



Albert-Heim Stiftung
z.Hd.: Dr. Andrea Meisser

**Profs. Drs. Felicitas Boretti und
Nadja Sieber-Ruckstuhl**
Leiterinnen der Endokrinologie
Telefon +41 44 635 83 01
Telefax +41 44 635 89 30
nsieber@vetclinics.uzh.ch
fboretti@vetclinics.uzh.ch

Zürich, 28. Februar 2023

Antrag um finanzielle Unterstützung eines wissenschaftlichen Projektes

Sehr geehrter Herr Dr. Meisser, sehr geehrte Damen und Herren des Stiftungsrats der Albert-Heim-Stiftung

Mit diesem Brief möchten wir uns um eine Forschungsförderung durch Ihre Stiftung bewerben. Frau Boretti und ich leiten in der Klinik für Kleintiere an der Universität Zürich gemeinsam die Endokrinologie (Jobsharing), weshalb wir dieses Gesuch zu zweit einreichen.

Seit vielen Jahren forschen wir auf dem Gebiet der Nebennierenerkrankungen und beschäftigen uns insbesondere mit deren Therapieüberwachung und Therapieoptimierung. In den letzten Jahren hat die Einführung des langwirksamen Mineralokortikoid (DOCP; Zycortal®), das nur einmal im Monat gespritzt werden muss, zu einer markanten Verbesserung der Therapie des primären Hypoadrenokortizismus (Morbus Addison, Unterfunktion der Nebennieren) geführt. Durch die gleichzeitige Gabe von synthetischen Glukokortikoiden (z.B. Prednisolon) kommt es innert kürzester Zeit zur Verbesserung oder sogar zum Verschwinden der klinischen Symptome (Leistungsschwäche, Apathie, reduzierter Appetit, Erbrechen, Durchfall). Interessant ist jedoch, dass wir in unserer Hormonsprechstunde, in der wir die Besitzer bei der Therapie der Hunde mit Addison begleiten, vermehrt folgende Rückmeldung bekommen haben: trotz sonst gutem Allgemeinbefinden seit Therapiestart, scheinen sich die Verhaltensänderungen, die die Besitzer seit der Erkrankung beobachtet haben, nicht zu verbessern. Insbesondere beschrieben wurden eine gesteigerte Ängstlichkeit und ausgeprägte Anhänglichkeit, die im Verlauf der Jahre sogar eher progressiv sind. Bei Frauen mit einer Unterfunktion der Nebennieren ist bekannt, dass es ausser einem Mangel an Glukokortikoiden und Mineralkortikoiden auch zu einem Fehlen an Androgenen kommt. Da Androgene, also männliche Geschlechtshormone, bei Frauen in der Nebenniere gebildet werden, ist dies nicht sonderlich erstaunlich. Dieser Mangel beeinflusst die neuronale Funktion und hat Auswirkungen auf Bewusstsein, Gedächtnis, Angst und Stimmung. Es konnte gezeigt werden, dass



eine Androgen-Supplementierung das allgemeine Wohlbefinden, die Depressions- und Angstwerte, sowie das sexuelle Interesse und die Zufriedenheit der Patientinnen zu verbessern vermag. Sogar bei männlichen Patienten mit einer Unterfunktion der Nebennieren wurde ein psychologischer Nutzen einer Androgen-Behandlung beobachtet. Naheliegender wäre daher, dass ein ähnliches Phänomen auch beim Hund vorliegt, was zu den von den Hundebesitzern beschriebenen Verhaltensänderungen führt. Über Androgenkonzentrationen bei Hunden mit Addison ist bisher jedoch nichts bekannt.

Ziele unseres geplanten Projekts sind daher folgende:

Untersuchung der Konzentrationen der verschiedenen Androgenen (Dehydroepiandrosteron (DHEA), DHEA-Sulfat und Androstendion) bei Hunden mit Addison vor und während der Standardtherapie mit Zycortal und Prednisolon. Ausserdem sollen diese Werte mit denen von gesunden Hunden, die wir ebenfalls einschliessen, verglichen werden. Zu guter Letzt, wollen wir den Einfluss einer Androgen (DHEA)-Supplementierung bei Hunden mit Addison auf ihr Verhalten (Lernfähigkeit, Stimmung, Angst, Anhänglichkeit und Selbstsicherheit) untersuchen.

Durch neuere Analysemethoden mittels Massenspektrometrie, sind speziesübergreifende Analysen problemlos möglich, da im Gegensatz zu immunologischen Messmethoden (ELISA, Radio-Immuno-Assay) keine Speziesabhängigkeit durch die Verwendung von Antikörpern besteht. Da wir eine Zusammenarbeit mit der Universität Bern (Zentrum für Labormedizin, Inselspital Bern) planen, sind die Kosten für die Analysen deutlich unter dem üblichen Marktpreis und daher erschwinglich. Diese Zusammenarbeit ist ausserdem gut etabliert und hat in früheren Projekten bereits zu einer Publikation geführt (Meunier et al. 2021); eine zweite ist in Vorbereitung (beide unterstützt von der Albert-Heim-Stiftung).

Wir sind uns bewusst, dass die Albert-Heim-Stiftung bereits ein Projekt von uns zu Erkrankungen der Nebennieren unterstützt, das bereits zu einem Erkenntnisgewinn in der Hundemedizin (siehe Publikation oben) geführt hat und noch weiter führen wird. Es ist immer sehr schwierig, finanzielle Unterstützung für klinisch-relevante, praxisbezogene, aber nicht auf Grundlagenforschung-basierte Studien zu bekommen. Daher würden wir es sehr schätzen und uns freuen, wenn wir das vorliegende Projekt dank Ihrer Hilfe durchführen könnten. Die Resultate können vielversprechend sein, da sie eine grosse Auswirkung auf den Alltag und die Verbesserung der Lebensqualität von Hunden mit Addison und deren Besitzer haben würden.

Für Fragen oder weitere Informationen stehen wir Ihnen gerne zur Verfügung.

Mit freundlichen Grüssen

Felicitas Boretti

Nadja Sieber-Ruckstuhl



Beilagen:

- Antrag auf Forschungsförderung inkl. Kostenzusammenstellung
- Lebensläufe der beiden Antragsstellerinnen
- Tierversuchsbewilligung

Die Bedeutung von Androgenen und ihr Einfluss auf das Verhalten von Hunden mit primärer Unterfunktion der Nebennieren (Morbus Addison)

Prof. Dr. med. vet. Felicitas Boretti und Prof. Dr. med. vet. Nadja Sieber-Ruckstuhl, Klinik für Kleintiermedizin, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich

Antragsteller

Prof. Drs. F. Boretti und N. Sieber-Ruckstuhl wirken beide als Hauptantragsteller, da sie gemeinsam im Jobsharing Leiterinnen der Endokrinologie an der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich sind.

In Zusammenarbeit mit:

Dr. med. vet. Maya Bräm, Tierärztin FA Verhaltensmedizin GST, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich

Dr. sc. nat. Clarissa Voegel, Zentrum für Labormedizin, Universität Bern, Inselspital Bern

1. Stand der Forschung

Die Nebennieren sind wichtige hormon-produzierende Drüsen im Körper. In der Nebennierenrinde werden lebensnotwendige Hormone wie die Glukokortikoide (z.B. Kortisol), und die Mineralokortikoide (z.B. Aldosteron) gebildet. Ausserdem produziert die Nebennierenrinde auch Androgene, also männliche Sexualhormone (z.B. Dehydroepiandrosteron (DHEA), Androstendion, Testosteron) (Abbildung 1).

Hunde mit primärem Hypoadrenokortizismus (pHA; Morbus Addison) leiden an einer immunvermittelten Zerstörung der Nebennierenrinde, was zu einem schweren Hormonmangel und entsprechenden klinischen Symptomen (z.B. Leistungsschwäche, Apathie, reduzierter Appetit, Erbrechen, Durchfall) führt. Die Behandlung vom pHA besteht in einem lebenslangen Hormonersatz. Glukokortikoide werden durch Prednisolon oder Hydrocortison ersetzt, welche täglich oral verabreicht werden. Mineralokortikoide werden durch Deoxycorticosteronpivalat (DOCP) ersetzt, ein unter die Haut verabreichtes, lang-wirksames Mineralokortikoid. Androgene werden beim Hund bis zum heutigen Zeitpunkt nicht supplementiert.

Da bei weiblichen Organismen die Androgenproduktion hauptsächlich von den Nebennieren geleistet wird, hat sich gezeigt, dass Frauen mit einer Nebennierenunterfunktion an einem schwerem Androgenmangel leiden.¹ Dies scheint die neuronale Funktion zu beeinflussen und Auswirkungen auf Bewusstsein, Gedächtnis, Angst, Depressionszustände und Stimmung zu haben.²⁻⁶ Beim Menschen mit Nebennierenunterfunktion scheint eine Androgen-Supplementierung, zusätzlich zur Glukokortikoid- und Mineralokortikoidgabe, das allgemeine Wohlbefinden, die Depressions- und Angstwerte, sowie das sexuelle Interesse und die Zufriedenheit zu verbessern.^{5,6,7-11} Sogar bei männlichen Patienten wurde ein psychologischer Nutzen einer Androgen-Behandlung beobachtet.⁶ Weiter ist bekannt, dass es bei gesunden Menschen unabhängig vom Geschlecht zu einem altersabhängigen Abfall der zirkulierenden Androgenkonzentrationen kommt.^{12,13} Dieser Abfall des Androgenspiegels wird teilweise mit einigen katabolen und neurodegenerativen Prozessen im Alter (e.g. Osteoporose, erhöhtes Krebsrisiko, erhöhte kardiovaskuläre Mortalität) in Zusammenhang gebracht.^{12,14-20} So scheint eine Androgen-Supplementierung bei älteren Personen zu einer Verbesserung des psychologischen Wohlbefindens, zu einer Erhöhung der fettfreien Körpermasse, zu einer Erhöhung der mineralischen Knochendichte und zu einer Verringerung der Insulinresistenz zu führen und ausserdem einen antidepressiven Effekt zu haben.²¹⁻²⁸

Wie bereits einleitend erwähnt, ist Dehydroepiandrosteron (DHEA) ein von den Nebennieren natürlich produziertes Androgen und gilt als Vorläufer von Testosteron, das weitaus bekanntere Sexualhormon. Bei den meisten, oben erwähnten Untersuchungen zur Supplementierung mit Androgenen wurde DHEA eingesetzt, nicht zuletzt deshalb, da es in der Humanmedizin als Nahrungsergänzungsmittel gilt und daher nicht verschreibungspflichtig ist. DHEA gilt im Allgemeinen als sicher, wenn es in der empfohlenen Dosierung eingenommen wird, und Nebenwirkungen werden in der Regel nur selten beobachtet. Einige Personen haben über Akne, Haarausfall und leichte Magenbeschwerden berichtet, diese waren jedoch nur mild und vor allem auch nur vorübergehend, so dass ein Absetzen nicht nötig war.⁶

Bei Hunden mit pHA ist die Androgenproduktion bis jetzt noch nicht untersucht worden. In unserer Hormonsprechstunde, in der wir viele Besitzer mit Hunden mit pHA bei der Therapie begleiten, wird uns aber oft berichtet, dass die Hunde seit der Diagnosestellung eine deutlich erhöhte Ängstlichkeit zeigen und auch auffällig anhänglich geworden sind. Obwohl während der Standard-Therapie mit Glukokortikoiden und Mineralokortikoiden die Leistungsfähigkeit wiederhergestellt wird und sich auch die anderen Symptome der Krankheit normalisieren, scheinen die beschriebenen Verhaltensänderungen während der Therapie unverändert bestehen zu bleiben oder sogar progressiv zu sein.

2. Stand der eigenen Forschung

Frau Boretti und Frau Sieber-Ruckstuhl forschen schon seit vielen Jahren auf dem Gebiet der Nebennierenerkrankungen (s. mitgelieferte CVs und Publikationsliste). Die beiden Antragsstellerinnen beschäftigen sich insbesondere mit der Therapieüberwachung und der Therapieoptimierung bei Nierennierenunter- und -überfunktion, haben bereits zahlreiche Publikationen zu diesen Themen veröffentlicht und gehören nicht nur national, sondern auch international zu den Meinungsführern auf diesem Gebiet.

In den letzten Jahren hat insbesondere die Einführung des langwirksamen, parenteral-verabreichten Mineralokortikoids (Deoxycorticosteronpivalat (DOCP); Zycortal©) zu einer markanten Verbesserung der Therapie des pHA geführt. Dabei konnten die Autorinnen zeigen, dass das jetzige parenterale Mineralokortikoid dem oralen Präparat (Fludrocortison) in seiner Wirksamkeit stark überlegen ist. In der Humanmedizin besteht die Standardüberwachung von Patienten mit pHA in der Messung der Serumelektrolytkonzentrationen (Natrium und Kalium), des Blutdrucks und der Plasmareninaktivität (PRA). Die Bestimmung der PRA zur Kontrolle der

Mineralokortikoidbehandlung gilt seit 1992 als Goldstandard.²⁹ Die PRA ist vor der Behandlung erhöht, sinkt während der Behandlung und korreliert umgekehrt mit der Mineralokortikoiddosis (Oelkers et al 1992). Für eine optimale Behandlungskontrolle sollte die PRA innerhalb des Referenzbereichs von gesunden Menschen liegen.²⁹ In unseren Untersuchungen konnten wir zeigen, dass auch Hunde, die mit Fludrocortison behandelt wurden, während der Mineralokortikoid-Supplementierung noch immer eine erhöhte Renin-Aktivität aufweisen, was auf eine schlechte Wirksamkeit der Therapie hindeutet. Interessant war jedoch, dass die Renin-Aktivität bei der Therapie mit DOCP deutlich besser unterdrückt war, also die Therapieeinstellung deutlich besser ist mit DOCP.³⁰ Weiter konnten die Autorinnen zeigen, dass Hunde oft mit einer viel tieferen Dosis von DOCP stabilisiert werden können als ursprünglich angenommen und vom Hersteller empfohlen wird.³¹

Da die Autorinnen in ihrer Hormonsprechstunde viele Hunde mit pHA und deren Besitzer betreuen, ist ihnen aufgefallen, dass viele Hundebesitzer von einer erhöhten Ängstlichkeit und Anhänglichkeit der Hunde seit der Erkrankung berichten. Daher erscheint die Evaluation der Androgene, welche als männliche Geschlechtshormone einen bekannten Einfluss auf Bewusstsein, Angst und Wahrnehmung haben, als sehr wichtig und klinisch relevant.

3. Ziele und Hypothesen des vorliegenden Projekts

Ziele:

- Untersuchung der Androgenkonzentrationen im Blutplasma (DHEA, DHEAS und Androstendion) bei Hunden mit pHA vor und während der Standardtherapie für pHA.
- Vergleich der Androgenkonzentrationen (DHEA, DHEAS und Androstendion) von Hunden mit pHA (vor und während der Therapie) mit denen von gesunden Hunden.
- Untersuchung des Einflusses der Androgen (DHEA)-Supplementierung bei Hunden mit pHA während der Standardtherapie (Prednisolon und Zycortal) auf die Lernfähigkeit, Stimmung, Angst und Anhänglichkeit des Hundes.

Hypothesen:

- Hunde mit pHA haben signifikant niedrigere Konzentrationen von DHEA, DHEAS und Androstendion (Metabolit von DHEA(S)) als gesunde Hunde.
- Die Supplementierung von DHEA bei Hunden mit pHA wirkt sich positiv auf das Verhalten, die Stimmung, die Ängstlichkeit und die Anhänglichkeit des Hundes aus.

4. Aufbau des geplanten Projekts

Das Projekt besteht aus 2 klinischen Teilprojekten.

4.1. Klinischer Teil 1 (zeitliche Abfolge s. Abbildung 2)

Es werden Blutproben von gesunden Hunden, Hunden mit pHA vor Therapie und von Hunden mit pHA während der Standardtherapie (DOCP und Prednisolon) gesammelt. Die Androgenkonzentrationen der Hunde mit pHA werden mit denen der gesunden Hunde verglichen. Anhand der Androgenkonzentrationen der gesunden Hunde werden Referenzwerte etabliert.

Die Androgenmessungen mittels Massenspektrometrie werden im Steroidlabor des Inselspitals Bern (Dr. sc. nat. Clarissa Voegel, Universität Bern) durchgeführt. Diese Zusammenarbeit ist bereits etabliert und hat in früheren Projekten bereits zu einer Publikation geführt (Meunier et al. 2021), eine zweite ist in Vorbereitung.

4.2. Klinischer Teil 2 (zeitliche Abfolge siehe Abbildung 3)

Randomisierte Doppelblindstudie im cross-over Verfahren mit 38 Hunden mit pHA unterteilt in 2 Gruppen (Anzahl benötigter Tiere wurde mit einer Power-Analyse, G*Power, Version 3.1.9.6. berechnet). Die etablierte Standard-pHA Therapie (DOCP und Prednisolon) wird bei allen Hunden über den gesamten Untersuchungszeitraum fortgeführt.

Gruppe 1: 24 Wochen Supplementierung mit DHEA. 4-wöchige Auswaschphase. Dann 24 Wochen Behandlung mit Placebo. Standardisierte, regelmäßige Nachuntersuchungen in der Klinik nach 2, 4, 8, 12, 18 und 24 Wochen.

Gruppe 2: 24 Wochen Behandlung mit Placebo. 4-wöchige Auswaschphase. Dann 24 Wochen Supplementierung mit DHEA. Standardisierte, regelmäßige Nachuntersuchungen in der Klinik nach 2, 4, 8, 12, 18 und 24 Wochen.

Beide Gruppen: Ausfüllen eines Fragebogens zum Verhalten der Hunde durch die Besitzer, jeweils vor Beginn und am Ende der DHEA- und der Placebo-Therapie.

Ein standardisierter Fragebogen zum Verhalten der Hunde wird in Zusammenarbeit mit der diplomierten Verhaltenstherapeutin, Dr. M. Bräm, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich, erstellt und ausgewertet.

Geplante Analysen:

Vergleich der DHEA, DHEAS und Androstendion Konzentrationen im Serum vor und während der DHEA- und Placebo-Behandlung.

Auswertung des Fragebogens und Vergleich der Werte vor und unter der DHEA- und Placebo-Therapie.

5. Zeitplan des gesamten Projekts

- Klinischer Teil 1: Probenasservierung ab sofort. Erste Analysen Ende 2023.
- Klinischer Teil 2: Start 1. Oder 2. Quartal 2024. Dauer Teil 2 ca. 2 Jahre.
→ Projektabschluss: ca. Ende 2026
- Eine Tierversuchsbewilligung (TVB ZH 203/2022, Schweregrad 0) zur Durchführung des Projekts liegt bereits vor (siehe unten und Anhang)

6. Zusammenstellung der Kosten (klinische Teile 1 + 2)

Dienstleistung	Genauere Angaben	CHF
Androgen Bestimmungen Inselspital Bern, Universität Bern (50 CHF pro Probe)	Teil I: Referenzwerte etablieren (120x)	6'000
	Teil I: Hund zum Zeitpunkt der Diagnose (30x); während der Standardtherapie (70x)	5'000
	Teil II: Wochen 0, 8, 24; je 38 Hunde pro Gruppe (228x)	11'400
Total		22'400

7. Bedeutung der Resultate und Perspektiven für die Zukunft

Aus der Humanmedizin ist bekannt, dass vor allem weibliche Patienten mit pHA an einem starken Androgenmangel leiden.¹ Dies beeinflusst die neuronale Funktion und hat Auswirkungen auf Bewusstsein, Gedächtnis, Angst und Stimmung.²⁻⁶ Eine Androgen-Supplementierung scheint das allgemeine Wohlbefinden, die Depressions- und Angstwerte, sowie das sexuelle Interesse und die Zufriedenheit zu verbessern.⁵⁻¹¹ Sogar bei männlichen Patienten mit pHA wurde ein psychologischer Nutzen einer Androgen-Behandlung beobachtet.⁶ DHEA, ein Vorläuferhormon von Testosteron, gilt in der Humanmedizin als Nahrungsergänzungsmittel und ist somit nicht verschreibungspflichtig. Daher ist es das Hormon, das am häufigsten zur Verbesserung der allgemeinen Gesundheit und des Wohlbefindens eingesetzt wird.

Über Androgenkonzentrationen bei Hunden mit pHA ist nichts bekannt. Allerdings berichten uns Besitzer mit Hunden mit pHA in unserer Hormonsprechstunde häufig von gesteigerter Ängstlichkeit und Anhänglichkeit ihrer Hunde, seit die Diagnose pHA gestellt wurde. Ob es einen Zusammenhang zwischen der gesteigerten Ängstlichkeit und einer verringerten Androgenkonzentrationen geben könnte, wurde bis jetzt noch nicht untersucht.

Diese Studie wird neue Erkenntnisse über die Androgenkonzentrationen bei Hunden mit pHA liefern. Zudem werden wir untersuchen, ob auch Hunde mit pHA von einer Androgen-Supplementierung profitieren könnten. Die erzielten Ergebnisse können die Therapie dieser Krankheit verbessern und damit die Lebensqualität vieler Hunde mit pHA und deren Besitzer nachhaltig beeinflussen.

8. Zusammenfassung des Forschungsprojekts

Hintergrund: Frauen mit einer Unterfunktion der Nebennieren (pHA) leiden an einem Androgenmangel, da die männlichen Sexualhormone bei Frauen in der Nebenniere gebildet werden. Eine Androgensupplementierung zusätzlich zur Standardtherapie führt zu einem verbesserten Wohlbefinden und einer Reduktion von Depressions- und Angstwerten. Sogar bei männlichen Patienten mit pHA wurde ein psychologischer Nutzen einer Androgen-Behandlung beobachtet. Bei Hunden mit pHA wurden die Androgenkonzentrationen noch nie evaluiert. Da aber die meisten Hunde mit pHA weiblich (-kastriert) oder männlich-kastriert sind, scheint eine allfällige verminderte Androgenproduktion naheliegend. Zudem berichten Besitzer von Hunden mit pHA von Verhaltensänderungen wie gesteigerter Ängstlichkeit, ausgeprägte Anhänglichkeit und vermehrter Unsicherheit seit der Erkrankung.

Ziele: Untersuchung der Androgenkonzentrationen (DHEA, DHEAS und Androstendion) bei Hunden mit pHA vor und während der Standardtherapie für pHA. Vergleich der Androgenkonzentrationen von Hunden mit pHA mit denen von gesunden Hunden. Untersuchung des Einflusses einer Androgen (DHEA)-Supplementierung bei Hunden mit pHA auf die Lernfähigkeit, Stimmung, Angst, Anhänglichkeit und Selbstsicherheit der Hunde.

Methoden: Teil 1: Einschluss von 30 Hunden mit pHA zum Zeitpunkt der Diagnose pHA. Einschluss von 70 Hunden mit pHA unter Standardtherapie (DOCP und Prednisolon). Bestimmung der Androgenkonzentration mittels Massenspektrometrie bei beiden Hundegruppen und Vergleich der Werte mit denen von gesunden Hunden. Teil 2: randomisierte, doppelblinde, cross-over Studie mit 38 Hunden mit pHA während gut eingestellter Standardtherapie (DOCP und Prednisolon). Therapie der Hunde 24 Wochen mit DHEA und 24 Wochen mit Placebo. Evaluation des Verhaltens mit einem standardisierten Fragebogen durch Besitzer vor und während der DHEA und Placebo Therapie. Vergleich der Androgenkonzentrationen vor und während DHEA und Placebo Therapie.

Relevanz: Diese Studie wird neue Erkenntnisse über die Androgenkonzentrationen bei Hunden mit pHA liefern. Zudem werden wir untersuchen, ob analog zum Mensch, auch Hunde mit pHA von einer Androgen-Supplementierung profitieren. Die erzielten Ergebnisse würden die Therapie dieser Krankheit verbessern und damit die Lebensqualität vieler Hunde mit pHA und deren Besitzer nachhaltig beeinflussen.

Schlüsselwörter:

Androgene, DHEA, Defizit, primärer Hypoadrenokortizismus, Addison, Hund, Ängstlichkeit

9. Bewilligungsnummer

Das geplante Forschungsprojekt wurde durch das Veterinäramt des Kanton Zürichs bewilligt (Bewilligungsnummer: ZH 203/2022).

10. Kontakt

Prof. Drs. Felicitas Boretti und N. Sieber-Ruckstuhl und, Oberärztinnen und Leiterinnen der Endokrinologie, Klinik für Kleintiermedizin, Winterthurerstrasse 260, 8057 Zürich

Telefon: 044 635 83 74 und 044 635 83 60

E-Mail: fboretti@vetclinics.uzh.ch und nsieber@vetclinics.uzh.ch

11. Literatur

1. Bancos I, Hahner S, Tomlinson J, Arlt W. Diagnosis and management of adrenal insufficiency. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015 Mar;3(3):216-26. doi: 10.1016/S2213-8587(14)70142-1. Epub 2014 Aug 3. PMID: 25098712. Wierman ME, Kiseljick-Vassiliades K. Should Dehydroepiandrosterone Be Administered to Women? *J Clin Endocrinol Metab*. 2022 May 17;107(6):1679-1685.
2. Binder G, Weber S, Ehrismann M, et al. Effects of dehydroepiandrosterone therapy on pubic hair growth and psychological well-being in adolescent girls and young women with central adrenal insufficiency: a double-blind, randomized, placebo-controlled phase III trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; **94**(4): 1182-90.
3. Brooke AM, Kalingag LA, Miraki-Moud F, et al. Dehydroepiandrosterone (DHEA) replacement reduces growth hormone (GH) dose requirement in female hypopituitary patients on GH replacement. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006; **65**(5): 673-80.
4. Bilger M, Speraw S, LaFranchi SH, Hanna CE. Androgen replacement in adolescents and young women with hypopituitarism. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2005; **18**(4): 355-62.
5. Arlt W, Callies F, Allolio B. DHEA replacement in women with adrenal insufficiency--pharmacokinetics, bioconversion and clinical effects on well-being, sexuality and cognition. *Endocr Res* 2000; **26**(4): 505-11.
6. Hunt PJ, Gurnell EM, Huppert FA, et al. Improvement in mood and fatigue after dehydroepiandrosterone replacement in Addison's disease in a randomized, double blind trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; **85**(12): 4650-6.
7. Wierman ME, Kiseljick-Vassiliades K. Should Dehydroepiandrosterone Be Administered to Women? *J Clin Endocrinol Metab*. 2022 May 17;107(6):1679-1685.
8. Løvås K, Husebye ES. Replacement therapy for Addison's disease: recent developments. *Expert Opin Investig Drugs*. 2008 Apr;17(4):497-509.
9. Gurnell EM, Hunt PJ, Curran SE, Conway CL, Pullenayegum EM, Huppert FA, Compston JE, Herbert J, Chatterjee VK. Long-term DHEA replacement in primary adrenal insufficiency: a randomized, controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Feb;93(2):400-9.

10. Brückel J. "Zeitloses Altern" mit DHEA. Lange gesund leben und Sex bis ins hohe Alter? [Replacement and supplementation of DHEA--is it a wellness hormone?]. *MMW Fortschr Med.* 2005 Feb 17;147(7):30-2.
11. Libè R, Barbetta L, Dall'Asta C, Salvaggio F, Gala C, Beck-Peccoz P, Ambrosi B. Effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation on hormonal, metabolic and behavioral status in patients with hypoadrenalism. *J Endocrinol Invest.* 2004 Sep;27(8):736-41.
12. Stamou MI, Colling C, Dichtel LE. Adrenal aging and its effects on the stress response and immunosenescence. *Maturitas.* 2023 Feb;168:13-19. doi: 10.1016/j.maturitas.2022.10.006. Epub 2022 Nov 4. PMID: 36370489.
13. Orentreich N, Brind JL, Rizer RL, Vogelmann JH. 1984 Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood. *J Clin Endocrinol Metab.* 59:551–555.
14. Jia X, Sun C, Tang O, Gorlov I, Nambi V, Virani SS, Villareal DT, Taffet GE, Yu B, Bressler J, Boerwinkle E, Windham BG, de Lemos JA, Matsushita K, Selvin E, Michos ED, Hoogeveen RC, Ballantyne CM. Plasma Dehydroepiandrosterone Sulfate and Cardiovascular Disease Risk in Older Men and Women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020 Dec 1;105(12):e4304–27.
15. Huang K, Cai HL, Bao JP, Wu LD. Dehydroepiandrosterone and age-related musculoskeletal diseases: Connections and therapeutic implications. *Ageing Res Rev.* 2020 Sep;62:101132.
16. Lemos MP, Miranda MT, Marocolo M, Resende EAMR, Chriguer RS, Sordi CC, Barbosa Neto O. Low levels of dehydroepiandrosterone sulfate are associated with the risk of developing cardiac autonomic dysfunction in elderly subjects. *Arch Endocrinol Metab.* 2019 Feb;63(1):62-69.
17. Mannella P, Simoncini T, Caretto M, Genazzani AR. Dehydroepiandrosterone and Cardiovascular Disease. *Vitam Horm.* 2018;108:333-353.
18. Barrett-Connor E, Khaw K-T, Yen SSC. 1986 A prospective study of dehydroepiandrosterone sulfate, mortality and cardiovascular disease. *N Engl J Med.* 315:1519 –1524.
19. Ebeling P, Kivisto VA. 1994 Physiological importance of dehydroepiandrosterone. *Lancet.* 343:1479 –1481.
20. Sambrook P, Birmingham J, Champion D, et al. 1992 Postmenopausal bone loss in rheumatoid arthritis: effect of estrogens and androgens. *J Rheumatol.* 19:357–361.
21. Yokomoto-Umakoshi M, Umakoshi H, Iwahashi N, Matsuda Y, Kaneko H, Ogata M, Fukumoto T, Terada E, Nakano Y, Sakamoto R, Ogawa Y. Protective Role of DHEAS in Age-related Changes in Bone Mass and Fracture Risk: A Mendelian Randomization Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2021 Jun 22:dgab459.
22. Zhou S, Glowacki J. Dehydroepiandrosterone and Bone. *Vitam Horm.* 2018;108:251-271. doi: 10.1016/bs.vh.2018.01.005. Epub 2018 Feb 24. PMID: 30029729.
23. Morales AJ, Nolan JJ, Nelson JC, Yen SSC. 1994 Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age. *J Clin Endocrinol Metab.* 78:1360–1367.

24. Morales AJ, Haubrich RH, Hwang JY, Asakura H, Yen SSC. 1998 The effect of six months treatment with a 100mg daily dose of dehydroepiandrosterone (DHEA) on circulating sex steroids, body composition and muscle strength in age-advanced men and women. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 49:421–432.
25. Diamond P, Cusan L, Gomez J-L, Belanger A, Fabrie F. 1996 Metabolic effects of 12-month percutaneous dehydroepiandrosterone replacement therapy in postmenopausal women. *J Endocrinol*. 150:S43–S50.
26. Casson PR, Santoro N, Elkind-Hirsch K, et al. 1998 Postmenopausal dehydroepiandrosterone administration increases free insulin-like growth factor-1 and decreases high-density lipoprotein: a six month trial. *Fertil Steril*. 70:107–110.
27. Labrie F, Diamond P, Cusan L, Gomez JL, Belanger A, Candas B. 1997 Effect of 12-month dehydroepiandrosterone replacement therapy on bone, vagina and endometrium in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 82:3498–3505.
28. Wolkowitz OM, Reus VI, Keebler A, et al. 1999 Double-blind treatment of major depression with dehydroepiandrosterone. *Am J Psychiatry*. 156:646–649.
29. Oelkers W, Diederich S, Baehr V. Diagnosis and therapy surveillance in Addison's disease: Rapid adrenocorticotropin (ACTH) test and measurement of plasma ACTH, renin activity, and aldosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75: 259–264
30. Baumstark ME, Nussberger J, Boretti FS, Baumstark MW, Riond B, Reusch CE, Sieber-Ruckstuhl NS. Use of plasma renin activity to monitor mineralocorticoid treatment in dogs with primary hypoadrenocorticism: desoxycorticosterone versus fludrocortisone. *J Vet Intern Med*. 2014 Sep-Oct;28(5):1471-8.
31. Sieber-Ruckstuhl NS, Reusch CE, Hofer-Inteeworn N, Kuemmerle-Fraune C, Müller C, Hofmann-Lehmann R, Boretti FS. Evaluation of a low-dose desoxycorticosterone pivalate treatment protocol for long-term management of dogs with primary hypoadrenocorticism. *J Vet Intern Med*. 2019 May;33(3):1266-1271.

12. Abbildungen

Abbildung 1: Hormonproduktion in den Nebennieren

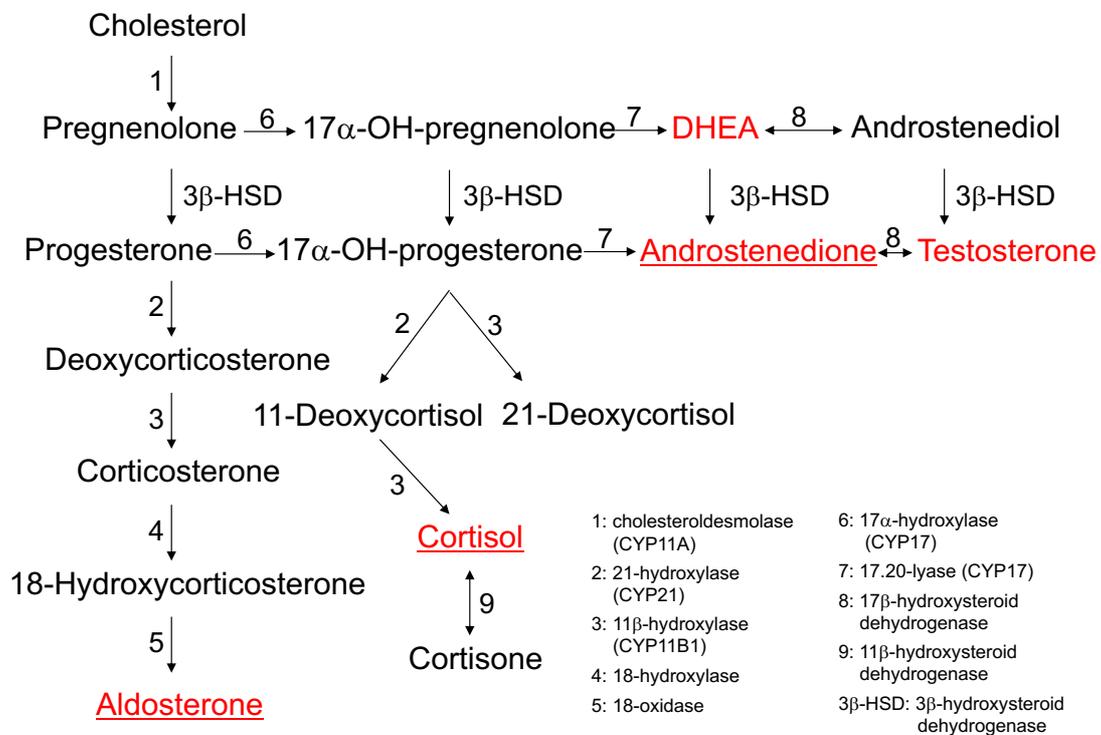
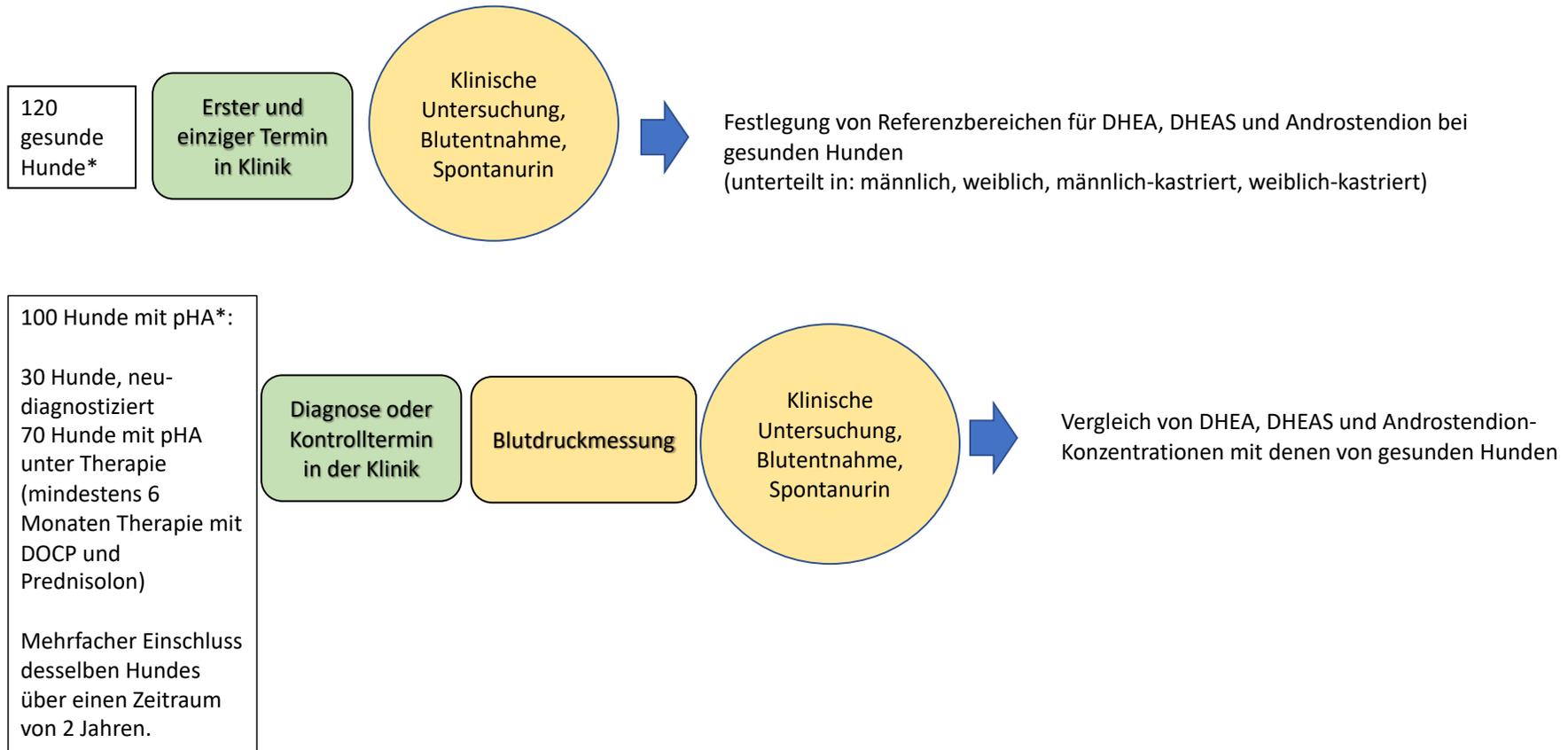


Abbildung 2: Ablauf klinischer Teil 1

Studie Teil 1

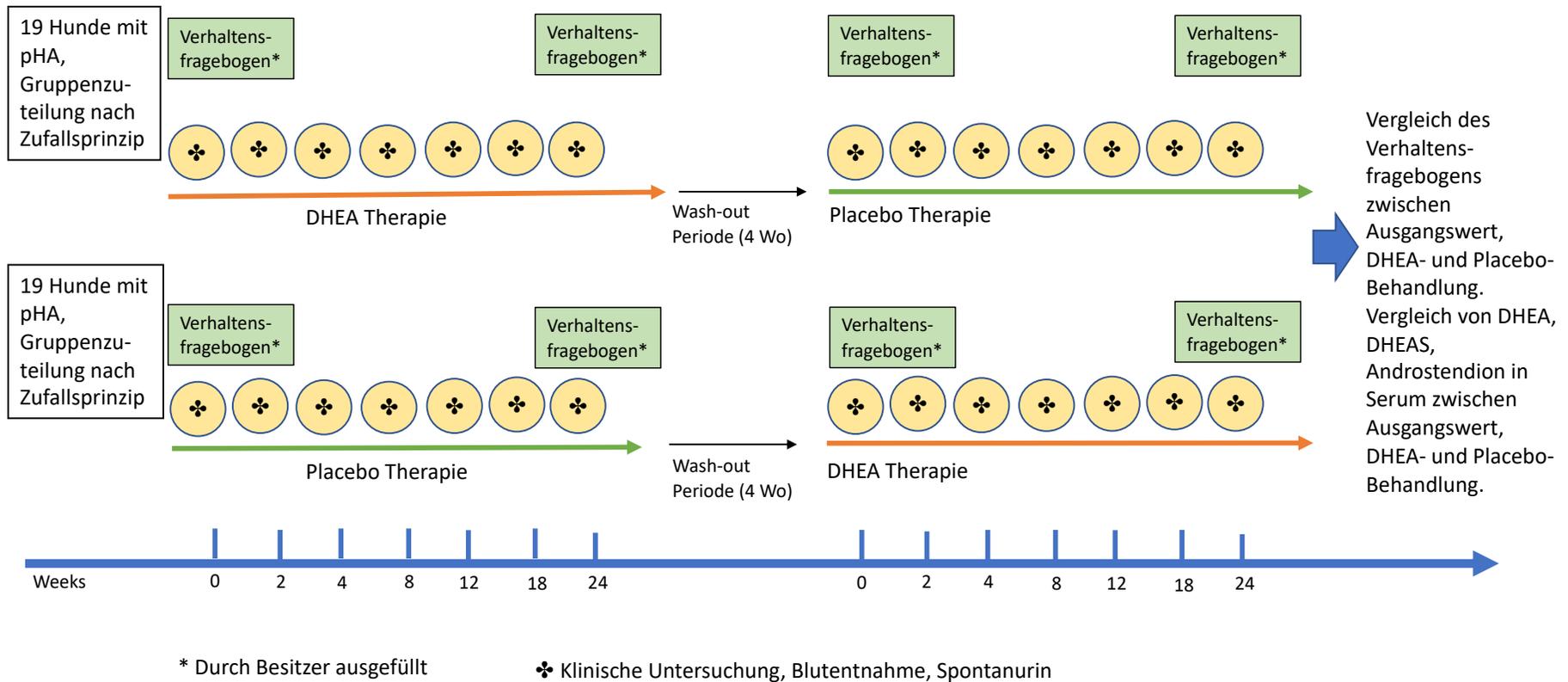


*Die Anzahl der Hunde versteht sich als die maximal, bewilligte Anzahl an Hunden (TVB 203/2022). Für die statistische Auswertung der Resultate können vermutlich viel weniger Hunde verwendet werden

Abbildung 3: Ablauf klinischer Teil 2

Studie Teil 2

Doppelblinde, placebokontrollierte Cross-over-Studie, insgesamt 38 Hunde mit pHA



Curriculum vitae

Felicitas S. Boretti; Prof. Dr. med. vet., FVH, Dipl. ACVIM, Dipl. ECVIM-CA

Personal information

Date of Birth 1971, 03/09
Marital status Married
Children One (2006)
Office Address Clinic for Small Animal Internal Medicine, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Winterthurerstrasse 260, 8057 Zurich, Switzerland
Phone: +41 44 635 83 60
e-mail: fboretti@vetclinics.uzh.ch
Home Address Käferholzstrasse 210, 8046 Zurich, Switzerland,
Phone: +41 76 411 93 71

Academic/ Professional Qualifications

2011 Habilitation in Small Animal Internal Medicine, Vetsuisse faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland
Title: "Canine hypothyroidism: Diagnostic possibilities with a special focus on stimulation with recombinant human thyrotropin"
2009 Diplomate of the European College of Veterinary Internal Medicine, Companion Animals (Dipl.ECVIM-CA)
2004 Diplomate of the American College of Veterinary Internal Medicine, Small Animal (Dipl.ACVIM)
2000 FVH in Laboratory & Experimental Medicine
1999 Doctoral thesis in Veterinary Medicine, at the Vetsuisse faculty; University of Zurich
Title: "Use of recombinant FIV glycoprotein as vaccine antigen in conjunction with MF-59 adjuvant"

Education/ Postdoctoral Training

1999-2000 Postdoctoral Fellow, Clinical Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zurich, Switzerland
1998-1999 Postgraduate Course in Experimental Medicine and Biology, University of Zurich, Switzerland
1995-1999 Research training in laboratory and experimental Medicine and Doctoral thesis, title: 'Use of recombinant FIV glycoprotein as vaccine antigen in conjunction with MF-59 adjuvant', Clinical Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zurich, Switzerland
1990-1995 Studies of Veterinary Medicine at the Faculty of Veterinary Medicine, University of Zurich, Switzerland

Education/ Research Assignments Abroad

2005 Max Planck Institute Munich, Germany (8 months)
2003 Department of Clinical Studies, School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, Visiting Resident (3 months)
1998 Institut Pasteur, Paris, France (1 month)

Professional Experience

2019-present	Titular professor, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland
2004-present	Senior Assistant (“Oberärztin”) in Small Animal Internal Medicine, Clinic for Small Animal Internal Medicine, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Switzerland
2014-2022	Assistant Professor for Veterinary Endocrinology (Twin-professor ship together with Prof. Dr. Nadja Sieber-Ruckstuhl), Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland
2000-2004	Internship and Residency in Small Animal Internal Medicine, Clinic for Small Animal Internal Medicine, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Switzerland
1997-present	Computer infrastructure & data management, Department for Small Animals and previous Department of Internal Veterinary Medicine, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Switzerland

Professional Organisation/ Memberships

2018 – present	Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte (GST)
2009 – present	European College of Veterinary Internal Medicine (ECVIM-CA)
2004 – present	European Society for Veterinary Endocrinology (ESVE)
2004 – present	American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM)
2000 – present	Schweizerische Vereinigung der Veterinär Labordiagnostiker (SVVLD)

Supervision of Doctoral Theses (dissertations)

2022-present	Livia Harburger, University of Zurich, Switzerland Doctoral thesis: Skin changes and wound healing disturbances in dogs with experimentally and naturally occurring Cushing`s syndrome.
2021-present	Elisabeth Neubert, University of Zurich, Switzerland Doctoral thesis: Influence of glucocorticoids on wound healing in rats.
2018 -2020	Isabelle Martin Gene expression changes in visceral adipose tissue of healthy beagle dogs induced by long-term ACTH-treatment.
2016 - 2017	Susanne Spoerel Characterization of canine plasma lipidome alterations due to prednisolone or tetracosactide treatment of healthy beagle dogs
2015 -2017	Florence Schmid, Canine Lipoprotein Separation and Characterization of the Canine Lipidome in Healthy and Prednisolone Treated Beagles.
2010 -2013	Schäfer Sandra Characterization of recombinant human and bovine thyroid-stimulating hormone preparations by mass spectrometry and determination of their endotoxin content.
2007 -2009	Perreten Andrea Real-time TaqMan PCR and molecular investigations of Rickettsia helvetica infection in dogs, foxes, humans and Ixodes spp. Ticks.

Training in Laboratory Animal Science

1998- present Laboratory animal management (Haupttierversuchsleiterin), experience with cats, dogs, rats and mice

Publications (only last 5 years)

1. Sieber-Ruckstuhl NS, Harburger L, Hofer N, Kümmerle C, Müller C, Riond B, Hofmann-Lehmann R, Reusch CE, **Boretti FS**. Clinical features and long-term management of cats with primary hypoadrenocorticism using desoxycorticosterone pivalate and prednisolone. *J Vet Intern Med.* e-pub February 2023.
2. Baumgartner F, **Boretti FS**, Gerber B. Prognostic factors in dogs with common causes of proteinuria. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 2022 Jul;164(7):525-533.
3. Tavares Pereira M, Martin I, Rehrauer H, Kowalewski MP, **Boretti FS**, Sieber-Ruckstuhl NS. Effects of ACTH-Induced Long-Term Hypercortisolism on the Transcriptome of Canine Visceral Adipose Tissue. *Vet Sci.* 2022 May 25;9(6):250. doi: 10.3390/vetsci9060250. PMID: 35737302; PMCID: PMC9228614.
4. Sieber-Ruckstuhl NS, Tham WK, Baumgartner F, Selva JJ, Wenk MR, Burla B, **Boretti FS**. Serum Lipidome Signatures of Dogs with Different Endocrinopathies Associated with Hyperlipidemia. *Metabolites.* 2022 Mar 30;12(4):306. doi: 10.3390/metabo12040306. PMID: 35448493; PMCID: PMC9031822.
5. Spiri AM, Novacco M, Meli ML, Stirn M, Riond B, Fogle JE, **Boretti FS**, Herbert I, Hosie MJ, Hofmann-Lehmann R. Modified-Live Feline Calicivirus Vaccination Elicits Cellular Immunity against a Current Feline Calicivirus Field Strain in an Experimental Feline Challenge Study. *Viruses.* 2021 Aug 31;13(9):1736.
6. Meunier S, Groessl M, Reusch C, **Boretti F**, Sieber-Ruckstuhl N. Salivary cortisol in healthy dogs: a randomized cross-over study to evaluate different saliva stimulation methods and their effects on saliva volume and cortisol concentration. *BMC Vet Res.* 2021 May 17;17(1):194.
7. Casado Díaz JI, Sieber-Ruckstuhl NS, **Boretti FS**, Fracassi F, Reusch CE. Evaluation of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with primary hypoadrenocorticism receiving long-term mineralocorticoid replacement therapy. *Vet Rec.* 2021 Apr.
8. Krämer AL, Riederer A, Fracassi F, **Boretti FS**, Sieber-Ruckstuhl NS, Lutz TA, Contiero B, Zini E, Reusch CE. Glycemic variability in newly diagnosed diabetic cats treated with the glucagon-like peptide-1 analogue exenatide extended release. *J Vet Intern Med.* 2020 Nov;34(6):2287-2295.
9. Dupont P, Burkhardt W, **Boretti FS**, Riond B, Reusch C, Willi B, Sieber-Ruckstuhl NS. Urinary tract infection in dogs with spontaneous hypercortisolism – frequency, symptoms and involved pathogens. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2020;161(7):439-450.

10. **Boretti FS**, Burla B, Deuel J, Gao L, Wenk MR, Liesegang A, Sieber-Ruckstuhl NS. Serum lipidome analysis of healthy beagle dogs receiving different diets. *Metabolomics*. 2019 Dec 3;16(1):1
11. Sieber-Ruckstuhl NS, Burla B, Spoerrel S, Schmid F, Venzin C, Cazenave-Gassiot A, Bendt AK, Torta F, Wenk MF, **Boretti FS**. Changes in the Canine Plasma Lipidome after Short- and Long-Term Excess Glucocorticoid Exposure. *Scientific Reports*, Nature group. 2019 Apr 12;9(1):6015.
12. Kratzer G, Lewis FI, Willi B, Meli ML, **Boretti FS**, Hofmann-Lehmann R, Torgerson P, Furrer R, Hartnack S. Bayesian Network Modeling Applied to Feline Calicivirus Infection Among Cats in Switzerland. *Front Vet Sci*. 2020 Feb 26;7:7
13. Novacco M, Kohan NR, Stirn M, Meli ML, Díaz-Sánchez AA, **Boretti FS**, Hofmann-Lehmann R. Prevalence, Geographic Distribution, Risk Factors and Co-Infections of Feline Gammaherpesvirus Infections in Domestic Cats in Switzerland. *Viruses*. 2019 Aug 6;11(8)
14. Reusch CE, Burkhardt WA, Meier VS, Rohrer Bley C, Riond B, Dennler M, **Boretti FS**, Sieber NS. Acromegaly due to a pituitary tumor in a dog – diagnosis, therapy and long-term follow-up. *Schweiz Arch Tierheilkd*. 2019; 161 (5): 319 – 327
15. Sieber-Ruckstuhl NS, Reusch CE, Hofer-Inteeworn N, Kuemmerle-Fraune C, Müller C, Hofmann-Lehmann R, **Boretti FS**. Evaluation of a low-dose desoxycorticosterone pivalate treatment protocol for long-term management of dogs with primary hypoadrenocorticism. *J Vet Intern Med*. 2019 Mar 13.
16. **Boretti F**, Musella C, Burkhardt W, Kuemmerle-Fraune C, Riond B, Reusch C, Sieber-Ruckstuhl N. Comparison of two prepill cortisol concentrations in dogs with hypercortisolism treated with trilostane. *BMC Vet Res*. 2018 Dec 27;14(1):417.
17. Novacco M, Sugiarto S, Willi B, Baumann J, Spiri AM, Oestmann A, Riond B, **Boretti FS**, Naegeli H, Hofmann-Lehmann R. Consecutive antibiotic treatment with doxycycline and marbofloxacin clears bacteremia in *Mycoplasma haemofelis*-infected cats. *Vet Microbiol*. 2018 Apr;217:112-120.
18. Hofmann-Lehmann R, Gönczi E, Riond B, Meli M, Willi B, Howard J, Schaarschmidt-Kiener D, Regli W, Gilli U, **Boretti F**. Feline leukemia virus infection: importance and current situation in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilkd*. 2018 Feb;160(2):95-105.
19. Beatrice L, **Boretti FS**, Sieber-Ruckstuhl NS, Mueller C, Kümmerle-Fraune C, Hilbe M, Grest P, Reusch CE. Concurrent endocrine neoplasias in dogs and cats: a retrospective study (2004-2014). *Vet Rec*. 2018 Mar 17;182(11):323.

Curriculum vitae

Nadja S. Sieber-Ruckstuhl; Prof., Dr. med. vet., Dipl. ACVIM, Dipl. ECVIM-CA

Personal Information

Date of birth: 1973, 12/01
Marital status: Married
Children: Two (2006/2008)
Office Address: Clinic for Small Animal Internal Medicine, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Winterthurerstrasse 260, 8057 Zurich, Switzerland
Phone: +41 44 635 83 74
e-mail: nsieber@vetclinics.uzh.ch
Home Address: Gründenstrasse 90, 8247 Flurlingen, Switzerland
Phone: +41 52 654 32 79

Academic/Professional Qualifications

2011 Habilitation in Small Animal Internal Medicine, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland
Title: "Canine hyperadrenocorticism: hormonal alterations before and during trilostane therapy and their associations with adrenal necrosis"
2006 Diplomate of the European College of Veterinary Internal Medicine, Companion Animals, Dipl. ECVIM-CA
2004 Diplomate of the American College of Veterinary Internal Medicine, Small Animals (Dipl. ACVIM)
2000 Doctoral thesis in Veterinary Medicine, Clinical Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zurich, Switzerland
Title: "DNA-Vaccination against FeLV with IL-12 as adjuvant"

Education/Postdoctoral Training

1999-2000 Research training in laboratory and experimental Medicine and Doctoral thesis, title: "DNA-Vaccination against FeLV with IL-12 as adjuvant". Clinical Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zurich, Switzerland
1998 Graduation in Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zurich, Switzerland
1993-1998 School of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zurich, Switzerland

Education/Research Assignments Abroad

2002-2003 Visiting Internal Medicine Resident at the Animal Teaching Hospital, University of Georgia, Athens, GA, USA (1 year)
1999 Visiting researcher in molecular biology in the laboratory of MOLOGEN AG, Berlin, Germany, Chairman executive board: Prof. Dr. B. Wittig (4 months)
1993 Language study, University of Tasmania, Australia (4 months)

Professional Experience

2019-present	Titular professor, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland
2004-present	Senior Assistant (“Oberärztin”) in Small Animal Internal Medicine, Clinic for Small Animal Internal Medicine, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Switzerland
2014-2022	Assistant Professor for Veterinary Endocrinology (Twin-professor ship with Prof. Dr. Felicitas Boretti), Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland
2001-2004	Residency in Small Animal Internal Medicine, Clinic for Small Animal Internal Medicine, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Switzerland
2000-2001	Internship in Small Animal Internal Medicine, Clinic for Small Animal Internal Medicine, Vetsuisse Faculty University of Zurich, Switzerland

Professional Organization/Memberships

2006-present	European College of Veterinary Internal Medicine
2004-present	European Society of Veterinary Endocrinology
2004-present	American College of Veterinary Internal Medicine

Supervision of Doctoral Theses

2022-present	Livia Harburger, University of Zurich, Switzerland Doctoral thesis: Skin changes and wound healing disturbances in dogs with experimentally and naturally occurring Cushing`s syndrome.
2021-present	Elisabeth Neubert, University of Zurich, Switzerland Doctoral thesis: Influence of glucocorticoids on wound healing.
2018-2020	Isabelle Martin, University of Zurich, Switzerland Doctoral thesis: Gene expression changes in visceral adipose tissue of healthy beagle dogs induced by long-term ACTH-treatment.
2017-2020	Perrine Dupont, University of Zurich, Switzerland Doctoral thesis: Urinary tract infections in dogs with spontaneous hypercortisolism – frequency, symptoms and involved pathogens.
2016-2018	Caterina Musella, University of Zurich, Switzerland Doctoral thesis: Carriage of methicillin-resistant <i>S. aureus</i> and <i>S. pseudintermedius</i> , extended-spectrum β -lactamase-producing or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in dogs with hypercortisolism.
2016-2017	Susanne Spoerel, University of Zurich, Switzerland Doctoral thesis: plasma lipidome of healthy Beagle dogs treated with prednisolone and ACTH.
2015-2017	Florence Schimd, University of Zurich, Switzerland Doctoral thesis: Canine Lipoprotein Separation and Characterisation of the canine Lipidome of healthy Beagle dogs.

- 2013-2016 Alexandra Blaser, University of Zurich, Switzerland
 Doctoral thesis: Influence of the amount of contrast agent and the injection technique on the attenuation of adrenal glands in CT.
- 2008-2011 Burkhardt Wanda, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Switzerland.
 Doctoral thesis: "Effect of trilostane and ACTH on adrenal cells of rats."

Training in Laboratory Animal Science

- 2013- present Laboratory animal management (Haupttierversuchsleiterin), experience with cats, dogs and rats.
- 2013 Education for persons responsible for directing animal experiments (LTK Modul 2), Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland
- 2008 Introductory course in Laboratory Animal Science (LTK Modul 1), Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland

Publications (last 5 years)

PubMed search: Sieber-Ruckstuhl OR Ruckstuhl AND Reusch OR Sieber N AND Gerber
 ORCID: 0000-0002-8256-0137

1. **Sieber-Ruckstuhl NS**, Harburger L, Hofer N, Kümmerle C, Müller C, Riond B, Hofmann-Lehmann R, Reusch CE, Boretti FS. Clinical features and long-term management of cats with primary hypoadrenocorticism using desoxycorticosterone pivalate and prednisolone. J Vet Intern Med. e-pub February 2023.
2. Tavares Pereira M, Martin I, Rehrauer H, Kowalewski MP, Boretti FS, **Sieber-Ruckstuhl NS**. Effects of ACTH-Induced Long-Term Hypercortisolism on the Transcriptome of Canine Visceral Adipose Tissue. Vet Sci. 2022 May 25;9(6):250. doi: 10.3390/vetsci9060250. PMID: 35737302; PMCID: PMC9228614.
3. Corsini A, Niessen SJ, Miceli DD, Caney S, Zeugswetter FK, **Sieber-Ruckstuhl NS**, Arenas C, Fleeman LM, Leal RO, Battellino M, Fracassi F. Quality of life and response to treatment in cats with hypersomatotropism: the owners' point of view. J Feline Med Surg. 2022 Aug;24(8):e175-e182. doi: 10.1177/1098612X221098718. Epub 2022 May 26. PMID: 35616046.
4. **Sieber-Ruckstuhl NS**, Tham WK, Baumgartner F, Selva JJ, Wenk MR, Burla B, Boretti FS. Serum Lipidome Signatures of Dogs with Different Endocrinopathies Associated with Hyperlipidemia. Metabolites. 2022 Mar 30;12(4):306. doi: 10.3390/metabo12040306. PMID: 35448493; PMCID: PMC9031822.
5. Meunier S, Groessl M, Reusch C, Boretti F, **Sieber-Ruckstuhl N**. Salivary cortisol in healthy dogs: a randomized cross-over study to evaluate different saliva stimulation methods and their effects on saliva volume and cortisol concentration. BMC Vet Res. 2021 May 17;17(1):194.

6. Casado Díaz JI, **Sieber-Ruckstuhl NS**, Boretti FS, Fracassi F, Reusch CE. Evaluation of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with primary hypoadrenocorticism receiving long-term mineralocorticoid replacement therapy. *Vet Rec.* 2021 Apr.
7. Krämer AL, Riederer A, Fracassi F, Boretti FS, **Sieber-Ruckstuhl NS**, Lutz TA, Contiero B, Zini E, Reusch CE. Glycemic variability in newly diagnosed diabetic cats treated with the glucagon-like peptide-1 analogue exenatide extended release. *J Vet Intern Med.* 2020 Nov;34(6):2287-2295.
8. Dupont P, Burkhardt W, Boretti FS, Riond B, Reusch C, Willi B, **Sieber-Ruckstuhl NS**. Urinary tract infection in dogs with spontaneous hypercortisolism – frequency, symptoms and involved pathogens. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2020;161(7):439-450.
9. Boretti FS, Burla B, Deuel J, Gao L, Wenk MR, Liesegang A, **Sieber-Ruckstuhl NS**. Serum lipidome analysis of healthy beagle dogs receiving different diets. *Metabolomics.* 2019 Dec 3;16(1):1
10. **Sieber-Ruckstuhl NS**, Burla B, Spoerrel S, Schmid F, Venzin C, Cazenave-Gassiot A, Bendt AK, Torta F, Wenk MF, Boretti FS. Changes in the Canine Plasma Lipidome after Short- and Long-Term Excess Glucocorticoid Exposure. *Scientific Reports Nature Group* 2019;9(1):6015.
11. Reusch CE, Burkhardt WA, Meier VS, Rohrer Bley C, Riond B, Dennler M, Boretti FS, **Sieber-Ruckstuhl NS**. Acromegaly due to a pituitary tumour in a dog – diagnosis, therapy and long-term follow-up. *SAT* 2019;5:319-327.
12. **Sieber-Ruckstuhl NS**, Reusch CE, Hofer-Inteeworn N, Kuemmerle-Fraune C, Müller C, Hofmann-Lehmann R, Boretti FS. Evaluation of a low-dose desoxycorticosterone pivalate treatment protocol for long-term management of dogs with primary hypoadrenocorticism. *J Vet Intern Med.* 2019 Mar 13.
13. Boretti F, Musella C, Burkhardt W, Kuemmerle-Fraune C, Riond B, Reusch C, **Sieber-Ruckstuhl N**. Comparison of two pre-pill cortisol concentrations in dogs with hypercortisolism treated with trilostane. *BMC Vet Res.* 2018 Dec 27;14(1):417.
14. Wallimann M, Richter H, **Sieber-Ruckstuhl NS**, Blaser A, Gent TC, Krämer SD, Santner G, Kircher PR, Dennler M. Influence of injection protocol and measurement technique on computed tomographic assessment of glomerular filtration rate in healthy Beagles. *Am J Vet Res.* 2018 Dec;79(12):1298-1305.
15. Beatrice L, Boretti FS, **Sieber-Ruckstuhl NS**, Mueller C, Kümmerle-Fraune C, Hilbe M, Grest P, Reusch CE. Concurrent endocrine neoplasias in dogs and cats: a retrospective study (2004-2014). *Vet Rec.* 2018 Mar 17;182(11):323.

Gesuch um Bewilligung für die Durchführung von Tierversuchen**35456****ZH203/2022**Art. 18 Tierschutzgesetz (SR 455), Art. 141 Tierschutzverordnung (SR 455.1),
Art. 30 Tierversuchsverordnung (SR 455.163)

Grunddaten 01-08

01 Adresse Gesuchsteller/in

Institut

Name	Klinik für Kleintiermedizin
Strasse	Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich Winterthurerstrasse 260
Postleitzahl	8057
Ort	Zürich
Firma	Uni-ZH

Bereichsleiter/in

Name	Stefan Unterer
E-Mail	stefan.unterer@uzh.ch
Tel.-Nr.	+41782391661

Versuchsleiter/in

Name	Nadja Sieber Ruckstuhl
E-Mail	nsieber@vetclinics.uzh.ch
Tel.-Nr.	044 635 83 74

02 Adresse der kantonalen Behörde

Name	ZH
Strasse	Waltersbachstrasse 5
Postleitzahl	8090
Ort	Zürich
Delegierte Gesuchseingabe durch den Kanton in animex-ch?	Nein

03 Kantonsübergreifender Versuch

Wird der Versuch in mehr als einem Kanton durchgeführt?	Nein
Falls ja: Sekundärkantone	Keine

04 Titel des Gesuchs

Angabe des Gesuchstitels

Plasma renin activity and adrenogen concentrations in dogs with primary hypoadrenocorticism (Morbus Addison)

05 Titel für die Publikation

Informativer Titel, der nach Abschluss des Versuchs gemäss Art. 20a Tierschutzgesetz (SR 455) für die Publikation verwendet wird.

Angabe des für die Publikation
verwendeten GesuchstitelsHormonal activities in dogs with primary hypoadrenocorticism
(Morbus Addison)

06 Gesuchstyp

Entsprechender Gesuchstyp

Neues Gesuch

07 Maximaler prospektiver Schweregrad

Angabe des maximalen prospektiven
Schweregrads dieses Gesuchs

0

08 Dauer des Projekts und Datum des Beginns

Projektdauer

3 Jahre / 0 Monate / 0 Tage

Vorgesehenes Datum des Beginns

02.01.2023

Tiere 9-10

09 Tierliste

Tierliste
<p>Kategorie-Info Tierkategorie: Hunde Geschlecht: gemischt Verwendung gentechnisch veränderter Tiere: Nein Wurde diese Linie in dieser Versuchstierhaltung speziell für diesen Versuch neu etabliert?: Nein Belastete Linie?: Nein</p> <p>Informationen zum Datenblatt und damit zusammenhängende Formulare</p> <p>Dokumente</p> <ul style="list-style-type: none"> Kein Eintrag <p>Nummer-Info Bisher bewilligt: 0 Beantragte Anzahl Tiere: 258 Gesamtzahl beantragter Tiere: 258</p> <p>Herkunft der Tiere</p> <ul style="list-style-type: none"> Herkunft: Nicht bewilligte Tierhaltung <ul style="list-style-type: none"> Herkunft ID: Anderes / Beschreibung der Herkunft der Tiere: privately owned dogs <p>Tierhaltungsort</p> <ul style="list-style-type: none"> Ort: Nicht bewilligte Tierhaltung <ul style="list-style-type: none"> Ort ID: privately owned dogs

10 Durchführungsort der Versuche

Adresse	Raum-Nummer	Beschreibung
Klinik für Kleintiermedizin Winterthurerstrasse 260 8057 Zürich	TKK 10.49	Clinical examination, blood drawing, collecting urine

Personal 11-14

11 Personalangaben

Name	Rolle	Status der Qualifikation	Stellvertretende/r Versuchsleiter/in	Zuständigkeitsbereich
Stefan Unterer	Bereichsleiter/in (RM)			Resource manager
Nadja Sieber Ruckstuhl	Versuchsleiter/in des Instituts (SDI)	●		Principal study director
Nadja Sieber Ruckstuhl	Versuchsleiter/in des Instituts (SDI)	●		Creator
Felicitas Boretti	Versuchsleiter/in des Instituts (SDI)	●	✓	deputy study director
Elisabeth Neubert	Versuchsdurchführende Person des Instituts (IPI)	●		Clinical examination, blood drawing, collecting urine
Livia Harburger	Versuchsdurchführende Person des Instituts (IPI)	●		Clinical examination, blood drawing, collecting urine

12 Bereichsleiter/in

Name	Stefan Unterer
Verantwortlichkeitserklärung	Der/die Bereichsleiter/in bestätigt, dass die in der Personenliste aufgeführten Personen mit den Bestimmungen des Tierschutzgesetzes (SR 455) und der Tierschutzverordnung (SR 455.1) bezüglich Tierversuche vertraut sind und die Anforderungen betreffend Aus- und Weiterbildung erfüllen.

13 Hauptversuchsleiter/in

Name	Nadja Sieber Ruckstuhl
Verantwortlichkeitserklärung	Der/die Hauptversuchsleiter/in bestätigt, dass er/sie die in Art. 131 Tierschutzverordnung (SR 455.1) festgehaltene Verantwortung trägt.
Stellvertretende/r Versuchsleiter/in	Felicitas Boretti

14 Tierschutzbeauftragte/r

Name	Michaela Thallmair
Vollständigkeitserklärung	Mit dem Einreichen des Gesuchs an den kantonalen Veterinärdienst bestätigt der/die Tierschutzbeauftragte, dass das Gesuch vollständig ausgefüllt wurde und die Informationen enthält, die für die Beurteilung des unerlässlichen

Masses erforderlich sind (Art. 129 Bst. a Tierschutzverordnung (SR455.1)).

Zeitstempel der Einreichung

24.11.2022 14:32:27

Zweck des Versuchs 15-22

In den Ziffern 16-18 ist jeweils nur eine Angabe zulässig (Auswahl anklicken), sowie ggf. eine Angabe in der Unterkategorie.

15 Fachgebiet

Angabe des wissenschaftlichen Gebiets Endocrinology

16 Anwendungsbereich

Das Projekt steht in Zusammenhang mit folgendem Anwendungsbereich Krankheitsdiagnostik

17 Zusammenhang mit Krankheiten

Das Projekt steht in Zusammenhang mit folgenden Krankheiten Krankheiten beim Tier:
Morbus Addison

18 Zusammenhang mit gesetzlich vorgesehenen Verfahren

Angabe der regulatorischen Anforderungen Kein Zusammenhang mit gesetzlich vorgeschriebenen Verfahren

19 Externe Begutachtung

Wurde das Projekt begutachtet? Nein
Falls ja: Gutachten ausgestellt durch Keine

20 Versuchsziel und Hintergrund

Kurze Beschreibung des Versuchsziels (max. eine Seite): Für die Beurteilung der **Unerlässlichkeit** (siehe Ziffern 38 bis 40) des Versuchs gemäss Art. 17 Tierschutzgesetz (SR 455): (1) Beschreibung des **Ziels**, (2) **Aktueller Forschungsstand**, (3) Erwarteter **Erkenntnisgewinn**.

Dogs with primary hypoadrenocorticism (PH) suffer from immune-mediated destruction of the adrenal cortex, which results in absolute glucocorticoid and mineralocorticoid deficiency. Treatment of PH consist of lifelong hormone replacement. Glucocorticoids are replaced by prednisolone or hydrocortisone, which typically are administered orally on a daily basis. Mineralocorticoids are replaced by deoxycorticosterone pivalate (DOCP), a parenterally administered long-acting mineralocorticoid. Monitoring of the mineralocorticoid treatment in dogs consists of measuring the sodium and potassium concentrations to guide the mineralocorticoid need. In human medicine, standard monitoring of patients with PH consists of measurement of serum electrolyte concentrations (sodium and potassium), blood pressure and plasma renin activity (PRA). PRA determination to control mineralocorticoid treatment has been accepted as the gold standard since 1992 (Oelkers et al 1992). PRA before treatment is increased, decreases during treatment and correlates inversely with mineralocorticoid dose (Oelkers et al 1992). For

optimal treatment control, PRA should be within the reference range of healthy humans (Oelkers et al 1992).

Our group could show that dogs with PH have increased PRA before treatment and PRA decreases during DOCP therapy (Baumstark et al. 2014). However, most dogs with PH started with DOCP have completely suppressed PRA, which in humans indicates excessive mineralocorticoid treatment (Baumstark et al 2014).

Healthy adrenal glands produce, besides mineralo- and glucocorticoids, other hormones, namely androgens (dehydroepiandrosterone (DHEA) and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS)). In contrast to males, in which androgens are produced in the testes, in females androgen production is mainly produced by the adrenal glands and it has been shown that women with PH suffer from severe androgen deficiency (Bancos et al. 2015). This influences neural function and has effects on cognition, memory, anxiety and mood (Hunt et al. 2000). In humans, DHEA supplementation in patients with PH was shown to improve overall wellbeing, depression and anxiety scores and sexual interest and satisfaction ratings (Arlt et al 2000, Hunt et al 2000). Even in male human patients, a psychological benefit was observed (Hunt et al 2000).

In dogs with PH, androgen production has not yet been studied. Many of our owners, however, report that their dogs with PH show more anxiety and owner attachment than they did before the diagnosis of PH.

Therefore, the goals of this study are to evaluate PRA and androgen concentrations in dogs with PH, before and during treatment. First preliminary reference ranges for PRA and androgens will be established in healthy dogs. Then, PRA and androgen concentrations are evaluated in dogs before and during therapy and compared to healthy dogs. Further we would like to evaluate if a consistent decrease of the DOCP therapy to the individual need of the dog, will lead to a measurable PRA within the reference range of dogs, preventing overtreatment with DOCP. Finally, a treatment trial is started and the effect of androgen supplementation on anxiety and mood of dogs will be assessed.

The study will provide new insights about PRA as a monitoring parameter in dogs and about androgen levels and the influence of androgen supplementations on anxiety and mood in dogs with PH.

Dokument(e): 1

21 Ergebnisse des vorhergehenden Gesuchs

Maximal eine Seite, auszufüllen im Falle von Fortsetzungsgesuchen. Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse des vorgängigen Bewilligungsverfahrens einschliesslich Anzahl eingesetzter Tiere, Schweregrad und Begründung für die Fortsetzung des Gesuchs.

Dokument(e): 0

22 Hypothese

Es sind die mit dem Versuch zu beantwortenden Forschungsfragen oder die zu testende Hypothese(n) (konfirmatorische Studie) zu formulieren.

PRA will help guiding the mineralocorticoid therapy in dogs with HA and preventing overtreatment of dogs.

Dogs with HA have significantly lower concentration of DHEA, DHEAS and androstendione (metabolite of DHEA(S)) than healthy dogs.

Replacement of DHEA in dogs with HA will have a positive effect on mood and anxiety in the dogs.

Dokument(e): 0

Ablauf des Versuchs (Methode I) 23-27

23 Ablauf der Versuche: Schematische Darstellung

Beschreibung des Ablaufs des Versuchs in **zeitlicher Hinsicht**. Darstellung des Ablaufs des Versuchs oder der einzelnen Schritte (z.B. Flussdiagramm, Ablaufdiagramm, Tabelle). Der Versuchsplan muss enthalten: Tiermodell (Name); Tiere (Alter, Geschlecht, Genotyp); Gesamtdauer des Versuchs..

Part 1 (for time sequencing please see the flowchart page 1):

Inclusion of healthy dogs - once

Inclusion of dogs with PH: either at the time of diagnosis or during routine re-checks for the disease.

Dogs with PH will be included several times over a period of 2 years.

Part 2 (for time sequencing please see the flowchart page 2):

Randomized, double blind study with dogs with PH receiving either oral DHEA daily for 24 weeks, followed by a 4-week washout period, then 24 weeks of placebo, or vice versa.

Regular re-check at the hospital after 2, 4, 8, 12, 18 and 24 weeks.

Total study period for each dog: 52 weeks.

Dokument(e): 1

24 Vorbereitung der Tiere für den Versuch

Beurteilung der Vorbereitung der Tiere im Rahmen des Versuchs (Art. 119 Tierschutzverordnung (SR 455.1)): Beschreibung der Eingangsuntersuchung, Angewöhnung an die Bedingungen des Versuchs, Methode der Markierung oder Identifikation und Kombination mit der Methode der Genotypisierung..

Healthy dogs: nothing necessary.

Dogs with PH: nothing necessary. We will use client-owned dogs which are newly-diagnosed or come for a routine re-check visit.

Dokument(e): 0

25 Eingriffe / Manipulationen am Tier

Beurteilung der Bewilligungsvoraussetzungen (Art. 140 Tierschutzverordnung (SR 455.1)) und der Eignung (Ziffer 38) der Methode (Art. 137 Abs. 3 Tierschutzverordnung (SR 455.1)): Angabe der Einzelheiten der verschiedenen Eingriffe/Manipulationen am Tier.

Part 1:

Healthy dogs: clinical examination, 15 ml blood drawing at the jugular or the cephalic vein and sampling of voided urine, once.

Dogs with PH: No additional intervention apart from those routinely performed during diagnosis or re-checking the disease (procedures routinely performed include: blood pressure measurement, blood drawing at the jugular or the cephalic vein, sampling of voided urine by the owner (during re-checks), sampling of urine (voided or by cystocentesis) at the clinic (during hospitalization at the time of diagnosis of the disease).

The only addition by this study is the following: instead of 5 ml whole blood, 10 ml whole blood will be taken from each dog.

Part 2:

Patient assessment at time 0, 2, 4, 8, 12, 18, and 24 weeks of both treatments (oral DHEA or placebo treatment). On every occasion, blood samples (10 ml) and urine (spontaneous, 5 ml) are obtained. In addition, at time 0 and 24 weeks, the owners will complete a mood state questionnaire about their dogs.

The questionnaire will be created in collaboration with a behavioral therapist (for an example of a questionnaire, please see Notari et al 2015. The newly developed questionnaire could be provided later, if necessary).

Dokument(e): 0

26 Anästhesie und / oder Analgesie

Beurteilung des Gesuchs bezüglich der Durchführungsbestimmungen (Art. 135 Tierschutzverordnung, SR 455.1): Angabe der angewendeten Medikationen, von Dosis und Volumen sowie des Verabreichungswegs und Abwägung der Notwendigkeit weiterer Verabreichungen..

Not necessary.

Begründung der Anästhesie / Analgesie

Es sind die Gründe für die Durchführung einer Anästhesie/Analgesie oder für den Verzicht aufzuführen.

-

Dokument(e): 0

27 Euthanasiemethode

Beurteilung des Gesuchs nach den Durchführungsbestimmungen hinsichtlich der Euthanasie (Art. 135 Tierschutzverordnung (SR 455.1)): Es sind die Euthanasiemethode, das eingesetzte Mittel, die Dosierung und der Applikationsweg anzugeben, sowie das Verfahren, mit dem der Tod des Tieres sichergestellt wird..

No euthanasia.

Dokument(e): 0

Auswertung des Versuchs (Methode II) 28-31

28 Erfasste Parameter

Kurze Beschreibung des Parameters, Bedeutung, Bezug zur Forschungsfrage.

Erfasste Parameter	Kommentare
Plasma Renin Activity	Important to monitor mineralocorticoid treatment
Dehydroepiandrosterone (plasma, urine)	Nothing known so far in dogs with HA. Levels suspected to be decreased in dogs with HA without treatment.
Dehydroepiandrosterone Sulfate (plasma, urine)	Nothing known so far in dogs with HA. Levels suspected to be decreased in dogs with HA without treatment. Levels should normalize during treatment.
Androstendione (plasma, urine)	Nothing known so far in dogs with HA. Levels suspected to be decreased in dogs with HA without treatment. Levels should normalize during treatment.
Mood scoring	Nothing known so far in dogs with HA. Data will be collected via the owner questionnaire

29 Versuchsanordnung und Versuchsdesign

Beschreibung von Studiendesign und Planung: Anzahl Tiere pro Versuch/Versuchsreihe, Anzahl Gruppen und Anzahl Tiere pro Gruppe. Es ist eine Beschreibung jeder Gruppe zu geben. Es sind spezifische Abwägungen aufzunehmen: Zufällige Zuteilung / Randomisierung, Verblindung, Berechnung der Stichprobengrösse (Begründung unter Ziffer 30), Ein- und Ausschlusskriterien, Definition der primären Outcome-Variablen, Plan für die statistische Analyse.

Part 1:

120 healthy dogs between 2-10 years of age (age-matching: PH is typically diagnosed in young to middle-aged dogs). Ideally, 30 male-intact, 30 female-intact, 30 male castrated and 30 female spayed dogs (important for androgen levels). Determination of PRA and androgen levels (dependent from sex and castration status).

100 dogs with PH:

30 newly-diagnosed dogs with PH.

70 dogs treated for at least 6 months with DOCP and prednisolone.

Measurement and comparison of PRA, DHEA, DHEAS and androstendione with those of healthy dogs. Correlation of PRA and DOCP dose.

Inclusion criteria: diagnosis of PH.

Exclusion criteria: Intercurrent significant medical condition (e.g. diabetes mellitus).

Part 2:

38 dog with PH treated for at least 6 months with DOCP and prednisolone (can be the same dogs as the treated dogs with PH from part 1.

A double blind, placebo-controlled, cross-over study will be performed to limit the number of dogs needed.

The dogs will be randomized to receive either DHEA or placebo treatment first.

Half of the 38 dogs will first receive DHEA therapy for 24 weeks and the other half placebo.

A washout interval of 4 weeks will separate the two treatments.

During the second part of the study, the first half of the dogs will now receive placebo and the

second half DHEA therapy for 24 weeks.

Inclusion criteria: only dogs on a stable mineralocorticoid and glucocorticoid dose (treated for at least 6 months) will be included.

Exclusion criteria: Intercurrent or suddenly occurrent significant medical condition (e.g. diabetes mellitus, acute pancreatitis).

Dokument(e): 0

30 Begründung der Anzahl Tiere

Angabe der **Gründe** für die vorgesehene Anzahl Tiere, einschliesslich der Methode für die statistische Auswertung (z.B. t-Test, ANOVA, gemischtes Modell usw.). Falls möglich Test-Parameter angeben (statistische Koeffizienten, Signifikanzniveau, power).

Part 1:

The IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) recommends 120 individuals to establish a reliable reference range.

100 dogs with PH is a reasonable number, looking at our patient load and at our expertise in treating dogs with PH.

Part 2:

An a priori power analysis using GPower® was performed (Wilcoxon signed-rank test, alpha = 0.05 and beta = 0.9, effect size dz: 0.5) and calculated a total sample size of 38 dogs.

Dokument(e): 0

31 Expertise für die Statistik

Es ist anzugeben, ob das Versuchsdesign und die geplante statistische Analyse von einer Person mit Fachkenntnissen zur Biostatistik geprüft wurde.

Nein

Umgang mit den Tieren 32-37

Angabe der Auswirkungen der Versuchsmethoden auf die Tiere, der belastungsmindernden Massnahmen und der Verwendung der Tiere nach Abschluss des Versuchs.

32 Abweichende Haltungsbedingungen

Beurteilung der Notwendigkeit einer eingeschränkten Haltung (siehe Art. 117 Tierschutzverordnung (SR 455.1)): Einzelheiten und Begründungen für alle Abweichungen von den Haltungsbedingungen, die in der Tierschutzverordnung (SR 455.1) festgelegt sind.

All dogs will remain in their familiar environment.

Dokument(e): 0

33 Auswirkungen auf die Tiere

Beurteilung aller erwarteten unerwünschten Auswirkungen auf die Tiere (Art. 19 Abs. 4 Tierschutzgesetz (SR 455)) und Belastungen, die sie durch Erniedrigung, tiefgreifende Eingriffe in ihr Erscheinungsbild oder ihre Fähigkeiten oder durch übermässige Instrumentalisierung erleiden (Art. 25 und 26 Tierversuchsverordnung (SR 455.163)).

Part 1: hematoma formation at the puncture site.
Part 2: In humans, DHEA therapy can lead to mild facial acne or increased facial hair growth. The therapy could also lead to increased masculine behavior (marking, dominance behavior). Any oral treatment can sometimes lead to diarrhea or malaise.

Dokument(e): 0

34 Überwachung des Wohlergehens

Beurteilung der Überwachung und Dokumentation (Art. 135 und 144 Tierschutzverordnung (SR 455.1)): Kriterien für **Interventionen** und **Abbruch (humane endpoints)** und die Häufigkeit von Kontrollen (Wer kontrolliert und dokumentiert und wie oft während welcher Versuchsphase?). Falls erforderlich **Score Sheet** hinzufügen.

Part 1:

After jugular or cephalic venous puncture, pressure or a pressure bandage will be applied to circumvent hematoma formation.

Part 2:

Dogs will be supervised by owners during the DHEA treatment. If any undesirable side effects of the DHEA treatment occur, owners will get in contact with us.

Intervention: if after starting the oral treatment mild diarrhea or malaise occurs, the dogs will be treated by an enteral probiotic and the treatment continued.

The treatment with DHEA will immediately be stopped and dogs excluded from the study if severe GI signs (repeated vomiting, not self-limiting diarrhea), which need medical intervention, should

occur. If liver values increase > 4 times the upper range of the reference range during the study, the medication will be stopped, and dogs excluded from the study.

Dokument(e): 0

35 Refinement

Beurteilung der Durchführungsbestimmungen **unter den spezifischen Versuchsbedingungen** gemäss Art. 135, Art. 137 Abs. 4 und Art. 144 Tierschutzverordnung (SR 455.1). Es sind die Einzelheiten zu den belastungsmindernden Massnahmen oder die Gründe für den Verzicht auf solche Massnahmen anzugeben. Welche Massnahmen werden ergriffen, um bei den Tieren die Belastungen zu vermindern und den zugefügten Schaden unter den spezifischen Versuchsbedingungen zu minimieren?

Throughout the whole trial period, all dogs will remain in their familiar environment. All examinations carried out at the hospital are done either in the presence of the owners (blood pressure measurement) or in a quiet room with trained staff (blood drawing).

Dokument(e): 0

36 Verteilung nach Schweregrad

Zusammenfassende Beurteilung der maximal erwarteten Belastung an den Tieren (Art. 26 Tierversuchsverordnung (SR 455.163)): Angabe des maximal erwarteten Schweregrads für jede Tierkategorie und Gruppe. Die erwartete Anzahl Tiere zu jedem erwarteten Schweregrad ist als prozentualer Anteil anzugeben. Die Verteilung richtet sich nach der BLV-Fachinformation Nr. 1.04.

All dogs grade 0

Dokument(e): 0

37 Verwendung der Tiere nach Versuchsende

Beurteilung des Gesuchs nach den Durchführungsbestimmungen hinsichtlich der Weiterverwendung der Tiere nach Versuchsende (siehe Art. 20 Tierschutzgesetz (SR 455); Art. 141 Abs. 4 Tierschutzverordnung (SR 455.1)).

The dogs will remain in their familiar family environment throughout the trial and will remain there afterwards.

Dokument(e): 0

Begründung und Güterabwägung 38-40

Einzelheiten der Begründung und Rechtfertigung zur Wahl der Versuchsmethode und Tierkategorie.

38 Eignung

Gründe für die Wahl des Tiermodells im Hinblick auf das Versuchsziel und Darstellung der wissenschaftlichen Validität (d.h. Modellvalidität, interne Validität und externe Validität) und ggf. der Reproduzierbarkeit der erwarteten Erkenntnisse. Es ist zu zeigen, bis zu welchem Mass es möglich ist, die Erkenntnisse bezüglich Allgemeingültigkeit oder durch Extrapolation auf andere Studienbedingungen, oder andere Tierbestände oder Tierarten (einschliesslich den Menschen) zu übertragen. Für regulatorische Versuche ist anzugeben, ob von den Behörden ein Versuch gefordert wird.

As this trial is about establishing reference levels of certain hormones and studying hormonal changes during a specific disease and its treatment in dogs, these points can only be studied in dogs.

Dokument(e): 0

39 Erforderlichkeit (3R)

Begründung, weshalb das Versuchsziel **nicht mit Methoden erreicht werden kann, welche die 3R-Kriterien besser erfüllen**. Es ist zu erklären, weshalb keine Methode besteht, die ohne Versuchstiere auskommt (**Replace**), weshalb der Versuch nicht mit weniger Tieren durchgeführt werden kann (**Reduce**) und wie alle Möglichkeiten zur Verminderung der Belastung der Tiere ausgeschöpft werden (**Refine**).

Replace:

Part 1 and 2: Since this experiment is about hormone levels during a natural disease and their change under therapy, they can only be studied in the same model (same species with the same disease) and compared with levels of normal animals of the same species.

Reduce:

Part 1: The International Association for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine recommends a minimum number of 120 subjects to establish reliable reference ranges.

A number of 100 dogs with PH seems realistic to us, based on our case numbers.

Part 2: Experimental trial: A double-blinded, placebo-controlled, cross-over experimental design was chosen in order to keep the number of subjects as low as possible. In addition, an a priori power analysis was carried out which calculated 38 patients as the minimum.

Refine:

Part 1 and 2: Throughout the whole trial period, all dogs will remain in their familiar environment. All examinations carried out at the hospital are done either in the presence of the owners (blood pressure measurement) or in a quiet room with trained staff (blood drawing).

Dokument(e): 0

40 Güterabwägung

Beurteilung des Gesuchs im Hinblick auf die Abwägung zwischen dem erwarteten Erkenntnisgewinn oder anderen Ergebnissen (Interessen) und den zugefügten Schmerzen, Leiden, Schäden, Verletzungen oder Ängsten (Belastung der Tiere) nach ethischen Überlegungen. Für weitere Einzelheiten zur Güterabwägung siehe die "Erläuterungen zum Gesuch für Tierversuche (Form A)" und das Dokument "Güterabwägung bei Tierversuchen" [[LINK www.blv.admin.ch](http://www.blv.admin.ch)].

Guiding mineralocorticoid therapy in dogs with PH is difficult, as no clear monitoring parameter exists. In humans, PRA determination to control mineralocorticoid treatment has been accepted as the gold standard since 1992 (Oelkers et al 1992). If PRA could also help to guide mineralocorticoid therapy in dogs has so far not yet been studied.

In addition, nothing is known about androgen deficiency and androgen replacement in dogs with PH. However, owner of dogs with PH report increased anxiety and owner attachment of their dogs since diagnosis of PH is known. If there could be a connection between increased anxiety and decreased androgen concentrations has not yet been studied. In humans, DHEA supplementation in patients with PH was shown to improve overall wellbeing, depression and anxiety scores and sexual interest and satisfaction ratings (Arlt et al 2000, Hunt et al 2000).

This study will provide new insights into plasma renin activity and androgen concentrations in dogs with Addison's disease. The results obtained may improve the therapy of this disease and thus have a lasting impact on the quality of life of many dogs with Addison's disease.

The expected additional information outweighs obviously the harm for the dogs. Especially, as throughout the whole trial period, all dogs will remain in their familiar environment.

Dokument(e): 0

Dokumentenliste

Typ	Titel	Beschreibung	Dateiname	Datum
Gesuch	Einverständniserklärung Part 2		Einverständniserklärung Part 2.pdf	24.11.2022 09:10:28
Gesuch	Einverständniserklärung Part 1		Einverständniserklärung Part 1.pdf	24.11.2022 09:10:17
Feld	Flowchart		Flowchart.pdf	24.11.2022 08:52:47
Feld	Literature list		Literature list.pdf	24.11.2022 09:06:52