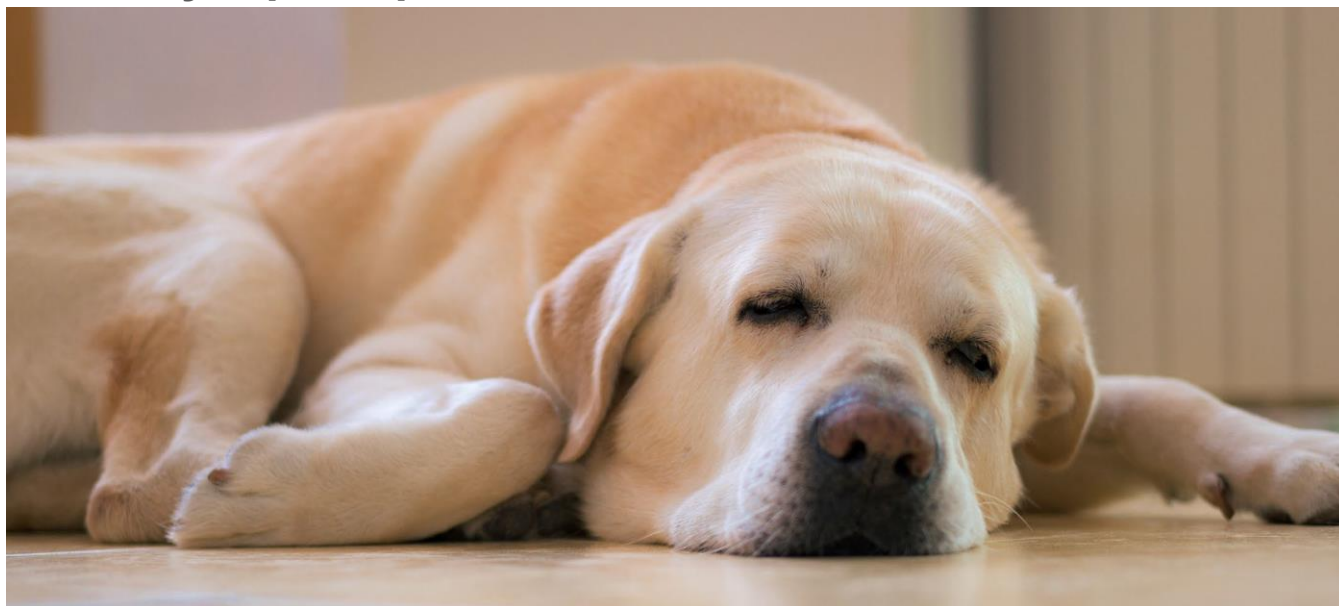


Hypotyreóza u psa: diagnostická presnosť vďaka moderným postupom – zamerané na rT3 a LC-MS/MS



Zdroj obrázka: envatoelements

Hypotyreóza u psov sa považuje za klasickú endokrinopatiu s typickými klinickými prejavmi. Napriek týmto zdanlivo jasným symptómom predstavuje jej správna diagnóza značnú výzvu. Početné retrospektívne štúdie ukázali, že až 70 % psov liečených levotyroxínom (L-tyroxínom) nemá hypotyreózu. Významný rozdiel medzi mierou diagnózy a skutočnou prevalenciou (odhadovanou na 0,07 – 0,23 %) zdôrazňuje potrebu diferencovanejšej diagnostiky. Netyreoidálne ochorenia (NTI), vplyv liekov a nesprávne interpretácie spôsobené vo vzťahu k použitej metóde sťažujú správne stanovenie diagnózy.

Nekritické nasadenie liečby L-tyroxínom so sebou nesie riziko prehliadnutia relevantných základných ochorení a zbytočného zvýšenia metabolického zaťaženia. Pri súčasnom srdcovom ochorení alebo neliečenom/nerozpoznanom hypoadrenokorticisme to môže viesť k dekompenzácii a je potenciálne smrteľné. V tejto diagnostickej šedej zóne ponúkajú nové prístupy ďalšie možnosti, ako je stanovenie reverzného T3 (rT3) a analýza relevantných parametrov pomocou kvapalinovej

chromatografie s následnou tandemovou hmotnostnou spektrometriou (LC-MS/MS).

Základy fyziológie a diagnostiky štítnej žľazy

Funkcia štítnej žľazy je regulovaná komplexnou súhrou osi hypotalamus-hypofýza-štítna žľaza. TRH z hypotalamu stimuluje sekréciu TSH v hypofýze, čo následne stimuluje štítnu žľazu k syntéze a sekrécii hormónov štítnej žľazy (predovšetkým tyroxínu (T4)). V sére je >99 % T4 viazaného na bielkoviny (= celkový T4). Bunky prijímajú iba voľnú frakciu (fT4). Tam sa fT4 prostredníctvom 5'-dejódiacie premieňa na hormón T3, ktorý pôsobí na bunkovej úrovni. Alternatívne môže dôjsť k tvorbe biologicky neaktívneho reverzného T3. To pravdepodobne slúži na bunkovú reguláciu a zabraňuje nadmernému zásobeniu aktívnym T3.

Diagnostická pasca: NTI a metodologické obmedzenia

V typických prípadoch je diagnóza hypotyreózy u psov založená na kombinácii vhodných anamnestických, klinických, hematologických a

biochemických nálezov s koncentráciou T4 pod referenčným rozmedzím a súčasne zvýšenou hladinou TSH. Táto situácia však nenastáva vo všetkých prípadoch podozrenia na hypotyreózu. Mnohé ochorenia vedú sekundárne k supresii koncentrácií hormónov štítnej žľazy bez akýchkoľvek funkčných a/alebo štrukturálnych zmien v štítnej žľaze. Tento eutyroidný obraz ochorenia („NTI“) je charakterizovaný nízkymi koncentraciami T4 a/alebo fT4 pri normálnom TSH. Interpretácia takýchto nálezov je bez ďalšej diagnostiky problematická.

Ďalšie problémy vyplývajú z nižších koncentrácií jódyronínu špecifických pre dané plemeno (napr. u chrtov a basenji), ako aj z interferencie viažucich proteínov alebo autoprotilátok (autoprotilátky proti tyreoglobulínu, T3 a T4) s bežne používanými imunologickými testovacími systémami. Rôzne lieky (napr. glukokortikoidy, fenobarbital, sulfónamidy) tiež ovplyvňujú parametre štítnej žľazy.

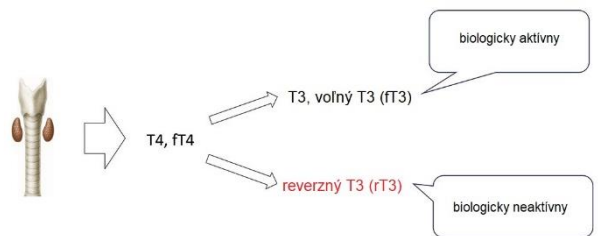
LC-MS/MS: možná nová referenčná metóda

LC-MS/MS sa etablovala ako vysoko presná analytická metóda. Na rozdiel od imunologických testovacích systémov umožňuje LC-MS/MS priamu a špecifickú kvantifikáciu T4, T3 a rT3 bez interferencie autoprotilátok alebo liekov. Vďaka tomu je obzvlášť cenná v diagnosticky náročných prípadoch. Zatiaľ čo napríklad imunologické testy môžu pod vplyvom autoprotilátok proti tyreoglobulínu poskytnúť falošne nízke alebo falošne vysoké výsledky, LC-MS/MS poskytuje spoľahlivý obraz skutočnej koncentrácie hormónov.

V Labokline bola v rámci dizertačnej práce zavedená a validovaná metóda na stanovenie T4, T3 a rT3 pomocou LC-MS/MS pre veterinárnu medicínu. Umožňuje vysoko špecifickú diagnostiku, najmä v nejasných prípadoch. Môže byť tiež spoľahlivou možnosťou na monitorovanie liečby alebo v prípadoch podozrenia na hypotyreózu napriek normálnej koncentrácii T4. Pri zaobchádzaní s parametrami T3 a T4 meranými pomocou LC-MS/MS je potrebné dodržiavať referenčné intervaly špecifické pre danú metódu. Tie sa líšia od hodnôt meraných inými metódami.

Reverzný T3 (rT3): diferenciácia medzi NTI a hypotyreózou

Reverzný T3 sa primárne produkuje, keď je nadmerná zásoba T4, alebo keď je potrebné znížiť jeho premenu na aktívny T3. Pri hypotyreóze nie je na premenu k dispozícii takmer žiadny T4 – preto je rT3 znížený. Naopak, NTI vedie k ne-zmeneným alebo zvýšeným koncentraciám rT3: je k dispozícii dostatok T4, ale zároveň je výrazne znížený dopyt po T3 (obr. 1).

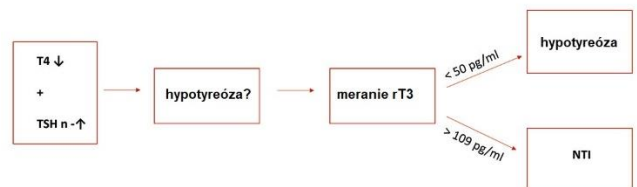


Obr. 1: Grafické zobrazenie metabolizmu fT4 v rámci cieľovej bunky na T3 a a rT3

Zdroj obrázka: J. von Luckner

Prvé štúdie potvrdzujú diagnostickú hodnotu tohto parametra:

rT3 < 50 pg/ml pri súčasne nízkej hladine T4 s vysokou pravdepodobnosťou svedčí o hypotyreóze
 rT3 > 109 pg/ml robí hypotyreózu veľmi nepravdepodobnou, aj keď je hladina T4 znížená (obr. 2).



Obr. 2: Diagnostický postup pre rT3

Zdroj obrázka: Niklas Wiesner

Indikácie

Tento parameter je obzvlášť cenný, ak je prítomná nízka koncentrácia T4 alebo fT4, ale nie je prítomná zvýšená koncentrácia TSH, ktorá by potvrdila podozrenie na hypotyreózu. To sa môže stať u 20 – 30 % pacientov s hypotyreózou, ale často to skôr naznačuje NTI.

Doterajšie skúsenosti s parametrom

Prvá multicentrická štúdia o rT3 bola predstavená v roku 2024 na medzinárodnom kongrese (ECVIM). V štúdiu bolo možné bezpečne rozlíšiť zdravé psy, psy s hypotyreózou a psy, ktorých nízke koncentrácie T4 boli vyvolané NTI. Cut-off hodnota 50 pg/ml bola identifikovaná ako vysoko špecifická pre prítomnosť hypotyreózy.

Koncentrácie nad 109 pg/ml neboli v súlade s hypotyreózou. Medzi týmito hodnotami existovala sivá zóna. Na stanovenie referenčného intervalu pre rT3 bola v Labokline vykonaná štúdia s väčšou študijnou populáciou klinicky zdravých, eutyroidných psov. Táto štúdia stanovila referenčný interval 109 – 533 pg/ml. Okrem vykonaných štúdií sú teraz k dispozícii aj veľmi cenné informácie z terénu.

V období od marca 2024 do júna 2025 bol parameter rT3 v Labokline vyžiadaný 3052-krát. Z toho v 1887 prípadoch ako samostatný parameter a v 1165 prípadoch v rámci profilu alebo ako doplnok k pôvodne stanoveným parametrom štítnej žľazy.

Zo 491 prípadov s koncentráciou rT3 < 50 pg/ml bol v našom laboratóriu meraný aj T4 v 289 prípadoch. 92 % vyšetrených psov malo koncentráciu T4 pod referenčným rozmedzím. To potvrdzuje úzky funkčný vzťah medzi reverzným trijódtyronínom a tyroxínom.

Len v 22 prípadoch (7,6 %) bola hladina T4 v referenčnom rozmedzí, keď bol rT3 < 50 pg/ml. Tento jav možno primárne vysvetliť citlivosťou rutinne používaných imunologických testov T4 (napr. Immulite 2000, Siemens, Nemecko). Falošne zvýšené merania T4 sú výsledkom autoprotilátok a nízkej kvality vzoriek (hemolytické/lipemické vzorky). Tieto rušivé faktory sú známe a môžu spôsobiť problémy pri interpretácii týchto výsledkov v rutinej diagnostike.

Reverzný T3 bol u 570 psov so súčasne nízkym T4 jasne v norme (> 109 pg/ml). Takýto výsledok nesvedčí o prítomnosti hypotyreózy, ale o NTI. Samozrejme, na základe jednotlivých meraní špecifických laboratórných parametrov nemožno definitívne usúdiť, že tieto psy skutočne netrpeli hypotyreózou, ale mali NTI. Vo všetkých prípadoch, ktoré sme mohli prebrať v osobných rozhovoroch s ošetrojúcimi veterinármi, sa však toto hodnotenie potvrdilo. Súčasné štúdie a klinické skúsenosti poukazujú na menšiu diagnostickú revolúciu. Zdá sa, že tento parameter spĺňa, čo sme si od neho sľubovali. Mal by sa považovať za ďalší nástroj v sade nástrojov „hypotyreózy“. rT3 nie je počiatkový skriningový parameter, ale skôr doplnok k existujúcemu profilu štítnej žľazy. Preto by sa mal interpretovať v kontexte klinického obrazu, ako aj iných hodnôt štítnej žľazy (obr. 3).

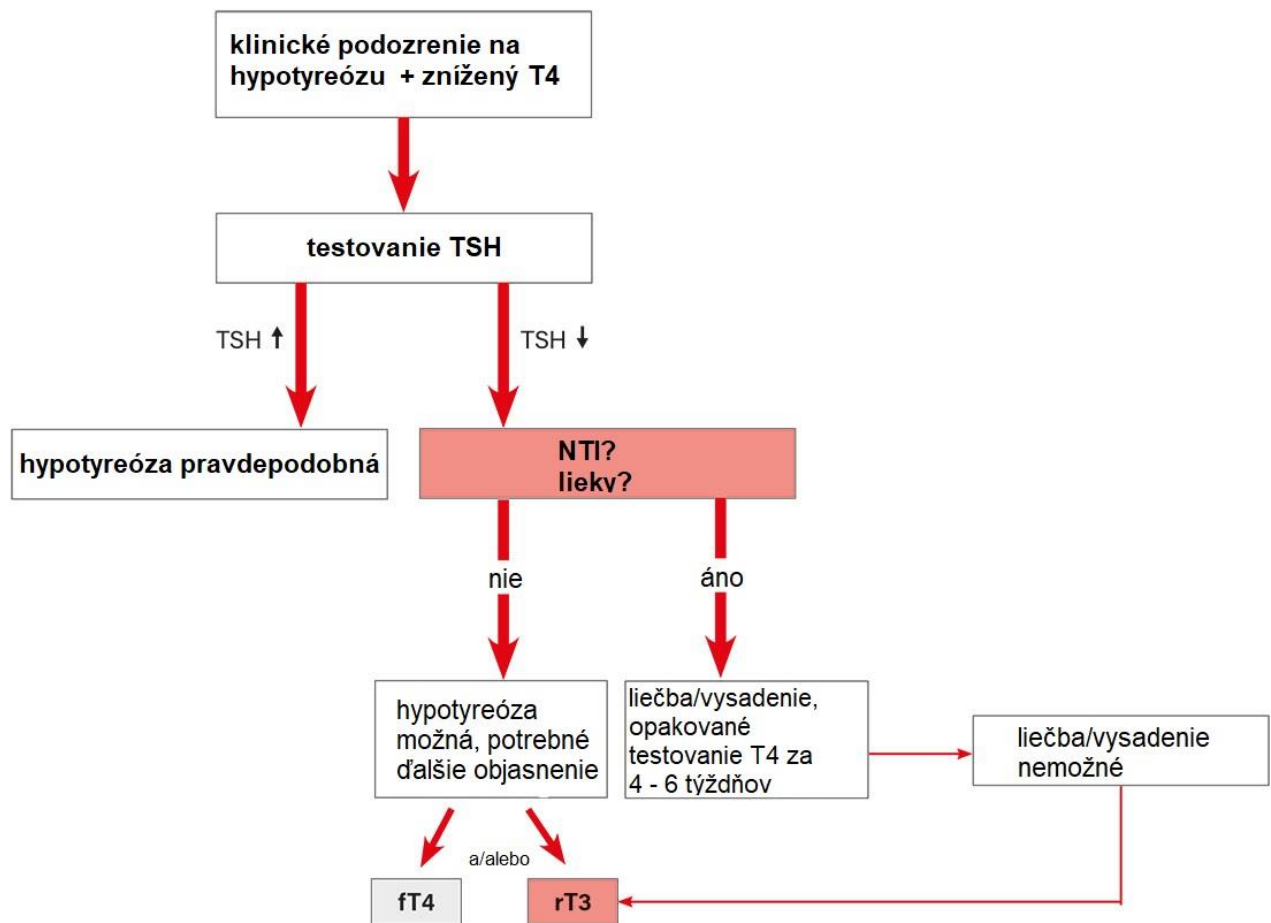
V rámci ďalšej diagnostiky je k dispozícii stanovenie autoprotilátok proti tyreoglobulínu, T3 a T4 prostredníctvom rozšírených profilov štítnej žľazy. Ďalšou možnosťou je meranie koncentrácie T3 a T4 pomocou kvapalinovej chromatografie s následnou tandemovou hmotnostnou spektrometriou (LC-MS/MS), ktorá nie je ovplyvnená rušivými faktormi (kvalita vzorky, autoprotilátky), čím je možné dosiahnuť špecifickejšie a presnejšie výsledky.

Zhrnutie

Presná diagnóza hypotyreózy u psov si vyžaduje viac než len sledovanie hladín T4 a TSH. Najmä v nejasných prípadoch poskytujú kľúčové informácie meranie rT3 a analýzy založené na LC-MS/MS.

Naše vyšetrenia týkajúce sa hypotyreózy

- T4, TSH, fT4
- T3, fT3
- rT3
- Štítina žľaza profil (T4, fT4, T3, fT3, TSH, ATG, T4-AK, T3-AK)
- Hypotyreóza/NTI profil (T4, fT4, reverzný T3, TSH)
- Štítina žľaza monitoring (T4, TSH, kreatinín, SDMA, ALT, AP, troponín I)
- Štítina žľaza hmotnostná spektrometria (T4, T3, rT3 merané HPLC-MS/MS)



Obr.3: Počiatočné objasňovanie zníženej koncentrácie T4 v krvi

Zdroj obrázka: J. von Luckner

Ďalšia literatúra

Giunti M, Troia R, Battilani M, Giardino L, Dondi F, Andreani G, Fracassi F. Retrospective evaluation of circulating thyroid hormones in critically ill dogs with systemic inflammatory response syndrome. *J Vet Sci.* 2017 Dec 31;18(4):471-477. doi: 10.4142/jvs.2017.18.4.471.

Graham PA, Mooney CT. Laboratory evaluation of hypothyroidism and hyperthyroidism. *BSAVA Manual Clinical Pathology* 2016: 233-252.

Kantrowitz LB, Peterson ME, Melián C, Nichols R. Serum total thyroxine, total triiodothyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations in dogs with nonthyroidal disease. *J Am Vet Med Assoc.* 2001 Sep 15;219(6):765-9. doi: 10.2460/javma.2001.219.765.

Rus J, Schwens C, Glos K, Meindl C, Ritz S, Müller D, Müller R. Measurement of reverse triiodothyronine concentration in healthy dogs, dogs with

hypothyroidism and nonthyroidal illness syndrome. *J Vet Intern Med.* 2024; 38 (6): 3537 – 3694.