

6. Zusammenfassung

Der Wert der ACTH-Bestimmung im Rahmen der Diagnostik von Erkrankungen unter Beteiligung der Hypophysen-Nebennieren-Achse wird noch kontrovers diskutiert. Einerseits wird von pulsatiler Sekretion und einer niedrigen Plasmahalbwertszeit berichtet, andererseits werden unterschiedliche, meist heterologe Nachweismethoden mit unterschiedlicher Spezifität für canines ACTH verwandt.

Die vorliegende Untersuchung hatte daher folgende Aufgabenstellung:

- ▶ Validierung einer ACTH-Bestimmungsmethode für canines Blutplasma
- ▶ Stabilisierung des instabilen Plasma-ACTH für den Probentransport bei Raumtemperatur
- ▶ Ermittlung von ACTH-Konzentrationen und deren Schwankungsbreite bei endokrinologisch gesunden Hunden in Relation zu deren Alter und Kortisolwerten
- ▶ Erfassung und Beurteilung der ACTH-Konzentrationen im Verlauf von Dexamethason-Low-Dose Hemmtesten sowie ACTH- und TRH-Stimulationstesten.
- ▶ Erfassung und Beurteilung der ACTH-Konzentrationen bei Tieren mit Störungen der Hypophysen-Schilddrüsen/Nebennieren-Achse

Die Konzentrationsbestimmung erfolgte in einem Analysenautomaten mittels Chemilumineszenzimmunoassay.

Zur *Ermittlung von Normwerten* wurden von vier Hunden über einen Zeitraum von zwei Stunden in Abständen von zwei Minuten mittels Jugularkatheter Blutproben entnommen. Die ACTH-Konzentrationen lagen im Mittel bei 9 pg/ml mit einer Schwankungsbreite von <5 bis 90 pg/ml. Ein Drittel lagen der Werte unter der Nachweisgrenze. Trotz des schlafähnlichen Zustandes traten bei einigen Tieren binnen zwei Minuten Konzentrationsänderungen um ein 15faches auf.

Die *Stabilität von ACTH im Plasma* wurde an 40 Hunden geprüft. Dazu wurden Blutproben bei Raumtemperatur in EDTA-Polypropylenröhrchen mit und ohne Zusatz des Stabilisators Aprotinin entnommen und binnen 15 Minuten zentrifugiert. Die auf diese Weise gewonnenen Proben wurden bei -22, +6 und 20°C für 24 Stunden gelagert. Es wurde gezeigt, daß sowohl Lagertemperatur als auch Aprotininzugabe die ACTH-Konzentration beeinflussen. Von praktischer Bedeutung ist die Erhöhung der ACTH-Stabilität durch Aprotinin bei einer

Temperatur von 20°C, welche eine Vereinfachung der Probenentnahme und -behandlung sowie des Transportes zuläßt.

Im Rahmen der vorliegenden *Altersstudie* war keine signifikante Abhängigkeit der ACTH-Konzentration vom Alter feststellbar.

In der *klinischen Studie* wurden 141 Patientenhunde mit Verdacht einer endokrinen Erkrankung untersucht. Dabei sollte geklärt werden, inwieweit die zusätzliche ACTH-Bestimmung in etablierten Funktionstests bei der Diagnosestellung des Hyperadrenokortizismus, Hypoadrenokortizismus, Hypothyreose und bei der Therapiekontrolle von „Mitotanepatienten“ hilfreich sein kann.

Dexamethason-Hemmtest: Bei gesunden Hunden wurde die ACTH-Sekretion durch Dexamethasongabe gehemmt. Die ACTH-Suppression war undeutlicher als die des Kortisols und nicht von der der Cushingpatienten zu unterscheiden. Ebenso unterschieden sich die ACTH-Basalwerte der gesunden und kranken Tiere nicht voneinander. Bei einem Patienten mit einem Makrotumor der Hypophyse wurden deutlich erhöhte ACTH-Werte bei fehlender Suppression beobachtet. Bei den an Diabetes mellitus-, Endometritis- und/oder Mammaadenom erkrankten Tieren kann die ACTH-Suppression ebensowenig zur Diagnose wie zum Ausschluß eines Hyperadrenokortizismus herangezogen werden.

ACTH-Stimulationstest: Sowohl beim *primären idiopathischen* als auch beim *iatrogenen durch Mitotaneüberdosierung verursachten Hypoadrenokortizismus* liegen die ACTH-Konzentrationen (171 pg/ml bis >1250 pg/ml) über denen gesunder Hunde. Bei klinischem Verdacht auf eine Nebennierenrindeninsuffizienz mit Hyperkaliämie kann von einer primären Addison-Krankheit ausgegangen werden. Die iatrogene Nebennierenrindeninsuffizienz verläuft selten mit Störungen im Natrium/Kalium-Haushalt. Bei beiden Formen ist eine einmalige ACTH-Bestimmung ausreichend für eine Diagnose. Anamnestisch muß eine vorausgegangene Glukokortikoidsstitution ausgeschlossen werden. Bei Verdacht auf einen sekundären oder primär-atypischen Hypoadrenokortizismus und bei ungeklärter Vorbehandlung ist die fehlende Kortisolstimulation im ACTH-Test beweisend.

Bei den unter Mitotane stehenden Cushingpatienten mit einem *befriedigenden klinischen Verlauf* wurden mittlere ACTH-Konzentrationen von 47 pg/ml vor und 40 pg/ml nach der ACTH-Injektion ermittelt, die deutlich über dem mittleren Normwert 8,9 pg/ml gesunder Hunde lagen. Bei den Patienten mit einem *unbefriedigenden klinischen Verlauf* waren die

ACTH-Konzentrationen mit durchschnittlich 18 pg/ml niedriger. Eine erfolgreiche Mitotanetherapie schließt daher einen Anstieg der ACTH-Konzentration bis auf <170 pg/ml ein. Auffallend war der große Kortisolkonzentrationsbereich, der sowohl Werte unter- als auch weit oberhalb des Bereiches gesunder Hunde umfaßte. Der durchschnittliche Kortisolkonzentrationsanstieg nach ACTH-Gabe belief sich auf das Dreifache bei den Tieren mit erwünschtem klinischem Verlauf und auf das 4½fache bei den Tieren mit unzureichender klinischer Verbesserung.

TRH-Stimulationstest: Bei sieben von neun gesunden Tieren war 20 Minuten post applicationem ein Anstieg der ACTH-Konzentration zu verzeichnen. Bei hypothyreoten Hunden war die durchschnittliche Stimulation von ACTH nach 20 Minuten nicht signifikant. Da aber auch in dieser Gruppe einzelne Tiere einen deutlichen Anstieg der ACTH-Konzentration zeigten, ist die ACTH-Bestimmung innerhalb dieses Testverfahrens zur Diagnosestellung einer Hypothyreose ungeeignet.

7. Summary

Annett Rotermund (2000)

The value of corticotropin in the diagnosis of endocrinopathies of the dog

The diagnostic value of ACTH measurements is still considered a controversial issue when dealing with diseases involving the pituitary-adrenal axis. This is partly due to the pulsatile nature of ACTH release and its short plasma half life, but also the reported use of mostly heterologous immunoassay systems with variable specificity for canine ACTH results in ACTH concentrations which are often difficult to compare. Therefore the aim of the present study was:

- ▶ Validation of an ACTH assay system for canine ACTH
- ▶ Stabilising plasma ACTH for transport at room temperature
- ▶ Establishing normal values for ACTH in healthy dogs with respect to age and adrenal function
- ▶ Evaluating ACTH patterns during TRH- and ACTH stimulation and dexamethasone suppression tests
- ▶ Evaluating ACTH patterns in dogs with diseases affecting the function of the pituitary thyroid/adrenal axis

ACTH was measured using an automated chemiluminescence immunoassay system.

Normal values were established in 4 dogs which had blood samples collected via jugular catheter every 2 minutes for 2 hours. Mean ACTH concentration was 9 pg/ml with a range from <5 to 90 pg/ml. One third of the values were below the detection limit. Sudden up to 15 fold concentration changes was observed in spite of the animals being asleep during part of the experiment.

The stability of ACTH was studied in 40 animals, blood samples of which were collected into EDTA coated polypropylene tubes at room temperature, with and without the stabiliser Aprotinin, and centrifuged within 15 min at ambient temperature. Plasma samples were then stored at -22°, +6°, and +20°C for 24 hours. The results indicate that adding Aprotinin and/or

lowering the temperature improves ACTH stability. As a practical consequence shipping samples at ambient temperature seems feasible under the protection of Aprotinin.

In our data no significant relationship between ACTH and age of the animals could be demonstrated.

In the clinical study 141 animals with suspected endocrine-related disorders were included. Aim of this study was to elucidate the potential of ACTH measurements in the diagnosis of hypoadrenocorticism, hyperadrenocorticism, and hypothyroidism, and in the management of Cushing patients under mitotane therapy.

Dexamethasone suppression test: ACTH secretion is suppressed in healthy dogs, but not as completely as cortisol secretion. Neither basal ACTH values nor concentrations after dexamethasone differed between healthy dogs and Cushing patients, with the exemption of one patient with a tumour of the pituitary. A similar situation is observed in patients with diabetes mellitus, endometritis, or mammary adenoma, thus rendering ACTH assays useless for excluding hyperadrenocorticism in these patients.

ACTH stimulation test: Patients with primary idiopathic hypoadrenocorticism or with iatrogenic mitotane mediated hypoadrenocorticism had clearly elevated ACTH levels (range 171 to >1250 pg/ml). Patients with appropriate clinical signs and elevated potassium levels are suspected to have primary hypoadrenocorticism. In contrast, the iatrogen form of adrenal insufficiency is rarely associated with altered sodium/potassium ratios. Both syndromes are confirmed through ACTH measurement; however glucocorticoid pre-treatment has to be excluded. The lack of stimulation by ACTH of cortisol levels is indicative of secondary hypoadrenocorticism or atypical primary forms of the disease, even when there is suspected pre-treatment with glucocorticoids.

Patients under mitotane therapy *with improved clinical symptoms* have clearly elevated ACTH levels (mean = 47 pg/ml as compared to 9 pg/ml in controls). Patients *with no improvement under mitotane* had lower ACTH (mean = 18 pg/ml). Therefore successful mitotane therapy is associated with elevated ACTH concentrations (>20 to 171 pg/ml). Interestingly cortisol values varied widely in these patients from below to well above the normal range, whilst ACTH stimulation resulted in a 3 fold cortisol increase in patients *with improved clinical symptoms* as compared to a 4.5 fold increase in patients *with no improvement under mitotane*.

TRH stimulation test: Seven out of 9 healthy dogs had an ACTH increase 20 min after TRH, whilst in hypothyroid dogs the ACTH increase at this time point was insignificant. Due to a large overlap in results ACTH data appear to be of little value in the diagnosis of hypothyroidism.