end of the study.

Data analysis

Repeated measures ANOVA were used on serum TT_4 concentration. If significance difference was found, Bonferroni multiple comparison procedure was used. Age, weight and serum TSH, FT_4 , TT_4 and TgAA concentrations were compared between groups using Kruskal-Wallis one-way ANOVA. If significance difference was found, Kruskal-Wallis multiple-comparison Z-Value procedure with Bonferroni value was used. Sex ratio within group was compared to a proportion of 50% using an exact binomial test. Wilcoxon rank-sum test was also used to compare serum TT_4 concentration. Significance was set a $P < 0.05$. Data are reported as mean \pm standard deviation.

Results

Group I: Healthy dogs

This group was composed of 14 hospital staff-owned dogs ranging from 2 to 12 y (5.5 ± 3.0 y) and weighing between 13 and 46 kg (29.6 ± 10.7 kg). They consisted of 7 males (all neutered) and 7 females (1 intact, 6 neutered) and comprised 5 Labrador retrievers, 1 Cocker spaniel, 1 Airedale terrier and 7 mixed breed dogs. Six dogs of this group weighing more than 20 kg were used to participate to phase I and II of the study. They consisted of 5 neutered males and 1 neutered female weighing between 29 and 46 kg (36.8 ± 6.5 kg). This subgroup was composed of 3 Labrador retrievers and 3 mixed breed dogs.

There was no abnormality found upon physical examinations, and biochemical profiles and CBC were within normal limits in all dogs.

Group II: Euthyroid sick dogs

This group was constituted of 11 client-owned dogs ranging from 3 to 11 y (6.5 ± 3.0 y) and weighing between 6.8 and 50 kg (24.4 ± 17.1 kg). They consisted of 7 males (4 neutered and 3 intact) and 4 females (all neutered) and comprised 1 Labrador retriever, 3 Miniature Schnauzers, 1 Lhasa apso, 1 Welsh corgi and 1 German shepherd and 4 mixed breed dogs. The types of nonthyroidal diseases recorded were: chronic renal failure (2), acute renal failure (1), severe pancreatitis (1), aspiration bronchopneumonia (1), lymphoma (2), nonlymphoid tumoral disease (2), diabetes mellitus (1) and extrahepatic biliary obstruction (1). Clinical signs, biochemical profiles and CBC counts were compatible with individual systemic illnesses.

Group III: hypothyroid dogs

This group included 9 client-owned dogs ranging from 3 to 9 y (4.8 ± 1.8 y) and weighing between 16.5 and 60 kg (38.1 ± 14.5 kg). They consisted of 5 males (3 neutered and 2 intact) and 4 females (all neutered) and comprised 2 Golden retrievers, 2 Cocker spaniels, 1 Dalmatian, 1 German shepherd, 1 Labrador retriever and 2 mixed breed dogs.

Hypercholesterolemia was noticed in 6 of the 9 (67%) hypothyroid dogs and values ranged between 9.06 and 32.10 mmol/L (12.67 ± 8.58 mmol/L) (reference range: 2.85-7.76 mmol/L). Mild non-regenerative anemia was also present in 5 (56%) of these dogs and packed cell volume ranged between 28 and 36% ($37.6 \pm 6.3\%$) (reference range: 37 to 52%). There was no other significant finding on biochemical profiles and CBC.

Groups were homogenous in terms of age and weight and sex ratio were normally expressed within groups.

Thyroidal hormonal assays

A significant difference ($P=0.0001$) regarding baseline serum TT_4 concentration was observed. Healthy dogs (30.41 ± 7.63 nmol/L; range: 15.38-40.50 nmol/L) had higher concentration than euthyroid sick (16.34 ± 6.48 nmol/L; range: 4.10-25.62 nmol/L) and hypothyroid dogs (4.30 ± 3.63 nmol/L; range: 1.07-10.80 nmol/L). However, there was no significant difference between euthyroid sick and hypothyroid dogs. Four euthyroid sick dogs had TT_4 concentrations below reference range (4.10, 8.20, 12.12 and 13.69 nmol/L).

Healthy (0.29 ± 0.15 ng/ml; range: 0.06-0.60 ng/ml), euthyroid sick (0.13 ± 0.05 ng/ml; range: 0.05-0.23 ng/ml) and hypothyroid dogs (3.43 ± 2.94 ng/ml; range: 0.21-8.27 ng/ml) differed significantly ($P= 0.0001$) from each other in term of serum cTSH concentrations. However, 2 hypothyroid dogs had serum cTSH level within normal limits (0.21 and 0.55 ng/ml).

There was a significant difference ($P=0.0001$) regarding serum FT_4 concentration. Lower levels were observed in hypothyroid dogs (1.55 ± 2.12 pmol/L; range: 0-5 pmol/L) compared to euthyroid sick (21.45 ± 10.41 pmol/L; range: 6-40 pmol/L) and healthy dogs (29.78 ± 10.72 pmol/L; range: 16-57 pmol/L). Healthy dogs did not demonstrate difference in serum FT_4 concentration compared to euthyroid sick dogs.

There was a significant difference ($P=0.0001$) in serum TgAA reactivity concentration. Hypothyroid dogs showed higher level ($803.33 \pm 661.97\%$; range, 197-2019%) than those of healthy ($172.53 \pm 279.26\%$; range, 48-1094%) and euthyroid sick dogs (57.45

$\pm 28.40\%$; range: 22-102%). No significant difference was found in the TgAA level between healthy and euthyroid sick dogs. However, 1 healthy dog showed an increased serum TgAA (1094%) and only 1 hypothyroid dog had normal serum TgAA level. All euthyroid sick dogs had normal TgAA serum concentration.

TSH response tests

Phase I:

An IV administration of freshly reconstituted rhTSH significantly increased ($P=0.0001$) the serum TT₄ concentration without a statistically significant effect related to dose used. There was a significant increase in serum TT₄ concentration at T4 (45.70 ± 10.77 nmol/L) and T6 (45.79 ± 15.80 nmol/L) compared to T0 (21.45 ± 6.00 nmol/L) following administration of 50 μ g of rhTSH. After IV administration of 100 μ g of rhTSH, there was a significant increase in serum TT₄ concentration at T4 (53.91 ± 10.33 nmol/L) and T6 (57.81 ± 14.55 nmol/L) compared to T0 (21.63 ± 6.45 nmol/L) (Figure 1). However, only 5 of the 6 dogs of phase I when stimulated with 50 μ g of rhTSH met criteria established for euthyroidism, while all dogs were classified as euthyroid when 100 μ g of rhTSH was used (Table 1). Based on these results, 100 μ g of rhTSH was chosen for dogs weighing more than 20 kg, while dogs less than 20 kg received 50 μ g for TSH stimulation testing in phase II and III of the study.

Phase II:

Intravenous administration of 100 μ g of rhTSH significantly increased ($P=0.0001$) the serum TT₄ concentration without a statistically significant effect related to freshly reconstituted (phase I) or frozen rhTSH. There was a significant increase in serum TT₄ concentration at T4 (43.40 ± 15.23 nmol/L) and T6 (50.23 ± 11.83 nmol/L) compared to T0 (23.78 ± 7.01 nmol/L) following IV administration of 100 μ g of frozen rhTSH (Figure 2). However, only 4 of the 6 dogs met the TSH stimulation test criteria established for euthyroidism (Table 1). Frozen for less than 3 months and freshly reconstituted rhTSH were used in phase III.

Phase III:

In phase III, IV administration of rhTSH influenced significantly ($P=0.0001$) the serum TT₄ concentration depending on thyroid status ($P=0.0001$). In 14 healthy dogs, there

was a significant increase in serum TT₄ concentration at T4 (59.85 ± 13.76 nmol/L) and T6 (61.49 ± 13.58 nmol/L) compared to T0 (26.61 ± 9.24 nmol/L). Similarly, 11 euthyroid sick dogs demonstrated a significant increase in serum TT₄ concentration at T4 (38.42 ± 12.98 nmol/L) and T6 (40.86 ± 13.17 nmol/L) compared to T0 (16.34 ± 6.48 nmol/L). However, IV administration of rhTSH in 9 hypothyroid dogs did not provide significant increases in serum TT₄ concentration between T0 (5.07 ± 4.09 nmol/L), T4 (5.68 ± 6.73 nmol/L) and T6 (5.22 ± 5.00 nmol/L) (Figure 3). At each time healthy, euthyroid sick and hypothyroid dogs differed significantly ($P=0.0001$) from each other in term of TT₄ concentration. Three of the euthyroid sick dogs (27%) did not classify as euthyroid according to TSH response test criteria previously mentioned. When comparing baseline serum TT₄ of group II dogs with suboptimal response to rhTSH (8.66 ± 4.81 nmol/L) with those that adequately responded (19.22 ± 4.33 nmol/L) a significant difference ($P=0.024$) was observed. All hypothyroid dogs did not respond appropriately to rhTSH stimulation.

Sensitivity and specificity of rhTSH response testing in dogs using each criterion individually or in combination are reported in Table 3. Highest specificity were obtained using a serum TT₄ concentration greater than 40 nmol/L at 6 hours post rhTSH stimulation as a criteria to detect normal thyroid and all criterion together provided the highest sensitivity. The rhTSH stimulation test in the context of this study adequately identified 22 of the 25 euthyroid dogs and all the hypothyroid dogs, providing an overall sensitivity of 100% and a specificity of 88%.

Even though some dogs received more than one IV administration ($n=6$) of rhTSH, no side effects or anaphylactic reactions were observed.

Discussion

Thyrotropin has a very important role in the homeostasis of thyroid function. Even though TSH can differ at the molecular and immunologic level among species, they communally share similar biological activity (1). This explains why canine and human thyroids biologically respond to bTSH administration (1,24). More recently, rhTSH has been shown to actively bind to mice and rat thyroid receptors (25). Thyroid stimulation by rhTSH has also been demonstrated in the Rhesus Monkey (26). Similarly to bTSH, rhTSH administration can cause an elevation of serum canine thyroid hormones (21-23).

Thyrotropin stimulation tests using bTSH have long been considered the gold standard for the diagnosis of canine hypothyroidism (1,2,6-8). Since the commercial withdrawal of medical grade bTSH, a few studies have looked at rhTSH for its future replacement (21-23). Based on the result of the present study, we conclude that TSH stimulation using rhTSH, can differentiate hypothyroid and euthyroid dogs in a clinical setting. Following rhTSH administration, a significant elevation of the serum TT_4 concentration was noticed in euthyroid dogs (group I and II) compared to the hypothyroid dogs (group III), where all showed an absence of significant response. Although a significant hormonal rise was observed in group II dogs, the response was not as pronounced as in group I dogs (Figure 3). In fact, 3 dogs of group II (Table 2) were classified as hypothyroid based on criteria established for this study. Euthyroid dogs with decreased serum TT_4 concentration because of illness or drug administration, do respond to TSH administration, but the response is often suppressed (1). Severity of illnesses has been correlated with the importance of thyroidal suppression, meaning serum TT_4 concentration suppression (27). Severe systemic disease can therefore result in a post-TSH serum TT_4 concentration in the range considered diagnostic for hypothyroidism (1). Euthyroid sick dogs that had suboptimal responses to rhTSH were among the 4 dogs with an initial low baseline serum TT_4 concentration. Baseline serum TT_4 concentrations were also significantly lower for euthyroid sick dogs that failed to classify as euthyroid, compared to other group II dogs. Based on those observations, we can hypothesize that the systemic implication of those 3 dogs diseases was greater. Respective diseases were pancreatic abscess with severe pancreatitis, ruptured splenic

hemangiosarcoma and stage IVb lymphoma. It is also important to mention that hypothyroidism would rarely be primarily suspected and tested for in animals with such debilitating diseases. When used in a more realistic clinical setting, results of rhTSH response testing would probably be even more discriminative.

The doses of rhTSH used in the present study were initially based on Sauv e et al. previous research, which judged that IV administration of 50 μg caused optimal canine thyroid stimulation, i.e. that serum TT_4 concentrations increased significantly and that these elevations were similar to those obtained with bTSH (21). There was also no significant difference between post-rhTSH TT_4 concentrations when comparing doses of 50 μg and 100 μg (21). Since all dogs of the aforementioned study weighed between 10-16 kg, we evaluated the difference among serum TT_4 concentration rise after 50 μg and 100 μg of rhTSH in heavier dogs (phase I). Although there was no statistical difference found in phase I of the present study, the post-TSH TT_4 concentrations at T4 and T6 were subjectively higher when using 100 μg of rhTSH, and 1 dog was classified as hypothyroid when using 50 μg , compared to none when using 100 μg . A higher dose was therefore judged more appropriate for dogs weighing more than 20 kg. Since a relatively small sampling group ($n=6$) was used in both studies, significant difference between the mentioned doses might be found, if a larger healthy group population was studied. It is therefore possible that the 3 euthyroid sick dogs wrongly classified as hypothyroid in phase III of the study, were not exposed to an optimal rhTSH dose, and that recorded serum TT_4 elevations were not maximized. Suboptimal elevation of canine TT_4 serum concentrations after bTSH administration using a reduced dose protocol has been previously documented (28).

The failure for some dogs of group II to have adequate response to rhTSH was not a weight-related phenomenon. Dose of rhTSH used was $3.43 \pm 1.39 \mu\text{g}/\text{kg}$ in the studied dogs ($n=34$), and $3.71 \mu\text{g}/\text{kg}$ ($n=3$) and $4.29 \mu\text{g}/\text{kg}$ ($n=8$) in euthyroid sick dogs that classified as hypothyroid and those that met euthyroid criteria, respectively. These doses were statistically homogenous.

Storage of bovine TSH has been previously studied. Biological activity of reconstituted bTSH stored at 4°C was maintained for at least 3 weeks (29). Two studies state that

rhTSH can be stored at -20°C without loss of significant thyroid responsiveness for at least 3 months and 200 days, respectively (30,31). Although the manufacturer states that reconstituted solution of rhTSH can not be stored more than 24 hours at temperature between $2-8^{\circ}\text{C}$, results of a recent study indicated that reconstituted rhTSH maintained adequate biological activity for at least 4 weeks at 4°C , and 8 weeks at -20°C (16, 23).

In accordance to De Roover et al., freezing in the present study was not associated with a significant loss of thyroid hormonal stimulation, however 2 dogs in phase II failed to meet established euthyroid criteria. Reasons for this observation are not quite clear. Underlying subclinical hypothyroidism seems unlikely, since these 2 dogs initially demonstrated euthyroidism when stimulated with newly reconstituted rhTSH. None of these dogs showed clinical signs or laboratory changes (baseline TT_4 , FT_4 , cTSH, TgAA, cholesterol, red blood cell count) suggestive of hypothyroidism. When comparing results of TSH stimulation using freshly reconstituted rhTSH for these 2 dogs and the 4 other dogs of phase I, we do not observe a significant difference between TT_4 concentrations at T0, T4 and T6. It is although interesting to mention that the dog that did not meet euthyroid criterion in phase I using $50\ \mu\text{g}$ of rhTSH was also classified as hypothyroid in phase II of the study. This scenario could again be a result of suboptimal dosing. The possibility to freeze aliquots of rhTSH and use more than one dose per vial makes it more affordable for clinical usage.

Storage seems an improbable explanation for suboptimal rhTSH stimulation responses seen in the 3 previously mentioned euthyroid sick dogs of phase III. Recombinant human TSH used in these 3 dogs was frozen for not more than 5 weeks, and 1 dog received newly reconstituted rhTSH (Table 2). Other euthyroid sick dogs were administered up to 11 weeks frozen rhTSH without evidence of decreased ability to induce an elevation of TT_4 . To reinforce this explanation, subsets were created for the 10 dogs who were stimulated using frozen rhTSH. There was no significant difference between the responses provided by an rhTSH frozen for a period of 5 weeks or less comparatively to longer than 5 weeks.

In both groups of euthyroid dogs (group I and II), the mean post-TSH TT₄ concentration observed at T6 was higher than T4, although a statistical significance was not reached. This observation was also noticed with Sauvé and al. study (21). The time at which the post-TSH serum TT₄ concentration maximally increases is dependent on the amount of exogenous TSH administered. As the dose increases, the ideal sampling time shortens (1). Peak post-TSH TT₄ concentration sampling time using conventional dose (0.1 U/kg) of bTSH is reported to be between 4 and 8 hours (1,21,28,31). Most laboratories historically used a 6 hour post-TSH sampling time when performing bTSH stimulation (1,5,7,8).

In contrast to bTSH administration in human medicine, rhTSH appears to be safe. Only a few adverse effects, such as nausea and headaches, are reported, and none of the patient studied had detectable serum rhTSH antibodies (14,16,19). Although rhTSH antibodies were not evaluated in the present study, none of our dogs presented anaphylactic reaction or evidence of resistance to rhTSH after repetitive administration. As in previous studies, IV administration of rhTSH was not associated with adverse reaction in any of our dogs (21-23).

The specificity of rhTSH stimulation testing in this study (88%) was higher to slightly lower than reported specificity for cTSH concentration when interpreted together with total or free T₄ concentration. Specificity for cTSH in conjunction with T₄ concentrations reported for most studies are between 69-100% (4,5,10,32,33). In three of those studies, TSH stimulation using bTSH were used to identify dogs with hypothyroidism, and comparison with results of cTSH and T₄ concentrations was made based on this gold standard. In our study, hypothyroidism was excluded if post-TSH stimulation T₄ concentration was greater than 40 nmol/L and/or an absolute increase of 20 nmol/L was noticed at T4 and/or T6. Diagnosis of hypothyroidism in previous studies was excluded if post-TSH stimulation TT₄ concentration was higher than 20, 23 and 32 nmol/L, respectively (5,10,32). Using these criteria, our study would yield a specificity of 100, 96 and 88%, respectively. We preferred to use a more severe post-TSH TT₄ concentration cut off value (40 nmol/L), to override the grey zone that might exist between 19-38 nmol/L (2,10). Thyrotropin response tests look especially promising for ambiguous cases of hypothyroidism and for research purposes.

In conclusion, TSH stimulation using rhTSH is a safe, relatively affordable test that can be used in a clinical setting for the diagnosis of canine hypothyroidism. Further studies using larger study groups are warranted to better define the optimal dose of rhTSH needed for TSH stimulation in healthy and euthyroid sick dogs. The effect of drug administration on this test has yet to be evaluated. Most importantly, rhTSH stimulation in dogs shows hope for cases of suspected hypothyroidism that remain elusive with conventional testing, such as with baseline serum total and/or free T₄ and endogenous TSH concentrations.

References

1. Feldman EC, Nelson RW. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction, 3rd ed. Philadelphia: Saunders, 2004;88-142.
2. Ettinger SJ, Feldman EC. Textbook of Veterinary Internal Medicine, 5th ed. Philadelphia: Saunders, 2000;1419-1429.
3. Panciera DL. Conditions associated with canine hypothyroidism. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2001;31:935-949.
4. Ramsey IK, Evans H, Heritage ME. Thyroid-stimulating hormone and total thyroxine concentration in euthyroid, sick euthyroid and hypothyroid dogs. *J Small Anim Pract* 1997;38:540-545.
5. Peterson ME, Melian C, Nichols R. Measurement of serum total thyroxine, triiodothyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations for diagnosis of hypothyroidism in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1997;211:1396-1402.
6. Kempainen RJ, Behrend EN. Advances in diagnostic testing for canine hypothyroidism. *Comp Cont Edu Pract Vet* 1998;6:673-759.
7. Dixon RM, Mooney CT. Evaluation of serum free thyroxine and thyrotropin concentration in the diagnosis of canine hypothyroidism. *J Small Anim Pract* 1999;40:72-78.
8. Panciera DL. Is it possible to diagnose canine hypothyroidism. *J Small Anim Pract* 1999;40:152-157.
9. Kempainen RJ, Behrend EN, Diagnosis of hypothyroidism. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2001;31:951-962.
10. Scott-Moncrieff JC, Nelson RW, Bruner JM, William DA. Comparison of serum concentration of thyroid-stimulating hormone in healthy dogs, hypothyroid dogs, and euthyroid dogs with concurrent disease. *J Am Vet Med Assoc* 1998;212:387-391.
11. Kantrowitz LB, Peterson ME, Melian C, Nichols R. Serum total thyroxine, total triiodothyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations in dogs with nonthyroidal disease. *J Am Vet Med Assoc* 2001;219:765-769.
12. Daminet S, Paradis M, Refsal KR, Price C. Short term influence of prednisone and phenobarbital on thyroid function in euthyroid dogs. *Can Vet J* 1999;40:411-415.
13. Daminet S, Ferguson DC. Influence of drugs on thyroid function in dogs. *J Vet Int Med* 2003;17:463-472.

14. Braverman LE, Pratt BM, Ebner S, Longcope C. Recombinant human thyrotropin stimulates thyroid function and radioactive iodine uptake in the rhesus monkey. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:1135-1139.
15. Ribela MT, Bianco AC, Bartolini P. The use of recombinant human thyrotropin produced by chinese human ovary cells for the preparation of immunoassay reagents. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:249-256.
16. Monograph of the rhTSH. Thyrogen® thyrotropin alfa for injection. Genzyme Corp. 1999, Cambridge, Maine, USA.
17. Ladenson PW. Strategies for thyrotropin use to monitor patient with treated thyroid carcinoma. *Thyroid* 1999;9:429-433.
18. Ladenson PW, Braverman LE, Mazzaferri EL et al. Comparison of administration of recombinant human thyrotropin with withdrawal of thyroid hormone for radioactive iodine scanning in patient with thyroid carcinoma. *N Engl J Med* 1997;337:888-896.
19. Meier CA, Braverman LE, Ebner SA et al.. Diagnostic use of recombinant human thyrotropin in patients with thyroid carcinoma (phase I/II study). *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:188-196.
20. Ramirez L, Braverman LE, White B, Emerson CH. Recombinant human thyrotropin is a potent stimulator of thyroid function in normal subject. *J Clin Endocrinol Met* 1997;82:2836-2839.
21. Sauvé F, Paradis M. Use of recombinant human thyroid-stimulating hormone for thyrotropin stimulation test in euthyroid dogs. *Can Vet J* 2000;41:215-218.
22. Daminet S, Jeusette I, Diez M, Van de Maele I, De Rick A. Evaluation of thyroid function in obese dogs and in dogs undergoing a weight loss protocol. *J Vet Med* 2003;50:213-218.
23. De Roover, Daminet S, Duchateau L, Carmichael N. Effect of storage of reconstituted recombinant human thyrotropin on thyroid-stimulating hormone response testing in euthyroid dogs. *Proc Annu Meet Coll Vet Intern Med* 2003:148.
24. Robins J. Recombinant human thyrotropin symposium. Pharmacology of bovine and human thyrotropin: An historical perspective. *Thyroid* 1999;9:451-453.
25. Colzani RM, Alex S, Fang S-L, Braverman LE, Emerson CH. The effect of recombinant human thyrotropin (rhTSH) on thyroid function in mice and rats. *Thyroid* 1998;8:797-801.

26. Braverman LE, Pratt BM, Ebner S, Longcope C. recombinant human thyrotropin stimulates thyroid function and radioactive iodine uptake in the rhesus monkey. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:1135-1139.
27. Kaptein EM. Thyroid hormones metabolism in nonthyroidal disease. *Proc Annu Meet Coll Vet Intern Med* 1988;649.
28. Beale KM, Helm LJ, Keisling K: Comparison of two doses of aqueous bovine thyrotropin for thyroid function testing in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1990;197:865-867.
29. Bruyette DS, Nelson RW, Bottoms GD. Effect of thyrotropin storage on thyroid-stimulating hormone response testing in normal dogs. *J Vet Int Med* 1987;1:91-94.
30. Kobayashi DL, Nichols R, Peterson ME. Serum thyroid hormone concentrations in clinically normal dogs after administration of freshly reconstituted vs previously frozen and stored thyrotropin. *J Am Vet Med Assoc* 1990;197:597-599.
31. Paradis M, Laperrière E, Larrivière N. Effect of a low dose of frozen thyrotropin on serum total thyroxine concentrations in clinically normal dogs. *Can Vet J* 1994;35:367-370.
32. Dixon RM, Graham PA, Mooney CT. Serum thyrotropin concentrations: a new diagnostic test for canine hypothyroidism. *Vet Rec* 1996;138:594-595.
33. Scott-Montcrieff CR, Nelson RW. Change in serum thyroid-stimulating hormone concentration in response to administration of thyrotropin-releasing hormone to healthy dogs, hypothyroid dogs, and euthyroid dogs with concurrent disease. *J Am Vet Med Assoc* 1998;213:1435-1438.

Legends of tables

Table 1. Serum total thyroxine (TT₄) concentrations at baseline (T0), 4 (T4) and 6 (T6) hours after intravenous administration of 50 and 100 µg of freshly reconstituted (phase I) or frozen (phase II) recombinant human thyroid-stimulating hormone (rhTSH) in 6 healthy dogs.

Table 2. Serum total thyroxine (TT₄) concentrations at baseline (T0), 4 (T4) and 6 (T6) hours after intravenous administration of 50-100 µg of freshly reconstituted or frozen recombinant human thyroid-stimulating hormone (rhTSH) in 14 healthy, 11 euthyroid sick and 9 hypothyroid dogs.

Table 3. Sensitivity and specificity according to criterion used to discern normal thyroid function using serum total thyroxine (TT₄) concentration at baseline and after intravenous administration of 50-100 µg of freshly reconstituted or frozen recombinant human thyroid-stimulating hormone (rhTSH) in healthy (group I, n=14), euthyroid sick (group II, n=11) and hypothyroid dogs (group III, n=9).

Table I

Healthy dogs	Serum TT ₄ concentration (nmol/L)				
	rhTSH stimulation			Change from T0	
	T0	T4	T6	T4	T6
Phase I					
50 µg rhTSH					
1	26.49	46.84	57.84	20.35	31.35
2	18.40	40.30	48.20	21.90	29.80
3	11.70	36.70	29.60	25.00	17.90
4	19.70	33.90	22.80	14.20	3.10
5	25.24	60.99	58.96	35.75	33.72
6	27.21	55.51	57.35	28.30	30.14
100 µg rhTSH					
1	21.80	50.70	54.90	28.90	33.10
2	13.80	47.70	49.90	33.90	36.10
3	18.30	45.40	51.40	27.10	33.10
4	18.60	47.40	44.20	28.80	25.60
5	24.90	72.10	85.20	47.20	60.30
6	32.40	60.20	61.30	27.80	28.90
Phase II					
100 µg frozen rhTSH					
1	21.90	48.80	52.80	26.90	30.90
2	17.00	26.75	35.59	9.75	18.59
3	16.90	43.30	51.50	26.40	34.60
4	23.10	36.90	37.30	13.80	14.20
5	34.80	70.40	65.90	35.60	31.10
6	29.00	34.30	58.30	5.30	29.30

Table II

Dogs	Weight (kg)	rhTSH	Serum TT ₄ concentration (nmol/L)				
			rhTSH stimulation			Change from T0	
			T0	T4	T6	T4	T6
Group I:							
1	46	100 µg, N	21.80	50.70	54.90	28.90	33.10
2	43	100 µg, N	13.80	47.70	49.90	33.90	36.10
3	33	100 µg, N	18.30	45.40	51.40	27.10	33.10
4	33	100 µg, N	18.60	47.40	44.20	28.80	25.60
5	37	100 µg, N	24.90	72.10	85.20	47.20	60.30
6	29	100 µg, N	32.40	60.20	61.30	27.80	28.90
7	29	100 µg, N	26.47	64.16	65.94	37.69	39.47
8	13	50 µg, N	30.97	78.80	80.99	47.83	50.02
9	13	50 µg, N	17.76	37.47	40.76	19.71	23.00
10	22	100 µg, N	39.87	69.57	66.13	29.7	26.26
11	18	50 µg, N	32.97	72.79	72.07	39.82	39.10
12	22.5	100 µg, N	15.98	45.22	49.46	29.24	33.48
13	36	100 µg, F 3 W	38.84	71.85	65.79	33.01	26.95
14	41	100 µg, F 3 W	39.99	74.61	72.93	34.62	32.94
Group II:							
15	49.5	100 µg, F 4 W	21.55	53.86	66.32	32.31	44.77
16	9	50 µg, F 4 W	13.69	23.73	30.47	10.04	16.78
17	6.8	50 µg, F 5 W	12.12	40.69	48.18	28.57	36.06
18	19.5	100 µg, F 7 W	19.36	39.65	34.94	20.29	15.58
19	7.5	100 µg, F 7 W	19.5	43.33	48.73	23.83	29.23
20	25	100 µg, F 9 W	15.69	32.7	40.26	17.01	24.57
21	12.5	50 µg, F 11 W	25.62	39.79	42.50	14.17	16.88
22	50	100 µg, N	4.10	20.00	21.60	15.90	17.50
23	10.8	50 µg, F 2 W	16.73	49.43	53.09	32.70	36.36
24	9.8	50 µg, F 3 W	23.20	58.50	40.10	35.30	16.90
26	28	100 µg, F 6 W	8.20	21.02	23.37	12.82	15.17

Group III:

27	46	100 µg, F 1 W	2.10	2.10	2.10	0	0
28	42	100 µg, F 3 W	12.3	15.83	15.26	3.53	2.96
29	16.5	100 µg, F 8 W	1.66	1.82	2.04	0.16	0.38
30	30	50 µg, N	2.10	2.10	3.67	0	1.57
31	60	100 µg, F 3 W	6.90	3.70	6.60	-3.20	-0.30
32	53	100 µg, F 5 W	1.35	0.69	0.58	-0.66	-0.77
33	40	100 µg, F 6 W	3.55	2.31	0.80	-1.24	-2.75
34	36.4	100 µg, F 8 W	4.90	3.70	4.90	-1.20	0
35	19	100 µg, F 11 W	10.80	18.90	11.10	8.10	0.30

N: freshly reconstituted, F: frozen, W: weeks,

Table III

Euthyroidism criterion	Groups		
	I vs. II	I vs. III	II vs. III
TT₄>40 nmol/L at T4			
Sensitivity	54.5%	100%	100%
Specificity	92.8%	92.8%	45.4%
TT₄>40 nmol/L at T6			
Sensitivity	36.3%	100%	100%
Specificity	100%	92.8%	63.6%
Change (TT₄) from T0 >20 nmol/L at T4			
Sensitivity	45.4%	100%	100%
Specificity	92.8%	92.8%	54.5%
Change (TT₄) from T0 >20 nmol/L at T6			
Sensitivity	54.5%	100%	100%
Specificity	100%	92.8%	45.4%
All 4 criterion			
Sensitivity	63.6%	100%	100%
Specificity	92.8%	92.8%	36.3%

Legends of figures

Figure 1. Mean serum total thyroxine (TT₄) concentrations at baseline and after intravenous administration of two doses of recombinant human thyroid-stimulating hormone (rhTSH) in 6 healthy dogs.

Figure 2. Mean serum total thyroxine (TT₄) concentrations at baseline and after intravenous administration of 100 µg of freshly reconstituted and frozen recombinant human thyroid-stimulating hormone (rhTSH) in 6 healthy dogs.

Figure 3. Mean serum total thyroxine (TT₄) concentrations at baseline and after intravenous administration of 50-100 µg of freshly reconstituted or frozen recombinant human thyroid-stimulating hormone (rhTSH) in 14 healthy, 11 euthyroid sick and 9 hypothyroid dogs.

Figure 1

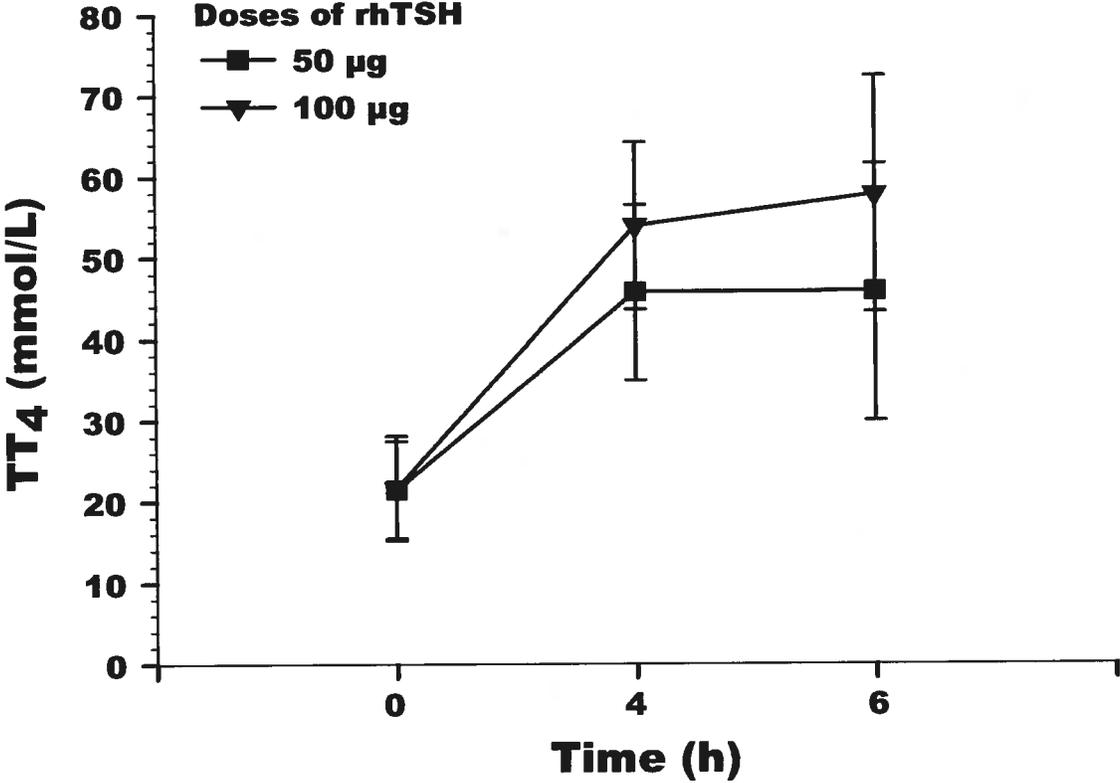


Figure 2

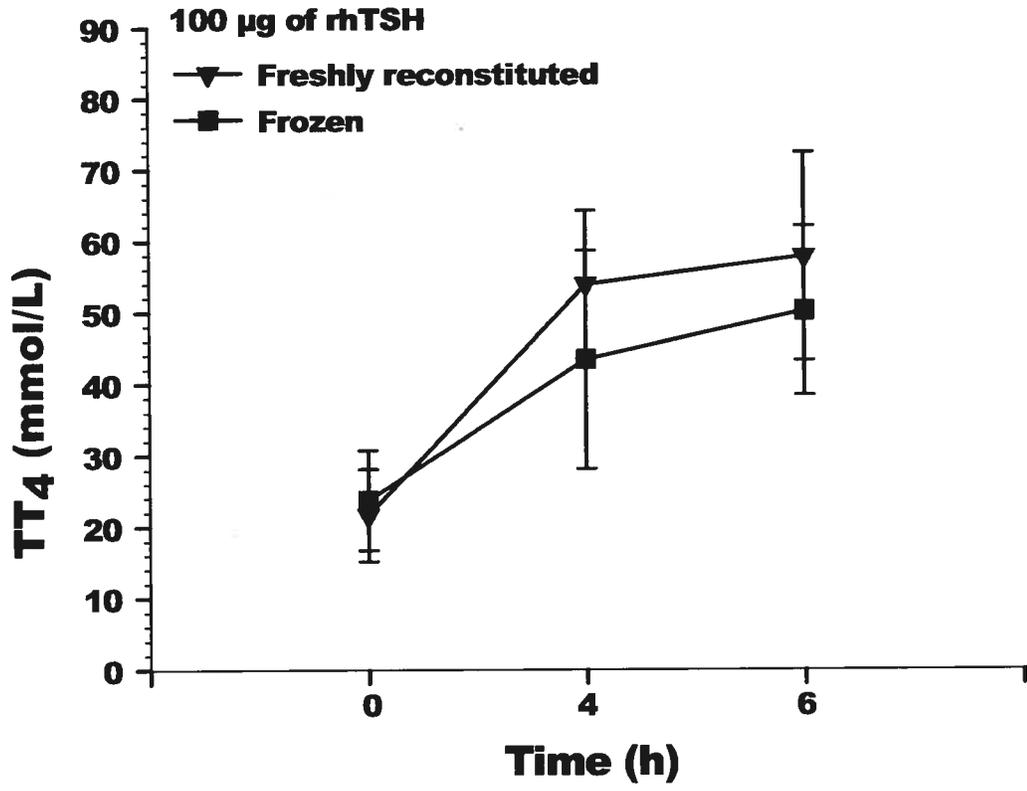
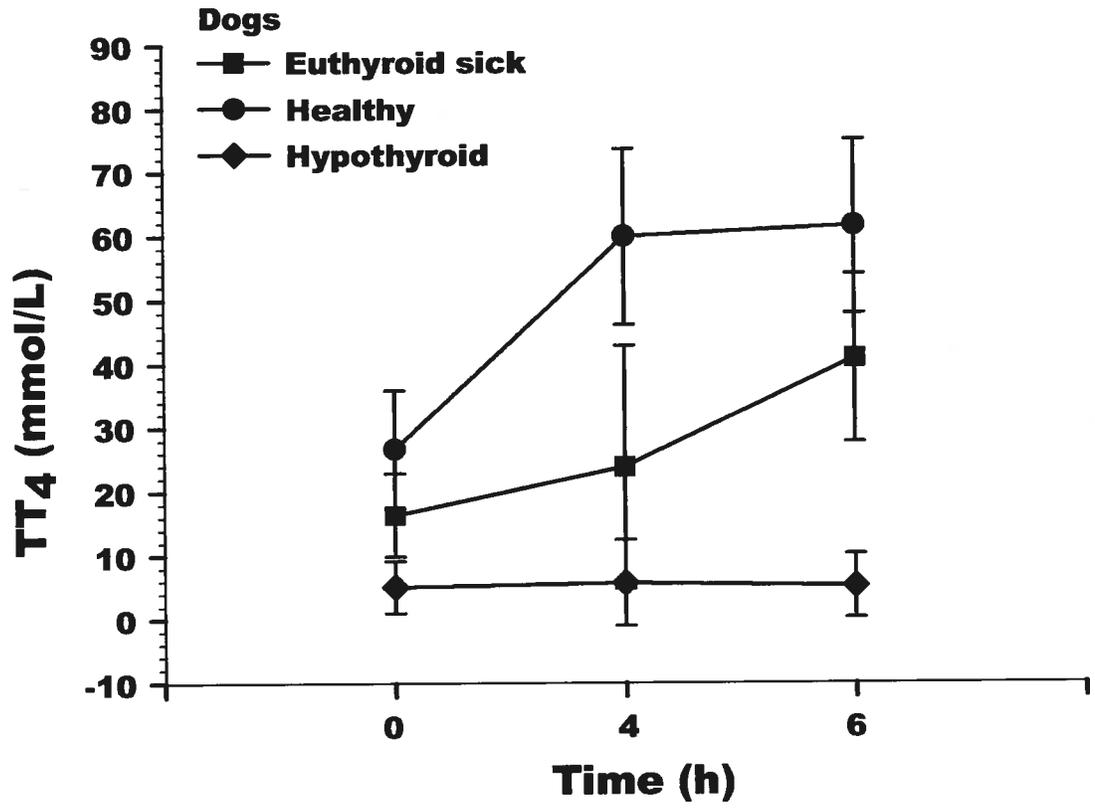


Figure 3



CHAPITRE TROISIÈME

DISCUSSION

1.1 Capacité diagnostique

Dans la présente étude, un effet biologique de la TSHhr sur la glande thyroïdienne canine a été observé. Suite à l'administration de TSHhr chez les chiens euthyroïdiens (en santé et malades), une élévation significative de la concentration sérique de la T4T a été notée.

Selon les résultats de la présente étude, l'utilisation clinique de la TSHhr lors de stimulation à la TSH permet de différencier l'euthyroïdie de l'hypothyroïdie chez le chien. Dans la phase III de l'étude, une élévation significative de la concentration de la T4T par rapport à la valeur de base (T0), quatre (T4) et six (T6) heures après l'administration de TSHhr a été observée chez les chiens euthyroïdiens (chiens du groupes I et II). Quant aux chiens hypothyroïdiens, aucune élévation significative de la concentration de la T4T n'a été notée. Malgré l'élévation significative de la concentration de la T4T suite à l'administration de TSHhr chez les chiens euthyroïdiens atteints d'une maladie systémique (groupe II), cette élévation n'est pas aussi prononcée que celles observées chez les chiens euthyroïdiens et en santé (groupe I) (voir figure 3). De plus, trois chiens du groupe II n'ont pas rencontré les critères d'euthyroïdie pré-établis et ont été injustement classifiés comme hypothyroïdiens (voir tableau II).

La présence d'une maladie systémique sévère peut amener une suppression thyroïdienne assez importante, pouvant même résulter à une T4T post-TSH dans les valeurs compatibles à un état d'hypothyroïdie (Feldman et Nelson, 2003). Les chiens du groupe II chez lesquels une réponse suboptimale au test de stimulation à la TSHhr a été notée, étaient parmi les quatre chiens possédant une valeur de T4T de base diminuée. De plus, la concentration sérique moyenne de la T4T de base des trois chiens du groupe II ayant faussement été classifié comme hypothyroïdiens selon les résultats de leur stimulation à la TSH, est significativement plus basse que celles des autres chiens du groupe II. Il est donc possible que les maladies non-thyroïdiennes de ces trois chiens aient une implication systémique plus grande que celles des autres chiens du même groupe. Les maladies non-thyroïdiennes impliquées chez les 3 chiens cités plus

haut sont : une pancréatite sévère avec abcès secondaire, un lymphome multicentrique stade IVb et une hémangiosarcome splénique avec rupture secondaire du parenchyme splénique. Il est important de mentionner qu'un hypothyroïdie serait qu'exceptionnellement suspecté chez des chiens présentés en consultation pour des signes cliniques aussi sévères et compatibles avec la présence des maladies mentionnées précédemment. Par conséquent, dans un contexte clinique davantage réaliste, la présence d'une réponse inadéquate à une stimulation à la TSHhr secondaire à la suppression thyroïdienne causée par une maladie systémique serait plutôt rare.

Les tests actuellement préconisés pour le diagnostic de l'hypothyroïdie canine, c'est-à-dire le dosage de la T4T et/ou de la T4L combiné à un dosage de la TSHc endogène, sont relativement très sensibles, par contre moyennement spécifiques, surtout en présence d'une maladie systémique concomitante et/ou lorsque l'animal testé reçoit une médication. La spécificité de la stimulation à la TSHhr de cette étude (88%) est relativement semblable aux spécificités rapportées dans d'autres études. Selon ces études, une spécificité variant entre 69-100% est rapportée lorsque que les dosages de la T4T et de la TSHc sont utilisés en combinaison (Dixon et coll., 1996; Peterson et coll., 1997; Ramsey et coll., 1997; Scott-Moncrieff et Nelson; 1998; Scott-Moncrieff et coll., 1998). Dans trois de ces études, la stimulation à la TSHb était utilisée comme test de base afin d'établir la fonction thyroïdienne de ses chiens. L'euthyroïdie était confirmée lorsque la concentration de la T4T post-TSH était, selon les études, supérieure à 20, 23 et 32 nmol/L (Dixon et coll., 1996; Peterson et coll., 1997; Scott-Moncrieff et coll., 1998). Dans la présente étude, les critères d'euthyroïdie établis étaient plus sévères, c'est-à-dire qu'une T4T post-TSH supérieure à 40 nmol/l ou une augmentation absolue de 20 nmol/L de la concentration de la T4T à partir de la valeur de T0 était nécessaire afin d'établir une fonction thyroïdienne normale. Ces critères ont été utilisés afin d'éviter la zone grise possiblement existante lorsque la concentration de la T4T post-TSH se situe entre 19-38 nmol/L (voir tableau IV) (Ettinger et Feldman, 2000; Scott-Moncrieff et coll., 1998). En utilisant les critères d'euthyroïdie des 3 études citées plus haut, la spécificité de la stimulation à la TSHhr de la présente étude varierait entre 88 à 100%.

1.2 Effet de la dose

Les doses de TSHhr utilisées dans cette étude ont été initialement basées sur l'étude de Sauvé et Paradis. Dans cette dernière étude, différentes doses (25 µg, 50 µg et 100 µg) ainsi que différentes voies d'administration (IV, IM et SC) ont été évaluées. Les auteurs de l'étude ont conclu qu'une injection IV de 50 µg de TSHhr représente la dose et la voie optimales à être utilisées lors de stimulation à la TSH pour des chiens pesant en moyenne 14 kg. Malgré des résultats légèrement supérieurs lors de l'utilisation de 100 µg de TSHhr, il n'y avait pas de différence significative avec ceux obtenus à l'aide d'une dose de 50 µg (sauvé et Paradis, 2000).

Le poids corporels des chiens de l'étude précédente étant inférieurs à 16 kg, la phase II de l'étude servait à évaluer l'utilisation de deux doses (50 et 100 µg) de TSHhr lors de stimulation à la TSH chez des chiens pesant plus de 20 kg. La concentration de la T4T post-TSH était subjectivement plus élevée à T4 et T6 lorsqu'une dose de 100 µg était utilisée, et un chien a faussement été catégorisé hypothyroïdien lorsque de 50 µg de TSHhr a été administrée. Malgré qu'aucune différence significative n'a été notée entre les deux doses, l'utilisation de 100 µg de TSHhr a été jugée davantage appropriée pour l'exécution de stimulation à la TSHhr chez des patients canins ayant un poids égal ou supérieur à 20 kg. Basé sur les résultats de l'étude de Sauvé et Paradis, lors de la phase III de la présente étude, une dose de 50 µg a été administrée chez les chiens plus légers. L'utilisation d'une dose plus faible chez les chiens de moins de 20 kg était principalement motivé par des raisons économiques.

Étant donné le nombre relativement petit de chiens étudié dans la phase I de l'étude et dans celle de Sauvé et Paradis (n=6), il est possible qu'une différence significative puisse être observée entre les deux doses de TSHhr évaluées, si un nombre plus grand de chiens ait été échantillonné. Par conséquent, il est possible que les trois chiens du groupe II ayant un résultat de stimulation à la TSHhr suboptimal n'aient pas été exposés à une dose idéale de TSHhr et que l'élévation de la concentration de T4T n'ait pas été maximisée. Une élévation suboptimale de la concentration de T4T suite à l'administration d'une dose réduite de TSHb lors de stimulation à la TSH, a déjà été rapportée chez le chien (Beale et coll., 1990).

Le dosage de TSHhr relatif au poids corporel ne semble pas expliquer les trois réponses inappropriées aux stimulations à la TSHhr des chiens du groupe II lors de la phase III de l'étude. Lorsque les dosage relatifs de TSHhr des chiens de l'étude ($3.43 \pm 1.39 \mu\text{g}/\text{kg}$, $n=34$), de ceux du groupe II faussement classifiés comme hypothyroïdiens ($3.71 \mu\text{g}/\text{kg}$, $n=3$), et de ceux des autres chiens du groupe II ($4.29 \mu\text{g}/\text{kg}$, $n=8$) sont comparés; un homogénéité statistique entre les différents regroupements est observé. Bien que le dosage de TSHhr utilisé ($0.012 \pm 0.005 \text{ U}/\text{kg}$, $n=34$) soit beaucoup inférieur à celui historiquement recommandé lors de stimulation à la TSHb ($0.1 \text{ U}/\text{kg}$), il est improbable que cette différence puisse expliquer les stimulations à la TSHhr suboptimales observées des chiens du groupe II. Effectivement, la majorité des chiens euthyroïdiens de notre étude et de celle de Sauvé et Paradis avaient une stimulation thyroïdienne satisfaisante malgré un dosage de TSHhr relatif au poids corporel faible. Chez l'homme, la TSHhr est éliminée plus lentement que la TSH endogène naturelle. Ce phénomène s'expliquerait par une élimination plus lente de la TSHhr causée par une glycolysation et/ou sialylation différente (Braverman et coll., 1992; Meier et coll., 1994). Il est possible qu'une dégradation plus longue soit aussi présente chez le chien, ce qui pourrait en partie expliquer que des doses relativement petites soient efficaces pour stimuler adéquatement les thyroïdes canines.

En utilisant la méthode de dilution de la TSHhr lyophilisée recommandée par le manufacturier, la quantité de solution à récupérer lorsque des doses de 50 et 100 μg étaient utilisées s'avérait très faible, ce qui a pu entraîner un manque de précision des dosages administrés. Il est donc possible qu'une erreur de précision ait été la cause des réponses suboptimales observées chez certains des chiens de cette étude.

1.3 Effet de la congélation

Pour des considérations économiques, la possibilité de congeler des aliquots pour administration multiple pourrait permettre une utilisation clinique plus économique et davantage accessible pour le client.

Des études portant sur les effets de la réfrigération et congélation sur la TSHb ont déjà été effectuées. Selon une de ces études, l'activité biologique de la TSHb est maintenue pour au moins trois semaines lorsque entreposée à quatre degrés Celsius C (Bruyette et coll., 1987). La congélation de la TSHb à -20°C pour une période de 200 jours selon une étude, et jusqu'à trois mois selon une autre, ne semble pas affecter la capacité biologique de cette dernière (Kobayashi et coll., 1990; Paradis et coll., 1994).

Selon le manufacturier (Genzyme corp.), une fois reconstituée, la TSHhr ne peut être maintenue plus de 24 heures à des températures entre deux et huit (Monographie Thyrogen, 1999). Une étude récente rapporte que la réfrigération (4°C) d'une durée de quatre semaines, ainsi que la congélation (-20°C) pour une période de deux mois de la TSHhr, n'ont pas été associées à perte de son activité biologique (De Roover et coll., 2003).

Dans cette étude, l'entreposage à -20°C pour une période de trois mois, n'a pas entraîné de perte significative de la capacité de la TSHhr à induire une élévation de la concentration sérique en hormones thyroïdiennes. Bien qu'il n'y ait pas de différence significative entre la concentration de la T4T post-TSH avant et après congélation, deux chiens sur six n'ont pas répondu aux critères d'euthyroïdie pré-établis. Les raisons de ces résultats demeurent indéterminées. Il semble peu probable que ces deux chiens soient atteints d'une hypothyroïdie subclinique étant donné la présence d'une réponse adéquate à la stimulation à la TSH lorsque qu'une TSHhr nouvellement reconstituée est utilisée (phase I). De plus, aucun de ces chiens ne présentait de signe clinique ou changement de laboratoire (T4T de base, T4L, TSHc, AATG, cholestérol et comptage érythrocytaire) suggérant la présence d'une dysfonction thyroïdienne. Lorsque que les concentrations de T4T post-TSH à T0, T4 et T6 obtenues lors de la phase I des deux chiens ayant inadéquatement répondu lors de la phase II sont comparés à ceux des quatre autres chiens du groupe, aucune différence significative n'est notée. Il est par contre intéressant de noter que le chien n'ayant pas obtenu une élévation optimale de la T4T lorsque $50\ \mu\text{g}$ de TSHhr a été utilisé lors de la phase I, a aussi démontré une réponse suboptimale lorsque de la TSHhr congelée a été administrée en phase II de

l'étude. Ces dernières observations pourraient être une le résultat d'un dosage suboptimal de la TSHhr ou secondaire à des critères diagnostiques trop sévères.

Il semble peu probable que la congélation de la TSHhr soit responsable d'une perte de son activité biologique et, par conséquent, des trois réponses inadéquates de stimulation à la TSHhr inadéquates observées lors de la phase III de l'étude. La TSHhr utilisée chez ces trois chiens a été congelée pour une période inférieure à cinq semaines. Un de ces chiens a reçu de la TSHhr nouvellement reconstituée (voir tableau 2). Les autres chiens euthyroïdiens atteints d'une maladie systémique ont reçus de la TSHhr congelée pour une période pouvant aller jusqu'à 11 semaines, sans réduction visible de sa capacité à induire une élévation des hormones thyroïdiennes. Afin d'appuyer l'hypothèse, les 10 chiens ayant reçu de la TSHhr congelée (voir tableau II) ont été séparés en deux sous-groupes; le premier où de la TSHhr congelée depuis plus de cinq semaines a été utilisée et l'autre où les chiens ont reçu de la TSHhr congelée depuis moins de cinq semaines. Aucune différence significative n'a été notée lors de la comparaison des résultats de stimulation à la TSHhr des deux sous-groupes canins.

1.4 Effets secondaires

Tout comme l'étude de Sauvé et Paradis, aucune réaction adverse n'a été notée chez les chiens de la présente étude, même lors d'administrations répétées. Bien que la présence d'autoanticorps dirigés contre la TSHhr n'ait pas été évaluée, aucun des chiens ayant reçu plus d'une dose de TSHhr n'a exhibé de signe clinique suggérant une réaction allergique ou l'évidence d'une résistance à la TSHhr.

1.6 Comparaison avec la stimulation à la TSHb

Tout comme l'étude de Sauvé et Paradis, l'augmentation de la concentration de la T4T suite à l'administration de TSHhr est relativement comparable à celles observées lors de l'utilisation de la TSHb (Sauvé et Paradis, 2000). Bien qu'il n'y ait pas de différence statistique significative entre la concentration de la T4T des chiens euthyroïdiens (groupe I et II) à T4 comparativement à T6, la concentration de la T4T moyenne est subjectivement plus élevée à T6. Le temps requis afin d'observer l'augmentation

maximale des hormones thyroïdiennes suite à l'administration de TSH est dépendante de la dose exogène de TSH utilisée (Feldman et Nelson, 2003). Le pic sérique de la T4T après l'administration de TSHb, lorsqu'une dose standard de TSHb est utilisée (0.1 U/kg), est normalement observé entre quatre et huit heures après son injection (Beale et coll., 1990; Feldman et Nelson, 2003; Paradis et coll., 1994; Sauvé et Paradis, 2000). De plus, la majorité des protocoles de stimulation à la TSHb mentionne un temps d'échantillonnage post-TSH de six heures (Dixon et Mooney, 1999; Feldman et Nelson, 2003; Panciera, 1999; Peterson et coll., 1997).

1.7 Futur et intérêts

La stimulation à la TSHhr apparaît très intéressante pour le diagnostic de l'hypothyroïdie canine, principalement pour les cas où la diagnostic demeure incertain avec les tests endocriniens standards actuels. La recherche pourra aussi grandement bénéficier de ce test, comme outil de base à l'établissement de la fonction thyroïdienne, tout comme la stimulation à la TSHb l'était dans le passé. D'autres études sont par contre nécessaires avant que la stimulation à la TSHhr soit utilisée à grande échelle. Notamment, d'autres études effectuées sur un plus grand nombre de chiens euthyroïdiens (en santé ou malade) qui évaluent la dose IV appropriée de TSHhr à être utilisée lors de stimulation à la TSH sont souhaitables. L'effet de l'administration de certains médicaments, tel que mentionné à la section 3.2 du chapitre premier, sur les résultats des stimulations à la TSHhr, a aussi besoin d'être évalué.

3. Conclusion

Le test de stimulation à la TSH à l'aide de TSHhr est un test endocrinien qui apparaît sécuritaire, possiblement accessible sur le plan économique et surtout utile pour le diagnostic clinique de l'hypothyroïdie canine. Son utilisation semble davantage intéressante, pour les cas suspecté d'hypothyroïdie qui demeure ambigu malgré le dosage de la concentration sérique de la T4T et/ou de la T4L combiné à la TSHc. La TSHhr s'avère prometteuse pour le remplacement futur de la TSHb, afin de bénéficier de nouveau des avantages de la stimulation à la TSH, et ce dans un contexte clinique et de recherche.

BIBLIOGRAPHIE

- Ashley PF, Frank LA, Schmeitzel LP, Bailey EM, Oliver JW: Effects of oral melatonin administration on sex hormone, prolactin, and thyroid hormone concentration in adult dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 215:1111-1115.
- Beale KM, Halliwell REW, Chen CL: Prevalence of antityrothyroglobulin antibodies detected by enzyme-linked immunoabsorbent assay of canine serum. *J Am Vet Med Assoc* 1990; 196: 745.
- Beale KM, Helm LJ, Keisling K: Comparison of two doses of aqueous bovine thyrotropin for thyroid function testing in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1990; 197(7): 865-867.
- Behrend EN, Kemppainen RJ, Young DW: Effect of storage conditions on cortisol, total thyroxine, and free thyroxine concentrations in serum and plasma of dogs. *J Am Vet Assoc* 1998; 212: 1564-1568.
- Behrend J, Prank K, Dogu E, Brabant G: Central nervous system control of thyrotropin secretion during sleep and wakefulness. *Horm Res* 1998; 49: 173-177.
- Bishnoi A, Carlson HE, Gruber BL, et coll.: Effects of commonly prescribed nonsteroidal anti-inflammatory drugs on thyroid hormone measurements. *Am J Med*; 96: 235-238.
- Benjamin SA et coll.: Association between lymphocytic thyroiditis, hypothyroidism, and thyroid neoplasia in beagles. *Vet Pathol* 1996; 33:486.
- Bradant G, Prank K, Hoang-Vu C, Hesh RD, Von Zur Mühlen A: Hypothalamic regulation of pulsatile thyrotropin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72: 145-150.
- Braverman LE, Pratt BM, Ebner S, Longcope C: recombinant human thyrotropin stimulates thyroid function and radioactive iodine uptake in the rhesus monkey. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 1135-1139.

Bruyette DS, Nelson RW, Bottoms GD: Effect of thyrotropin storage on thyroid-stimulating hormone response testing in normal dogs. *J Vet Int Med* 1987; 1: 91-94.

Carlson HE, Kael AT, Schulman PE et coll.: Effects of several nonsteroidal anti-inflammatory drugs on thyroid function tests. *J Rheumatol* 1999; 26: 1855-1856.

Castillo VA, Pisarev MA, Lalia JC, Rodriguez MS, Cabrini RL, Marquez AG: Commercial diet induced hypothyroidism due to high iodine. A histological and radiological analysis. *Vet Quart* 2001; 23(4): 218-223.

Cavalieri RR: The effects of nonthyroidal disease and drugs on the thyroid function tests. *Med Clin North Am* 1991; 75: 27-39.

Chastain CB, Ganjam VK: *Clinical Endocrinology of Companion Animals*, Philadelphia: Lea & Febiger, 1986; 113-153.

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

Chastain CB, Schimdt B: Galactorrhea associated with hypothyroidism in intact bitches. *J Am Anim Hosp Assoc* 1980; 16:851.

Center SA, Mitchell J, Nachreiner RF, Concannon PW, Reimers TJ: Effects of propranolol on the thyroid function in dogs. *Am Vet Res* 1984; 45: 109-111.

Chiba K, Kobayashi H, Wakabayashi K: Isolation and partial characterization of LH, FSH and TSH from Canine Pituitary gland. *Endocrinol J* 1997; 44(2): 205-218.

Christopher MM: Hyperlipidemia and other clinicopathological abnormalities associated with canine hypothyroidism. *Canine Pract* 1997; 22: 37-38.

Corcoran BM, Dukes-McEwan J, Rhind S, French A: Idiopathic pulmonary fibrosis in a staffordshire bull terrier with hypothyroidism. *J Small Anim Pract* 1999; 40: 185-188.

Colzani RM, Alex S, Fang S-L, Braverman LE, Emerson CH: The effect of recombinant human thyrotropin (rhTSH) on thyroid function in mice and rats. *Thyroid* 1998; 8(9): 797-801.

Comby F, Laforge JF, Moulard T, Buxeraud J, Raby C: antibacterial sulfonamides, antiparasitic and antifungal derivatives of imidazole: evaluation of their antithyroid effect in rats. *Vet res* 1993; 24: 316-326.

Conaway DH et coll.: Clinical et histological features of primary progressive, familial thyroiditis in a colony of Borzoi dogs. *Vet Pathol* 1985; 22: 4439.

Cortese L, Oliva G, Ciaramella P, Persechino A, Restucci B: Primary hypothyroidism associated with leishmaniosis in a dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 199; 35: 487-92.

Cortese L, Oliva G, Verstegen J, et coll.: Hyperprolactanemia and galactorrhea associated with primary hypothyroidism in a bitch. *J Small Anim Pract* 1997; 38: 572.

Cunningham JG : *Textbook of Veterinary Physiology*. Philadelphia: WB Saunders, 1997; 385-411.

Curtis CF, Evans H, Lloyd DH: Investigation of the reproductive and growth hormone status of dogs affected by idiopathic recurrent flank alopecia. *J Small Anim Pract* 1996; 37: 417-422.

Daminet S: Hypothyroïdie canine: revue et nouveautés. *Med Vet Québec* 2000; 30(1) : 52-53

Daminet S, Ferguson DC: Influence of drugs on thyroid function in dogs. *J Vet Int Med* 2003; 17: 463-472.

Damiet S, Jeusette I, Diez M, Van de Maele I, De Rick A: Evaluation of thyroid function in obese dogs and in dogs undergoing a weight loss protocol. *J Vet Med A* 2003; 50: 213-218.

Damiet S, Paradis M: Evaluation of thyroid function in dogs suffering from recurrent flank alopecia. *Can Vet J* 200; 41: 699-703.

Damiet S, Paradis M, Refsal KR, Price C: Short term influence of prednisone and phenobarbital on thyroid function in euthyroid dogs. *Can Vet J* 1999; 40: 411-415.

Davies PH, Franklyn JA: The effects of drugs on tests of thyroid function. *Eur J clin Pharmacol* 1991; 40: 439-451.

DeClementi-Safrit C: Acute thyroid hormone supplement overdosage. *Vet Med* 2001; 6: 424-430.

DeGroot LJ: *Endocrinology*, 3rd ed. Philadelphia: Sanders, 1995; 665-675.

De Roover et coll.: Effect of storage of reconstituted recombinant human thyrotropin on thyroid-stimulating hormone response testing in euthyroid dogs. *Proceedings of the 13th ECVIM-ca Congress, Uppsala, Suède, 2003*: 148

Dewy CW, Shelton GD, Bailey CS et coll.: Neuromuscular dysfunction in five dogs with acquired myasthenia gravis and presumptive hypothyroidism. *Prog Vet Neurol* 1995; 6: 117.

Dixon RM, Graham PA, Mooney CT: Serum thyrotropin concentrations: a new diagnostic test for canine hypothyroidism. *Vet Rec* 1996; 138: 594-595.

Dixon RM, Reid SWJ, Mooney CT: Epidemiological, clinical, haematological and biochemical characteristics of canine hypothyroidism. *Vet Rec* 1999; 145: 481-487.

Dixon RM, Mooney CT: Evaluation of serum free thyroxine and thyrotropin concentration in the diagnosis of canine hypothyroidism. *J Small Anim Pract* 1999; 40: 72-78.

Dixon RM, Mooney CT: Canine serum thyroglobulin autoantibodies in health, hypothyroidism and non-thyroidal illness. *Res Vet Sci* 1999; 66:243-246.

Doerge DR, Decker CJ: Inhibition of peroxidase-catalysed reactions by arylamines: mechanism for anti-thyroid action of sulfamethazine. *Chem Res Toxicol* 1994; 7: 164-169.

Evans HE: *Miller's Anatomy of the Dog*. Philadelphia: WB Saunders, 1993; 559-571.

Evinger JV, Nelson RW: The pharmacology of thyroid hormones in the dog. *J Am Vet Med Assoc* 1984; 185: 314-316.

Ettinger SJ, Feldman EC: *Textbook of veterinary internal medicine*, 5th ed. Philadelphia: Saunders, 2000; 1419-1429.

Feldman EC, Nelson RW: *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*, 3rd ed. Philadelphia: Saunders, 2004; 68-117.

Ferguson DC : Update on the diagnosis of canine hypothyroidism. *Vet Clin North Am: Small Anim Pract* 1994; 24 (3): 515-539.

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

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

Fontaine J, Beco L, Paradis M: Alopecie récidivante des flancs: Étude de 12 cas chez le griffon Korthals. *Point Vét* 1998; 29 : 445-449.

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: 481.

Frank LA, Oliver JW: Comparison of serum cortisol concentrations in clinically normal dogs after administration of freshly reconstituted versus reconstituted and frozen cosyntropin. *J Am Vet Med Assoc*; 212: 1569-1571.

Fritz TE et coll.: Pathology and incidence of thyroiditis in a closed beagle colony. *Exp Mol Pathol* 1970; 12: 14.

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

Gaskill CL, Burton SA, Gelens HCJ, Ihle SL, Miller JB, Shaw DH, Brimacombe MB, Cribb AE: Effects of Phenobarbital treatment on serum thyroxine and thyroid-stimulating hormone concentrations in epileptic dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 215: 489-496.

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

Gieger TL, Hosgood G, Taboada J, Wolfsheimer KJ, Mueller PB: Thyroid function and serum hepatic enzyme activity in dogs after Phenobarbital administration. *J Vet Int Med* 2000; 14: 277-281.

Gookin JL, Trepanier LA, Bunch SE: Clinical hypothyroidism associated with trimethoprim-sulfadiazine administration in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 214 (7): 1028-1031.

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

Gosselin SJ, Capen CC, Martin SL: Lymphocytic thyroiditis in the dog. *Am J Pathol* 1978; 90: 285.

- Graham PA, Nachreiner RF, Provencher-Bolliger AL: Lymphocytic thyroiditis. *Vet Clin North Am: Small Anim Pract* 2001; 31(5): 915-933.
- Greco SD, Feldman EC, Peterson ME, Turner JL, Hodges CM, Shipman LW: Congenital hypothyroidism dwarfism in a family of Giant schnauzers. *J Vet Intern Med* 1991; 5: 57-65.
- Greenspan FS, Rapoport B: *Basic and Clinical Endocrinology*, 3rd ed. California: Appleton and Lange, 1991; 188.
- Gulikers KP, Panciera DL: Influence of various medications on canine thyroid function. *Compend Contin Educ Pract Vet* 2002; 7: 511-522.
- Gulikers KP, Panciera DL: Evaluation of the effects of clomipramine on the canine thyroid function tests. *J Vet Intern Med* 2003; 17: 44-49.
- Haines DM, Lording PM, Penhale WJ: Survey of thyroglobulin antibodies in dogs. *Am J Vet Res* 1984; 45: 1493.
- Hall IA, Campbell KL, Chambers MD, Davis CN: Effect of trimethoprim/sulfamethoxazole on thyroid function in dogs with pyoderma. *J Vet Med Assoc* 1993; 202: 1959-1962.
- Hangaard J, Andersen M, Grodum E, Koldjaer O, Hagen C: Pulsatile thyrotropin secretion in patient with Addison's disease during variable glucocorticoid therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 8: 2502-2507.
- Hess RS, Kass PH, Shofer FS, et coll.: Evaluation of risk factors for fatal acute pancreatitis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 214: 46.
- Huber GK, Fong P, Conception ES, Davies TS: Recombinant human thyroid-stimulating hormone: Initial bioactivity assessment using human foetal thyroid cells 1991; 72: 1328-1331.

Hussein A, Zimmerman CA, Boose JA, Froehlich J, Richardson A, Horowitz RS, Collins MT, Lash RW: Large scale synthesis of recombinant human thyrotropin using metotrexate amplification: chromatographic immunological, and biological characterization. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1184-1188.

Jackson HA, Jackson MW, Wotton PR et coll.: Diarrhea associated with acquired adult onset hypothyroidism in 6 dogs. *Proceedings of the 41st British Small Anim Vet Assoc*, Birmingham, England 1998: 271.

Jaggy A, Oliver JE, Ferguson DC et coll. : Neurological manifestation of hypothyroidism : A retrospective study of 29 dogs. *J Vet Intern Med* 1994; 8: 328.

Johnson C, Oliver NB, Nachreiner R, Mullaney T: Effect of ³¹I-induced hypothyroidism on indices of reproductive function in adult male dogs. *J Vet Int Med* 1999; 13: 104-110.

Kaelin S, Watson ADJ, Church DB: Hypothyroidism in the dog: a retrospective study of sixteen cases. *J Small Anim Pract* 1986; 27: 533-539.

Kantrowitz LB, Peterson ME, Trepanier LA, Melian C, Nichols B: Serum total thyroxine, and thyrotropin concentrations in epileptic dogs treated with anticonvulsants. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 214: 1804-1808.

Kantrowitz LB, Peterson ME, Melian C, Nichols R: Serum total thyroxine, total triiodothyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations in dogs with nonthyroidal disease. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 219: 765-769.

Kaptein EM, Hays MT, Ferguson DC : Thyroid hormone metabolism (a comparative evaluation). *Vet Clin North Am: Small Anim Pract* 1994; 24 (3): 431-462.

Kaptein EM et coll.: Relationship of altered thyroid indices to survival in nonthyroidal illnesses. *Clin Endocrinol* 1982; 16: 565.

Kaptein EM et coll.: Peripheral serum thyroxine, triiodothyronine, and reverse triiodothyronine kinetics in low thyroxine state of acute nonthyroidal illnesses. *J clin Invest* 1982; 69: 526.

Kaptein EM: Thyroid hormones metabolism in nonthyroidal disease. *Proceeding ACVIM* 1988. Washington DC; 649.

Kaswan RL, Martin CL, Dave DL: Keratoconjunctivitis sicca: Immunological evaluation of 62 canine cases. *Am J Vet Res* 1985; 46: 376.

Kaufman J, Olsen PN, Reimer TJ, Allen TA, Soderberg SF, Nett TM, Wheeler SM, Wingfield WE: Serum concentration of thyroxine, 3,3,5'-triiodothyronine, thyrotropin et prolactin in dogs before and after thyrotropin-releasing hormone administration. *Am J Vet Res* 1985; 46: 486-492.

Kemppainen RJ, Behrend EN: Advances in diagnostic testing for canine hypothyroidism. *Comp Cont Edu Pract Vet* 1998; 6: 673-759.

Kemppainen RJ, Behrend EN, Diagnosis of hypothyroidism. *Vet Clin North Am: Small Anim Pract* 2001; 31(5): 951-962.

Kemppainen RJ, Behrend EN, Clark TP: Autoantibodies to triiodothyronine and thyroxine in a golden retriever. *J Am Anim Hosp Assoc* 1996; 32: 195-198.

Kemppainen RJ, Clark TP: Etiopathogenesis of canine hypothyroidism. *Vet Clin North Am: Small Anim Pract* 1994; 24 (3): 467-475.

Kemppainen RJ, Young DW: Canine triiodothyronine autoantibodies. In: Kirk-Bonagura JD ed. *Kirk's Current Veterinary therapy X*. Philadelphia: WB Saunders, 1989; 327-330.

Kemppainen RJ, Sartin JL: Evidence for episodic but not circadian activity in plasma concentration of adrenocorticotropin, cortisol, and thyroxine in dogs. *J Endocrinol* 1984; 103(2): 219-226.

Kintzer PP: Polyglandular failure syndrome in dogs. *Kirk's Current Veterinary Therapy XI*. Philadelphia: Saunders, 1992; 383-385.

Kobayashi DL, Nichols R, Peterson ME: Serum thyroid hormone concentrations in clinically normal dogs after administration of freshly reconstituted vs previously frozen and stored thyrotropin. *J Am Vet Med Assoc* 1990; 197: 597-599.

Kooistra HS, Voorhout G, Mol JA, Van Den Brom WE, Rijnberk A: Combined pituitary hormone deficiency in German Shepard with dwarfism. *Domest anim Endocrinol* 2000; 19: 177-190.

Kooistra HS, Diaz-Espineira M, Mol JA, van den Brom WE, Rijnberk A: Secretion pattern of thyroid-stimulating hormone in dogs during euthyroidism and hypothyroidism. *Domest Anim Endocrinol* 2000; 18 (1): 19-29.

Kowalewski K, Kolodej A: Myoelectrical and mechanical activity of the stomach and intestine in hypothyroid dogs. *Dig Dis* 1997; 22: 235.

Kudo M, Chen T, Nakabayashi K, Yu Hsu S, Hsueh AJW: The nematode-rich repeat-containing, G protein-coupled receptor (LGR) protein homologous to vertebrate gonadotropin and thyrotropin receptors is constitutively activated in mammalian cells. *Molecular Endocrinol* 2000; 14(2): 272-284.

Landenson PW: recombinant human thyrotropin symposium. Strategies for thyrotropin use to monitor patient with treated thyroid carcinoma. *Thyroid* 1999; 9(5): 429-432.

Ladenson PW, Braverman LE, Mazzaferri EL, Brucker-Davis F, Cooper DS, Garber JR, Wondisford FE, Davies TF, DeGroot LJ, Daniels GH, Ross DS, Weintraub BD: Comparison of administration of recombinant human thyrotropin with withdrawal of thyroid hormone for radioactive iodine scanning in patient with thyroid carcinoma. *N Engl J Med* 1997; 337: 888-896.

Laflamme DP, Kuhlman G, Lawler DF, Kealy RD et Schmidt DA: Obesity management in dogs. *Vet Clin Nutr* 1994; 1: 59-65

Liebert MA: Recombinant human thyrotropin (editorial). *Thyroid* 1999; 9(5): 419-420.

Loeber JG, Franken MAM, Van Leewen FXR: Effect of sodium bromide on endocrine parameters in the rat as studied by immunocytochemistry and radioimmunoassay. *Food Chem Toxic* 1983; 21: 391-404.

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

Meier CA, Braverman LE, Ebner SA, Veronikis I, Daniels GH, Ross DS, Deraska DJ, Davies TF, Valentine M, DeGroot LJ, Curran P, McEllin K, Reynolds J, Robbins J. Diagnostic use of recombinant human thyrotropin in patients with thyroid carcinoma (phase I/II study). *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 188-196.

Miller MA, Dunstan RW: Seasonal flank alopecia in Boxers and Airedale terriers: 24 cases (1985-1992): *J Am Vet Med Assoc* 1993; 203: 1567-1572.

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

Mizukami Y, Funaki M, Hashimoto t: Histologic features of thyroid gland in a patient with bromide induced hypothyroidism. *J Clin Pathol* 1988; 89: 802-805.

Monographie de la TSH humaine recombinée: Thyrogen® thyrotropin alfa for injection. Genzyme Corp. 1999, Cambridge, Maine, USA.

Mooney CT, Anderson TJ: Congenital hypothyroidism in a boxer dog. *J Small Anim Pract* 1993; 34; 31-35.

Moore GE, Ferguson DC, Hoenig M: Effects of oral administration of anti-inflammatory 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.

Müller PB, Wolfsheiner KJ, Taboada J, Hosgood G, Partington BP, Gashen FP: Effects of long term Phenobarbital treatment on the thyroid and adrenal axis and adrenal function tests in dogs. *J Vet Int Med* 2000; 14:157-164.

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

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

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.

Panciera DL: Hypothyroidism in dogs: 66 cases (1987-1992). *J Am Vet Med Assoc* 1994; 204(5): 761-767.

Panciera DL: Clinical manifestation of canine hypothyroidism. *Vet Med* 1997; 45-49.

Panciera DL: Is it possible to diagnose canine hypothyroidism. *J Small Anim Pract* 1999; 40: 152-157.

Panciera DL: Conditions associated with canine hypothyroidism. *Vet Clin North Am: Small Anim Pract* 2001; 31(5): 935-950.

Panciera DL, Helfand SC, Soergel SA: Acute continuous infusions of human recombinant interleukin-2 on thyroid hormone concentration in dogs. *Res Vet Science* 1995; 58: 96-97.

Pancier DL, Post K: Effect of sulfadiazine et trimethoprim in combination on thyroid function in dogs *Can J Vet Res* 1992; 56: 349-352.

Paradis M: Melatonin therapy for canine alopecia. *Kirk's Current Veterinary therapy XIII*. Philadelphia: Saunders, 2000: 546-549.

Paradis M, Laperrière E, Larrivière N : Effect 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, Lépine S, Lemay S, Fontaine M: Studies of various diagnostic methods for canine hypothyroidism. *Vet Dermatol* 1991; 2: 125-132.

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

Paradis M, Sauvé F, Charest J, Refsal KR, Moreau M, Dupuis J: Effects of moderate to severe osteoarthritis on canine thyroid function. *Can Vet J* 2003; 44: 407-412.

Paull LC, Scott-Moncrieff JCR, DeNicola DB, Glickman N, Refsal KR, Glickman, LT: Effect of anticonvulsant dosage of potassium bromide on thyroid function and morphology in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2003; 39:193-202.

Peterson ME, Ferguson DC, Kintzer PP, Drucker WD: Effect of spontaneous hyperadrenocorticism on serum thyroid hormone concentration in the dog. *J Vet Res* 1984; 45: 2034-2038.

Peterson ME, Melian C, Nichols R: Measurement of serum total thyroxine, triiodothyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations for diagnosis of hypothyroidism in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1997; 211: 1396-1402.

Ramirez L, Breaverman LE, White B, Emerson CH: Recombinant human thyrotropin is a potent stimulator of thyroid function in normal subject. *J Clin Endocrinol Met* 1997; 82: 2836-2839.

Ramsey IK, Vans H, Heritage ME: Thyroid-stimulating hormone and total thyroxine concentration in euthyroid, sick euthyroid and hypothyroid dogs. *J Small Anim Pract* 1997: 540-545.

Refsal KR, Nachreiner RF: Thyroid hormone antibodies in the dog: Their association with serum concentrations of iodothyronine and thyrotropin and distribution by age, sex, and breed of dog. *Canine Pract* 1998; 22: 16.

Reimers TJ, Lawler DF, Suturia PM, Correae MT, Erb HN : Effects of age, sex, and body size on serum concentrations of thyroid and adrenocortical hormones in dogs. *Am J Vet Res* 1990; 51 (3): 454-457.

Ribela MT, Bianco AC, Bartolini P: The use of recombinant human thyrotropin produced by Chinese human ovary cells for the preparation of immunoassay reagents. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81 (1): 249-256.

Robbins J : Recombinant human thyrotropin symposium. *Pharmacology of bovine and human thyrotropin : An historical perspective. Thyroid*; 9(5): 451-453.

Rousseau A, Comby F, Buxeraud J et coll.: Spectroscopic analysis of charge transfer complex formation and peroxidase inhibition with tricyclic antidepressant drugs: potential anti-thyroidal action. *Biol Pharm Bull* 1996; 19:726-728.

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

Samuels MH, Luther M, Henry P, Ridgeway AC: Effects of hydrocortisone on pulsatile pituitary glycoprotein secretion 1994; 78: 211-215.

Sangster B, Bloom JL, Sekhuis VM: The influence of sodium bromide in man: A study in volunteers with special emphasis on the endocrine and central nervous system. *Food Chem Toxic* 1983; 21: 409-419.

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.

Sauvé F, Paradis M: Use of recombinant human thyroid-stimulating hormone for thyrotropin stimulation test in euthyroid dogs. *Can Vet J* 2000; 41: 215-218.

Sauvé F, Paradis M, Charest J, Refsal KR, Moreau M, Dupuis J: Effects of oral administration of meloxicam, carprofen, and a nutraceutical on the thyroid function in dogs with osteoarthritis. *Can Vet J* 2003; 44:474-479.

Scott DW: Seasonal flank alopecia in ovariohysterectomized dogs. *Cornell Vet* 1990; 80: 187-195.

Scott-Moncrieff CR, Guphill-Yoran L: Hypothyroidism. In : Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 5th ed. Vol.2 Philadelphia: WB Saunders, 2000; 1419-1429.

Scott-Moncrieff CR, Nelson RW: Change in serum thyroid-stimulating hormone concentration in response to administration of thyrotropin-releasing hormone to healthy dogs, hypothyroid dogs, and euthyroid dogs with concurrent disease. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 213: 1435-1438.

Scott-Moncrieff JC, Nelson RW, Bruner JM, William DA: Comparison of serum concentration of thyroid-stimulating hormone in healthy dogs, hypothyroid dogs, and euthyroid dogs with concurrent disease. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 212: 387-391.

Scott-Montcrieff CR, Nelson RW, Ferguson DC, Neal L: Measurement of serum free thyroxine by modified equilibrium dialysis in dogs. *J Vet Int Med (abstract)* 1994; 189: 159.

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

Teresa M, Ribela CP, Bianco AC, Bartolini P: The use of recombinant human thyrotropin produced by Chinese hamster ovary cells for the preparation of immunoassay reagents. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 249-256.

Thotakura NR, Desai, RK, Bates LG, Coles ES, Pratt, BM, Weintraub BD: Biological activity and metabolic clearance rate of a recombinant human thyrotropin produced by Chinese hamster ovary cells. *Endocrinol* 1991; 128: 341-348.

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

Torres S, McKeever P, Johnston S: Hypothyroidism in a dog associated with trimethoprim/sulfadiazine therapy. *Vet Dermatology* 1996; 7: 105-108.

Van Leeuwen FXR, den Tonkelaar EM, Vsan Logten MJ: Toxicity of sodium bromide in rats: effects on endocrine system and reproduction. *Food chem. Toxic* 1983; 21:383-389.

Velicky J, Titlbach M, Duskova J, Vobecky M, Strbak V, Raska I: Potassium bromide on the thyroid gland of the rat: morphology and immunohistochemistry, RIA and INAA analysis. *Ann Anat* 1997; 179:421-423.

Velicky J, Titlbach M, Lojda Z et coll.: Long-term potassium action of potassium bromide on the rat thyroid gland. *Acta Histochem* 1998; 100: 11-23.

Wartofsky L, Burman KD: Alteration in thyroid function in patients with systemic illness: The euthyroid sick syndrome. *Endocrinol Rev* 1982; 3 (2): 162-217.

Weintraub BD : Diagnostic use of recombinant human thyrotropin in patient with thyroid carcinoma (phase I/II study). *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 188-196.

Weintraub BD, Szkudlinski MW: Recombinant human thyrotropin symposium. Development and in vitro characterization of human recombinant thyrotropin. *Thyroid* 1999; 9(5): 447-450.

Wheeler SL, Husted PW, Rosychuck RAW, Allen TA, Nett TM, Olson N: Serum concentration of thyroxine and 3,5,3'-triiodothyronine before and after intravenous or intramuscular thyrotropin administration in dogs. *Am J Vet Res* 1985; 46(12): 2605-2608.

White SD: Hormonal replacement therapy in veterinary dermatology. In: Kirk-Bonagura JD ed. *Kirk's Current Veterinary therapy X*. Philadelphia: WB Saunders, 1989; 602.

Wilson JD, Foster DW : *Williams Textbook of Endocrinology*, 8th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1992; 357.

Yagi K, Ohashi E, Tanabe S, Uzuka Y, Sarashina T: Serum thyrotropin response to TRH administration in six healthy beagle dogs. *Vet Rec* 2000; 146: 706-707.

Yang X, McGraw RA, Ferguson DC: cDNA cloning of canine common α gene and its co-expression with canine thyrotropin β gene in baculovirus expression system. *Dom Anim Endocrinol* 2000; 18: 379-393.

Yang X, McGraw RA, Su X, Katakan P, Grosse WM, Li OW, Ferguson DC: Canine thyrotropin β -subunit gene: cloning and expression in *Escherichia coli*, generation of monoclonal antibodies, and transient expression in the Chinese hamster ovary cells. *Dom Anim Endocrinol* 2000; 18: 363-378.

Young DW, Haines DM, Kemppainen RJ: The relationship between autoantibodies to triiodothyronine (T3) and thyroglobulin (Tg) in the dog. *Autoimmunity* 1991; 9: 41.

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

Yu AA, Kemppainen RJ, MacDonald JM: Effect of endotoxin on hormonal responses to thyrotropin and thyrotropin-releasing hormone in dogs. *Am J Vet Res* 1998; 59: 186-191.

ACCORD DES COAUTEURS

1. Identification de l'étudiant et du programme

Lyanne Fifle

[REDACTED]

M. Sc. en Sciences vétérinaires

Option sciences cliniques

2. Description de l'article

-Lyanne Fifle, Manon Paradis, Sylvie Daminet et Maxime Moreau

-Évaluation de la thyrotropine humaine recombinée, lors d'un test de stimulation à la thyrotropine, chez des chiens euthyroïdiens et des chiens atteints d'une maladie systémique.

-Destiné à la revue *Canadian Veterinarian Journal*

-Article en phase finale de préparation. Article soumis aux coauteurs pour dernière lecture.

3. Déclaration de tous les coauteurs autres que l'étudiant

À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, je suis d'accord pour que Lyanne Fifle inclue cet article dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre : Évaluation de la thyrotropine humaine recombinée, lors d'un test de stimulation à la thyrotropine, chez des chiens euthyroïdiens et des chiens atteints d'une maladie systémique.

Manon Paradis

Coauteur

12 April 2004

Date

Sylvie Daminet

Coauteur

16/4/2004

Date

Maxime Moreau

Coauteur

15 April 04

Date

