

EVALUACIÓN DE TIROXINA TOTAL Y HORMONA ESTIMULANTE DEL TIROIDES EN PERROS SANOS Y ENFERMOS.

M.C. Marca*, A. Loste*, I. Orden**,
J.M. González***, J.A. Marsellá**

*Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria.

c. Miguel Servet, 177.

50013 Zaragoza.

**Laboratorio de Bioquímica Hormonal.

Hospital Clínico Universitario.

Avda. San Juan Bosco, 15.

50009 Zaragoza.

***Servicio de Bioquímica.

Hospital Universitario Miguel Servet.

P.º Isabel La Católica, 1.

50009 Zaragoza.

RESUMEN.

Hemos analizado los niveles de tiroxina total (TT₄) y de hormona estimulante del tiroides (TSH) en perros sanos y enfermos (hipotiroideos y enfermos no tiroideos). En el análisis de TSH se han utilizado los tres procedimientos actualmente disponibles: radioinmunoensayo, enzimoimmunoensayo y quimioluminiscencia. En los perros hipotiroideos, los niveles de TT₄ estuvieron por debajo del límite normal, al igual que en algunos animales afectados por otras enfermedades. Se comprobaron pequeñas diferencias entre los resultados de TSH con los tres métodos analíticos ensayados, pero en general los valores más elevados se obtuvieron en los perros hipotiroideos. Sin embargo, altas concentraciones de esta hormona también se observaron en algunos animales con enfermedades no tiroideas o incluso en animales sanos.

Palabras clave: Perro; Tiroxina; Hormona estimulante del tiroides.

ABSTRACT.

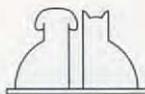
Total thyroxine (TT₄) and thyroid-stimulating hormone (TSH) concentrations have been evaluated in healthy and unhealthy dogs (hypothyroidism and other diseases have been included). Three analytical procedures have been used for assaying TSH: radioimmunoassay, enzymeimmunoassay and chemiluminescence. Hypothyroid dogs shown TT₄ results lower normal range and in some groups of unhealthy dogs could also be reported low results for TT₄. Small differences between TSH levels obtained by the three analytical procedures have been appreciated and the highest results have been reported in hypothyroid dogs. However high concentrations of this hormone have been obtained in some animals affected by non-thyroidal diseases or even in healthy dogs.

Key words: Dog; Thyroxine; Thyroid-stimulating hormone.

INTRODUCCIÓN.

Aunque no se conoce su incidencia real, la mayoría de los autores coinciden en señalar al hipotiroidismo como una de las endocrinopatías más frecuentes en la especie canina, siendo la tiroiditis linfocítica y la atrofia idiopática las principales causas del mismo¹⁶. Existen además muchos otros factores, fisiológicos o no, que pueden inducir un hipotiroidismo funcional, entendiéndose por tal aquella situación en la que el tiroides se adapta a algún cambio que interacciona con su normal funcionamiento⁴.

Clínicamente se presenta como una enfermedad multisistémica, a veces muy inespecífica, lo que dificulta considerablemente el diagnóstico y requiere la participación del laboratorio para su confirmación. A nivel laboratorial son muchas las modificaciones con que nos podemos encontrar y se recomienda, además del análisis hematológico y perfil bioquímico general, realizar un análisis hormonal¹. A las ya clásicas pruebas hormonales para el diagnóstico del hipotiroidismo canino⁶ ha venido a unirse una nueva: el análisis de la tirotrópina (TSH) en sangre. No obstante, desde un punto de vista práctico no podemos realizar todas



las pruebas disponibles, por lo que resulta necesario elegir aquella o aquellas que nos permitan obtener resultados fiables en un plazo de tiempo relativamente corto y con un coste económico asequible.

Se pensaba que el análisis de los niveles de TSH canina en sangre permitiría mejorar considerablemente la fiabilidad en el diagnóstico del hipotiroidismo, ya que en medicina humana, la evaluación conjunta de tiroxina y TSH es el método de elección para el diagnóstico de la enfermedad¹⁵. Sin embargo, los resultados en medicina veterinaria parecen no estar tan claros y existen discrepancias en cuanto a su fiabilidad diagnóstica entre los distintos autores^{8, 11, 13}.

No obstante, sigue recomendándose el análisis de TSH como prueba a incluir en el panel diagnóstico de los perros sospechosos de hipotiroidismo y se ha demostrado que la valoración conjunta de la tiroxina total (TT₄) o libre (FT₄) y la TSH permite mejorar considerablemente la especificidad diagnóstica^{9, 10, 14}.

En este estudio presentamos los resultados obtenidos en el análisis de TT₄ y TSH en perros sanos y en perros afectados de distintas enfermedades, evaluando las diferencias que existen en ambos parámetros entre los distintos grupos de animales incluidos en la experiencia. La evaluación de TSH canina se ha llevado a cabo con los tres procedimientos analíticos actualmente comercializados en veterinaria (radioinmunoensayo, enzimoimmunoensayo y quimioluminiscencia).

MATERIAL Y MÉTODOS.

Animales.

Los perros utilizados en el estudio proceden del Servicio de Medicina Interna de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza e incluyen animales de ambos sexos y de distintas edades y razas, algunos de ellos sanos y otros afectados de distintos procesos patológicos.

Las muestras se obtuvieron a primera hora de la mañana, tras un periodo de 12 horas de ayuno, por punción en las venas yugular o cefálica. La sangre se recogía en tubos vacíos y tras su coagulación se centrifugaba (3000 rpm, 10 minutos), repartiéndose el suero obtenido en alícuotas que se congelaban a -20 °C hasta su análisis.

Metodología analítica.

- Tiroxina total (TT₄): Su valoración la hicimos

con un kit comercial para la cuantificación de TT₄ en muestras caninas (Coat-A-Count Canine T₄. TKC41. D.P.C.). Se trata de un radioinmunoensayo en fase sólida que utiliza tubos cubiertos con anticuerpos y como trazador T₄ marcada con I¹²⁵.

- Hormona tirotrópica (TSH): Esta hormona es específica de especie, por lo que requiere reactivos preparados exclusivamente para su utilización con muestras caninas. Actualmente existen comercializados 3 procedimientos para su análisis y los tres fueron evaluados en nuestro estudio:

* Método radioinmunométrico (TSH-IRMA) (Coat-A.Count Canine TSH IRMA. IK9T1. D.P.C.): Ensayo en fase sólida que utiliza dos anticuerpos: uno policlonal marcado con I¹²⁵ y otro monoclonal inmovilizado en la pared de los tubos de reacción. Tanto en este método como en el usado para analizar TT₄, las lecturas finales se realizaron en un contador de centelleo Gamma LKB.

* Enzimoimmunoensayo (TSH-Milenia) (Milenia Canine TSH. MKVCT1. D.P.C.): Método en microplaca, cuyos pocillos están recubiertos con un anticuerpo anti-TSH canina y sobre los que se incorpora la enzima marcada con anticuerpos policlonales anti-TSH canina. Es un procedimiento fácilmente automatizable y la lectura final se realizó a 450 nm. en un lector de placas ELISA Labsystem Multiskan RC.

* Quimioluminiscencia (TSH-Immulate) (Immulate Canine TSH. LK9T1. D.P.C.): Ensayo en fase sólida inmunométrico quimioluminiscente secuencial de dos puntos, que utiliza también dos anticuerpos anti-TSH canina: uno monoclonal ligado a la fase sólida y otro policlonal marcado con fosfatasa alcalina. Las lecturas se llevaron a cabo en un equipo de quimioluminiscencia Immulate.

Los análisis de TT₄ y TSH, cualquiera que fuera el método analítico utilizado, se realizaron siempre por duplicado, incluyendo en cada caso los correspondientes sueros control (Control Tiroides Canino RIA. K9TCM. D.P.C.)

Intervalo de referencia en los perros sanos.

Lo establecimos a partir de los resultados obtenidos en 30 perros de ambos sexos y de distintas edades y razas. Los animales se consideraron sanos una vez comprobado que tanto su exploración física como sus resultados analíticos básicos (hematología, perfil bioquímico general y urianálisis) eran normales. Tras el análisis de las muestras se calcularon la media (\bar{x}) y la desviación típica

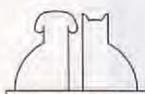


Tabla I. Intervalo de referencia ($\bar{x} \pm 2SD$) para TT_4 , y TSH en perros sanos.

	n	\bar{x}	SD	$\bar{x} \pm 2SD$
TT_4 ($\mu\text{g/dl}$)	28	1.91	0.63	0.65-3.17
TSH-IRMA (ng/dl)	31	0.15	0.11	0.00-0.37
TSH-Milenia (ng/dl)	23	0.16	0.11	0.00-0.38
TSH-Immulite (ng/dl)	26	0.12	0.09	0.00-0.30

(SD) y tras comprobar que los datos obtenidos seguían una distribución normal se estableció el correspondiente intervalo ($\bar{x} \pm 2SD$).

Estudio en los animales enfermos.

En este apartado englobamos tanto perros hipotiroideos (tratados y no tratados) como animales eutiroideos con enfermedades extratiroides y perros sanos. En total se incluyeron 62 animales distribuidos en los siguientes grupos:

- Grupo 1 (control): Animales sanos (n = 23)
- Grupo 2: Hipotiroideos no tratados (n = 4)
- Grupo 3: Hipotiroideos tratados (n = 8)
- Grupo 4: Dermatopatías (n = 11)
- Grupo 5: Alteraciones del comportamiento (n = 9)
- Grupo 6: Parasitosis (n = 7)

Tras analizar todas las muestras se aplicó el correspondiente análisis de varianza (ANOVA) para evaluar la aparición de diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

RESULTADOS.

En la Tabla I se presenta el intervalo de referencia ($\bar{x} \pm 2SD$) obtenido para la TT_4 y TSH con

cada uno de los procedimientos analíticos utilizados en el estudio.

Los resultados de TT_4 y TSH obtenidos en los animales sanos y en los afectados de distintas patologías pueden verse resumidos en la Tabla 2, en la que figuran también las diferencias estadísticamente significativas obtenidas en cada caso. Estos resultados pueden compararse más fácilmente si nos fijamos en sus representaciones gráficas (Figs. 1 - 4).

DISCUSIÓN.

El valor medio de TT_4 en el conjunto de los perros sanos incluidos en el estudio es de 1.91 $\mu\text{g/dl}$ con un intervalo que oscila entre 0.65 y 3.17 $\mu\text{g/dl}$ (Tabla I). Estos resultados concuerdan con los previamente establecidos en nuestro laboratorio así como con los publicados por distintos autores^{7, 10, 14}. Algo similar ocurre con los resultados obtenidos en el análisis de TSH (Tabla I). Los valores oscilan entre 0 y 0.4 ng/ml cualquiera que sea el procedimiento analítico utilizado, si bien se registran leves diferencias entre ellos. En cualquier caso los resultados coinciden con los indicados en los kits diagnósticos utilizados en el estudio (0.0 - 0.5 ng/ml) y también con los registrados previamente por otros autores^{5, 10, 14}.

En el estudio realizado en perros afectados de distintas enfermedades (Tabla II), podemos ver como los resultados de TT_4 entran dentro del intervalo de referencia en todos los grupos, excepto en el Grupo 2 (perros hipotiroideos no tratados), cuyos resultados se encuentran en su mayoría por debajo del límite inferior de referen-

Tabla II. Resultados ($\bar{x} \pm SD$) de TT_4 y TSH en animales sanos y enfermos*.

	TT_4 ($\mu\text{g/dl}$)	TSH-IRMA (ng/ml)	TSH-Milenia (ng/ml)	TSH-Immulit (ng/ml)
Grupo 1	1.67 \pm 0.65 ^a	0.21 \pm 0.13 ^f	0.16 \pm 0.09 ^f	0.17 \pm 0.16 ^f
Grupo 2	0.52 \pm 0.19 ^b	0.89 \pm 0.59 ^a	0.60 \pm 0.63 ^j	0.93 \pm 0.65 ^g
Grupo 3	2.33 \pm 0.87 ^c	0.52 \pm 0.67 ^h	0.62 \pm 0.70 ⁱ	0.51 \pm 0.68 ^k
Grupo 4	1.15 \pm 0.43 ^d	0.23 \pm 0.14	0.16 \pm 0.12	0.15 \pm 0.08
Grupo 5	2.17 \pm 0.65 ^e	0.06 \pm 0.06	0.05 \pm 0.04	0.05 \pm 0.01
Grupo 6	0.98 \pm 0.55	0.30 \pm 0.30	0.14 \pm 0.12	0.27 \pm 0.33

*Grupo 1: Sanos. Grupo 2: Hipotiroideos no tratados. Grupo 3: Hipotiroideos tratados. Grupo 4: Dermatopatías. Grupo 5: Alteraciones del comportamiento. Grupo 6: Parasitosis.

a: Dif. significativa ($p < 0.05$) entre el grupo 1 y todos los demás.

b: Dif. significativa ($p < 0.05$) entre grupos 2-3 y 2-5.

c: Dif. significativa ($p < 0.05$) entre grupos 3-4 y 3-6.

d: Dif. significativa ($p < 0.01$) entre grupos 4-5.

e: Dif. significativa ($p < 0.01$) entre grupos 5-6.

f: Dif. significativa ($p < 0.01$) entre grupos 1-2 y 1-3.

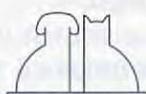
g: Dif. significativa ($p < 0.05$) entre grupos 2-3, 2-4, 2-5 y 2-6.

h: Dif. significativa ($p < 0.05$) entre grupos 3-5.

i: Dif. significativa ($p < 0.05$) entre grupos 2-4, 2-5 y 2-6.

j: Dif. significativa ($p < 0.05$) entre grupos 3-4, 3-5, 3-6.

k: Dif. significativa ($p < 0.05$) entre grupos 3-4 y 3-5.



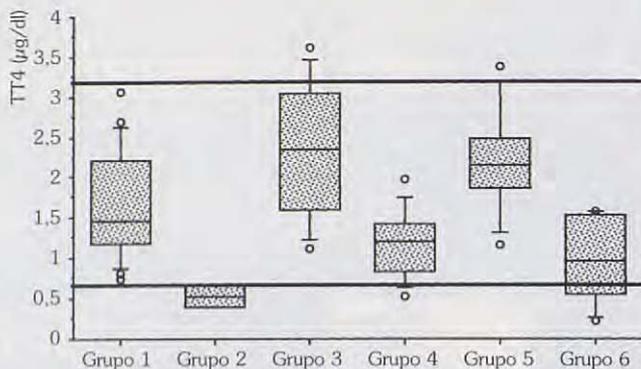


Fig. 1. Resultados de TT4 ($\mu\text{g} / \text{dl}$) en animales sanos y enfermos*
* Grupo 1: Sanos. Grupo 2: Hipotiroides no tratados. Grupo 3: Hipotiroides tratados. Grupo 4: Dermopatías. Grupo 5: Alteraciones del comportamiento. Grupo 6: Parasitosis.

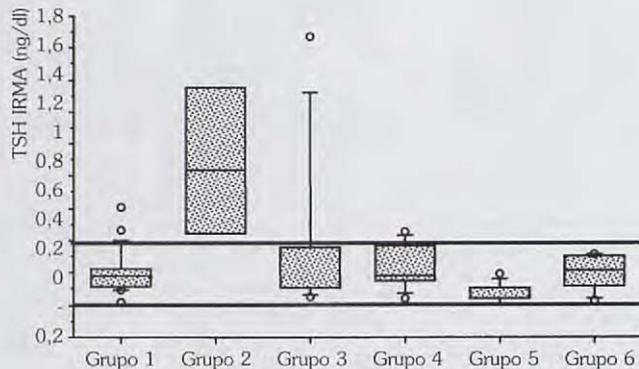


Fig. 2. Resultados de TSH IRMA (ng / ml) en animales sanos y enfermos*
* Grupo 1: Sanos. Grupo 2: Hipotiroides no tratados. Grupo 3: Hipotiroides tratados. Grupo 4: Dermopatías. Grupo 5: Alteraciones del comportamiento. Grupo 6: Parasitosis.

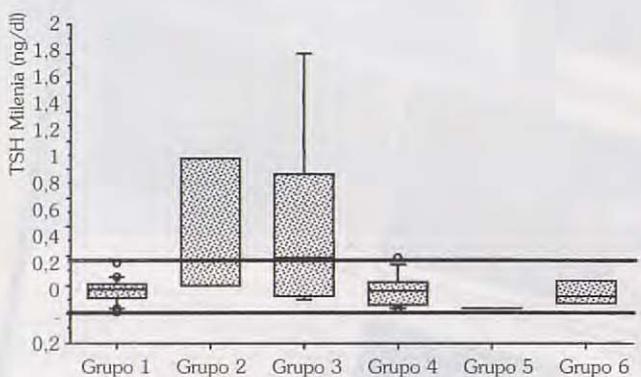


Fig. 3. Resultados de TSH Milenia (ng / ml) en animales sanos y enfermos*
* Grupo 1: Sanos. Grupo 2: Hipotiroides no tratados. Grupo 3: Hipotiroides tratados. Grupo 4: Dermopatías. Grupo 5: Alteraciones del comportamiento. Grupo 6: Parasitosis.

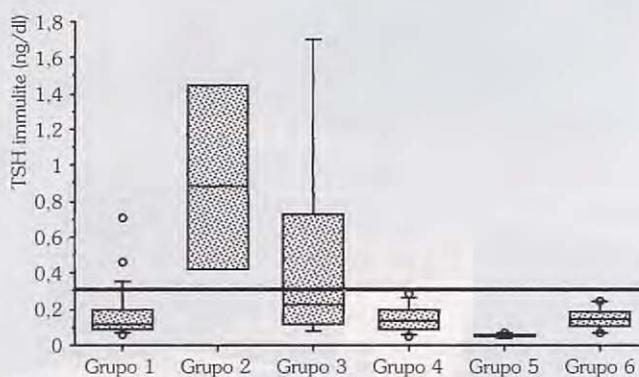


Fig. 4. Resultados de TSH Immulite (ng / ml) en animales sanos y enfermos*
* Grupo 1: Sanos. Grupo 2: Hipotiroides no tratados. Grupo 3: Hipotiroides tratados. Grupo 4: Dermopatías. Grupo 5: Alteraciones del comportamiento. Grupo 6: Parasitosis.

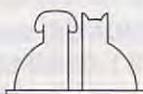
cia (Fig. 1). Así mismo, algunos animales del grupo 6 presentan también valores de TT_4 inferiores a los normales, al igual que uno de los perros incluidos en el Grupo 4.

Como puede verse en la Tabla II, los resultados de TT_4 presentan diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos; ahora bien, consideramos que las únicas que presentan interés desde el punto de vista clínico son aquellas que se establecen entre el grupo de perros hipotiroides no tratados (Grupo 2) y el resto, ya que éste es el único grupo que se sale mayoritariamente de la normalidad. La existencia de algunos individuos de los grupos 4 y 6 con valores de TT_4 por debajo de lo normal, viene a corroborar el hecho, repetidamente demostrado, de que niveles basales bajos de estas hormonas por sí solos no permiten diagnosticar un hipotiroidismo, ya que existen multitud de factores extratiroides, fisiológicos o no, que pueden inducir tales descensos^{3, 2}.

Por lo que respecta a la TSH, podemos decir

que los Grupos 2 (hipotiroides no tratados) y 3 (hipotiroides tratados) son los que registran los valores más altos cualquiera que sea el procedimiento utilizado para su evaluación (Tabla II). Si nos fijamos en las representaciones gráficas, cuando el análisis de TSH se realiza por los métodos de radioinmunoensayo (Fig. 2) o quimioluminiscencia (Fig. 4), todos los animales del Grupo 2 presentan valores claramente superiores a la normalidad; sin embargo, con el enzimonmunoensayo (Fig. 3), parte de los resultados de este grupo caen dentro del intervalo de normalidad. Indudablemente esta discrepancia es debida a la técnica analítica utilizada, ya que los resultados con enzimonmunoensayo son siempre ligeramente inferiores y presentan una mayor variabilidad. No obstante, estos resultados deben tomarse con precaución dado el escaso número de animales incluidos en este grupo ($n = 4$).

Los perros hipotiroides ya tratados (Grupo 3) presentan valores de TSH dentro del rango de normalidad o por encima del mismo cualquiera



que sea el procedimiento analítico empleado (Figs. 2-4). Esto podría explicarse porque no todos los animales incluidos en este grupo habían recibido tratamiento durante suficiente tiempo como para que se normalizaran sus valores de TSH o bien porque la TSH no recupera su normalidad pese al tratamiento del hipotiroidismo y por tanto no sería un parámetro de utilidad en el control de los perros hipotiroideos en tratamiento.

En los restantes grupos, la mayoría de los animales presentan valores dentro de la normalidad, aunque tanto en los perros sanos como en los del grupo 4 se observan algunos individuos con valores por encima del límite superior (Figs. 2-4). En ninguno de estos casos hemos tenido conocimiento de que se desarrollara posteriormente un cuadro de hipotiroidismo.

Nuestros resultados concuerdan con los publicados previamente por otros autores, observándose un cierto solapamiento entre los valores de TSH obtenidos en perros sanos, hipotiroideos y eutiroides con enfermedades extratiroideas^{5, 10, 8, 12}. Sin embargo, se considera que el ensayo de TSH es de ayuda en el diagnóstico y puede resultar de utilidad para la valoración de la función tiroidea en perro, sobre todo si se evalúa conjuntamente con TT4^{17, 9, 14}.

No obstante, consideramos que estos resultados constituyen tan sólo una evaluación inicial que demuestra la necesidad de profundizar más en estos estudios, incrementando el número de animales en cada grupo, antes de poder establecer conclusiones definitivas.

BIBLIOGRAFIA.

1. Feldman EC, Nelson RW. Canine and feline endocrinology, Saunders, Philadelphia, 1996: 68-117.
2. Ferguson DC. Update on the diagnosis of canine hypothyroidism. *Vet.Clin.North Am.: Small Anim Pract* 1994; 28: 515-540.
3. Ferguson DC, Peterson ME. Serum free and total iodothyronine concentrations in dogs with hyperadrenocorticism. *Am J Vet Res* 1992; 53: 1636-1640.
4. Heripret D. Diagnostic biologique de l'hypothyroïdie canine. *Prat Med Chir Anim Comp* 1997; 32: 31-42.
5. Jensen AL, Iversen L, Hoier R, Kristensen F, Henriksen P. Evaluation of an immunoradiometric assay for thyrotropin in serum and plasma samples of dogs with primary hypothyroidism. *J Com Pathol* 1996; 114: 339-346.
6. Marca MC, Loste A, Sanz MC, Saez T, Verde MT, Ramos JJ. Hipotiroidismo canino: Revisión y actualización de su diagnóstico. *Clin Vet Peq Anim* 1996; 16: 111-117.
7. Nelson RW. Use of baseline thyroid hormone concentrations for diagnosing canine hypothyroidism. *Can Pract* 1997; 22: 39-40.
8. Panciera DL. Thyroid-function testing: is the future here? *Vet Med* 1997; 50-57.
9. Peterosn ME, Melian C, Nichols R. Measurement of serum total thyroxine, triiodothyronine, free thyroxine and thyrotropin concentrations for diagnosis of hypothyroidism in dogs. *JAVMA* 1997; 211: 1396-1402.
10. Ramsey IK, Evans H, Herrtage ME. Thyroid stimulating hormone and total thyroxine concentrations in euthyroid, sick euthyroid and hypothyroid dogs. *J Small Anim Pract* 1997; 38: 540-545.
11. Ramsey IK, Herrtage M. Distinguishing normal, sick and hypothyroid dogs using total thyroxine and thyrotropin concentrations. *Can Pract* 1997; 22: 43-44.
12. Rodón J. Diagnóstico del hipotiroidismo canino. *Can et Fel* 1999; 38: 47-63.
13. Scott-Moncrieff JC. Serum canine thyrotropin concentrations in experimental and spontaneous canine hypothyroidism. *Can Pract* 1997; 22: 41-42.
14. Scott-Moncrieff JC, Nelson RW, Bruner JM, Williams DA. Comparison of serum concentrations of TSH in healthy dogs, hypothyroid dogs and euthyroid dogs with concurrent disease. *JAVMA* 1998; 213: 1435-1439.
15. Surks MI. American Thyroid Association Guidelines for use of laboratory tests in thyroid disorders. *JAVMA* 1990; 263: 1529-1532.
16. Tacker EL. Etiology of adult-onset canine autoimmune hypothyroidism. *Can Pract* 1997; 22: 12-13.
17. Williams DA, Scott-Moncrieff JC, Bruner J. Validation of an immunoassay for canine thyroid stimulating hormone and changes in serum concentration following induction of hypothyroidism in dogs. *JAVMA* 1996; 209: 1730-1732.

